



FACULTAD DE MEDICINA | DEPARTAMENTO DE RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA

CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA Y SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA



OLGA OCÓN HERNÁNDEZ

TESIS DOCTORAL | GRANADA 2011

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Facultad de Medicina

Departamento de Radiología y Medicina Física



CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA Y
SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA

Memoria que presenta para aspirar al grado de Doctor en
Medicina y Cirugía la licenciada OLGA OCÓN HERNÁNDEZ

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Olga Ocón Hernández
D.L.: GR 491-2012
ISBN: 978-84-694-6932-3

Dña. MARIANA FERNÁNDEZ CABRERA, Doctora en Ciencias Químicas e Investigadora del Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada, del Laboratorio de Investigaciones Médicas del Hospital Universitario San Cecilio de Granada y Colaboradora del Departamento de Radiología y Medicina Física de la Universidad de Granada.

CERTIFICA: Que **Dña. OLGA OCÓN HERNÁNDEZ**, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA Y SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA** bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTORA EN MEDICINA Y CIRURGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación.

Granada, 20 de Junio de 2011

D. NICOLÁS OLEA SERRANO, Doctor en Medicina y Cirugía, Catedrático de Radiología y Medicina Física del Departamento de Radiología y Medicina Física de la Universidad de Granada y Facultativo Especialista de Área del Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Clínico Universitario San Cecilio de Granada.

CERTIFICA: Que **Dña. OLGA OCÓN HERNÁNDEZ**, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA Y SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA** bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTORA EN MEDICINA Y CIRUGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación.

Granada, 20 de Junio de 2011

Dña. SUSANA PARDILLO PILAR, Doctora en Medicina y Cirugía y Facultativo Especialista de Área de la Unidad de Gestión Clínica de Obstetricia y Ginecología del Hospital Clínico Universitario San Cecilio de Granada.

CERTIFICA: Que **Dña. OLGA OCÓN HERNANDEZ**, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA Y SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA** bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTORA EN MEDICINA Y CIRURGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación.

Granada, 20 de Junio de 2011

DEPARTAMENTO DE RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

D. NICOLÁS OLEA SERRANO, Director del Departamento de Radiología y Medicina Física de la Universidad de Granada

CERTIFICA: Que el presente trabajo ha sido realizado por la licenciada en Medicina y Cirugía **Dña. OLGA OCÓN HERNÁNDEZ** en el Departamento de Radiología y Medicina Física de la Universidad de Granada. Y para que conste y surta efectos donde proceda, firmo el presente certificado.

Granada, 20 de Junio de 2011

La memoria de Tesis Doctoral que lleva por título **CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA Y SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA**, ha sido presentada por la Lda. Olga Ocón Hernández para aspirar al grado de Doctora en Medicina y Cirugía, habiendo sido dirigida por Dña. Mariana Fernández Cabrera, Investigadora Ramón y Cajal de la Universidad de Granada, por D. Nicolás Olea Serrano, Catedrático del Departamento de Radiología y Medicina Física de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada y por Dña. Susana Pardillo Pilar, F.E.A. de la Unidad de Gestión Clínica de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario San Cecilio de Granada.

Fdo. Olga Ocón Hernández

El trabajo experimental de esta Tesis Doctoral ha sido realizado en el marco de los siguientes proyectos:

Proyecto SAS Nº 0133/2007. 'ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA. DIEZ AÑOS DE SEGUIMIENTO DE LA COHORTE GRANADA Y ALMERÍA DE CÁNCER Y MEDIOAMBIENTE'. Consejería de Salud. Junta de Andalucía.

Proyecto FIS Nº 07/0252. 'EFECTO DE LA EXPOSICIÓN MATERNO-INFANTIL VÍA PLACENTARIA A COMPUESTOS QUÍMICOS QUE INTERFIEREN EN LA ACTIVIDAD DE LA DES-YODASA SOBRE EL DESARROLLO NEURO-CONDUCTUAL'. Instituto de Salud Carlos III.

Olga Ocón Hernández disfruta de un **contrato 'Río Hortega'** para profesionales que han finalizado la Formación Sanitaria Especializada, financiado por el Instituto de Salud Carlos III.

*« Cada día es una nueva oportunidad para ser como quieres ser
y para que tu vida sea como tú quieres que sea»*

A Aurora

INTRODUCCIÓN	29
1. Cáncer de mama	29
1.1. Epidemiología	30
1.1.1. Incidencia y mortalidad	30
1.1.2. Supervivencia	34
1.1.3. Años potenciales de vida perdidos por cáncer de mama	38
1.2. Factores de riesgo en cáncer de mama	40
1.2.1. Factores de riesgo epidemiológicos	42
1.2.2. Factores de riesgo reproductivos	43
1.2.3. Hormonas exógenas	44
1.2.4. Estilo de vida	45
1.2.5. Otros factores de riesgo	45
1.3. Factores pronósticos en cáncer de mama	46
1.3.1. Factores pronósticos dependientes de las características del tumor	48
- Estado ganglionar y tamaño tumoral	48
- Grado y subtipo histológico	49
- Invasión vascular y linfática	50
- Marcadores de proliferación	50
- Receptores hormonales	50
- Índice Pronóstico de Nottingham (NPI)	50
- Sobreexpresión de receptores del factor de crecimiento: HER2	51
- Perfiles de expresión génica	51
- Otros factores	53
1.3.2. Factores pronósticos dependientes de las características de la paciente	53
- Edad	53
- Etnicidad	54
2. Exposición química ambiental y efectos sobre la salud humana. Disrupción endocrina	55
2.1. Disruptores endocrinos (DE)	56
2.2. Censo de disruptores endocrinos	60
2.3. Exposición humana a disruptores endocrinos	62
2.4. Disruptores endocrinos y cáncer de mama	64
3. Biomarcadores de exposición, susceptibilidad y efecto	67
3.1. TEXB como factor de riesgo de cáncer de mama	67
3.1.1. Riesgo de cáncer de mama y el efecto combinado de estrógenos ambientales. TEXB.	70
3.2. Compuestos organoclorados y supervivencia en cáncer de mama	74
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	75
1. Hipótesis	77
2. Objetivos	78
2.1. General	78
MATERIALES Y MÉTODOS	79
1. Población de estudio. Definición de caso y control	80
2. Fuentes de información	81
2.1. Variables obtenidas en el momento del reclutamiento	81
2.2. Variables obtenidas en el seguimiento	83
3. Muestras biológicas: Obtención y procesamiento	84
3.1. Extracción de xenoestrógenos en muestras de tejido adiposo	84
3.2. Cromatografía líquida de alta resolución semipreparativa (HPLC)	85
3.3. Determinación de lípidos totales	86

3. 4. Evaluación de la estrogenicidad de los extractos de tejido adiposo: fracciones α y β	86
3.5. Determinación de receptores tumorales	87
4. Análisis estadístico y epidemiológico	88
4.1. Análisis de datos	88
RESULTADOS	91
1. Análisis descriptivo de la población de estudio	92
1.1. Variables epidemiológicas	92
1.2. Características de la enfermedad	97
1.3. Características de la exposición	100
1.3.1. Concentración de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo	100
1.3.2. Carga estrogénica total efectiva: TEXB α y β	101
2. Seguimiento: evolución de la enfermedad y supervivencia de las pacientes	104
2.1. Evolución de la enfermedad y supervivencia	104
2.2. Años potenciales de vida perdidos	106
2.3. Supervivencia relativa	107
3. Factores pronósticos en cáncer de mama	108
3.1. Factores pronósticos de supervivencia global (SG)	108
3.1.1. Variables epidemiológicas	108
I. Hospital de reclutamiento	108
II. Edad	110
III. IMC	112
IV. Variables sociodemográficas: ruralidad, estado civil, escolaridad, ocupación, agricultura	112
V. Historia reproductiva y ginecológica: número de hijos, edad al primer hijo, lactancia, menopausia, menarquia, tratamientos hormonales, antecedentes familiares de cáncer de mama	115
VI. Estilo de vida: consumo de tabaco y alcohol	120
3.1.2. Características de la enfermedad	121
I. Características tumorales: estadio, tipo histológico, grado histológico, ganglios afectados, receptores hormonales	121
II. Evolución de la enfermedad: recidiva y/o metástasis, metástasis óseas	126
3.1.3. Características de la exposición	127
I. Concentración de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo y supervivencia global	127
II. Carga estrogénica total efectiva: TEXB α y β	128
3.1.4. Modelo multivariante de SG	135
3.2. Factores pronósticos de supervivencia libre de enfermedad (SLE)	137
3.2.1. Variables epidemiológicas	137
I. Hospital de reclutamiento	137
II. Edad	137
III. IMC	138
IV. Variables sociodemográficas: ruralidad, estado civil, escolaridad, ocupación, agricultura	138
V. Historia reproductiva y ginecológica: número de hijos, edad al primer hijo, lactancia, menopausia, menarquia, tratamientos hormonales, antecedentes familiares de cáncer de mama	140
VI. Estilo de vida: consumo de tabaco y alcohol	144
3.2.2. Características de la enfermedad	145
I. Características tumorales: estadio, tipo histológico, grado histológico, ganglios afectados, receptores hormonales	146
II. Evolución de la enfermedad: recidiva y/o metástasis, metástasis óseas	148
3.2.3. Características de la exposición	149
I. Concentración de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo y supervivencia libre de enfermedad	149
II. Carga estrogénica total efectiva: TEXB α y β	149
3.2.4. Modelo multivariante de SLE	153

DISCUSIÓN	155
Supervivencia Global Observada y Supervivencia Libre de Enfermedad	160
Factores de riesgo de enfermedad. Factores pronósticos	165
CONCLUSIONES	175
BIBLIOGRAFÍA	179
ANEXO	205

INTRODUCCIÓN

1. Cáncer de mama

página 30

2. Exposición química ambiental y efectos sobre la salud humana. Disrupción endocrina

página 55

3. Biomarcadores de exposición, susceptibilidad y efecto

página 67

1. CÁNCER DE MAMA

1.1. Epidemiología

1.1.1. Incidencia y mortalidad

El cáncer es la principal causa de muerte en países económicamente desarrollados y la segunda en países en desarrollo (*WHO, 2008*). Este problema de salud pública está creciendo en todos los países como resultado del envejecimiento y crecimiento de la población, así como a cambios en estilos de vida asociados a esta patología, entre los que destacan el consumo de tabaco, la inactividad física y la dieta desequilibrada (*Jemal et al, 2011*), entre otras causas.

De acuerdo a los datos recogidos en el proyecto GLOBOCAN (que engloba información de la IARC-*International Agency for Research on Cancer* y de WHO-*World Health Organization*), en 2008 se estimaron 12,7 millones nuevos casos de cáncer y 7,6 millones de muertes por esta causa en el mundo (*Ferlay et al, 2010*). De entre todas las localizaciones tumorales, el cáncer de pulmón permanece como el cáncer más común, tanto en número de casos como en fallecimientos. El cáncer de mama ocupa globalmente el segundo lugar, con 1,4 millones de casos diagnosticados en 2008, el 10,9% del total, pero el quinto lugar si lo consideramos como causa de muerte (458.000 muertes, 6,1% del total). En términos de incidencia, cáncer colorrectal, cáncer de estómago, cáncer de próstata y cáncer hepático, son los que aparecen a continuación.

El cáncer de mama es el cáncer más frecuente en las mujeres. En 2008 supuso el 23% de todos los cánceres en esta población y causó la muerte al 14% de ellas, dentro del total de muertes por cáncer en la mujer. Actualmente es el cáncer más común, tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo, con 690.000 nuevos casos estimados de media, lo que supone que 1 de cada 4 mujeres sufrirán cáncer de mama a lo largo de su vida (ratio de la población 1:4). Alrededor de la mitad de los casos de cáncer de mama diagnosticados y del 60% de las muertes, se estima que ocurran en países en vías de desarrollo. En general, las tasas de incidencia son mayores en los países del norte y oeste de Europa, Australia y Nueva Zelanda y en América del Norte; con tasas intermedias en América del Sur, el Caribe y norte de África; y bajas tasas en el África Subsahariana y Asia (*figura 1*).



Figura 1. Incidencia estandarizada por edad y tasas de mortalidad por áreas mundiales para cáncer de mama. Fuente: GLOBOCAN 2008 (Ferlay et al, 2010)

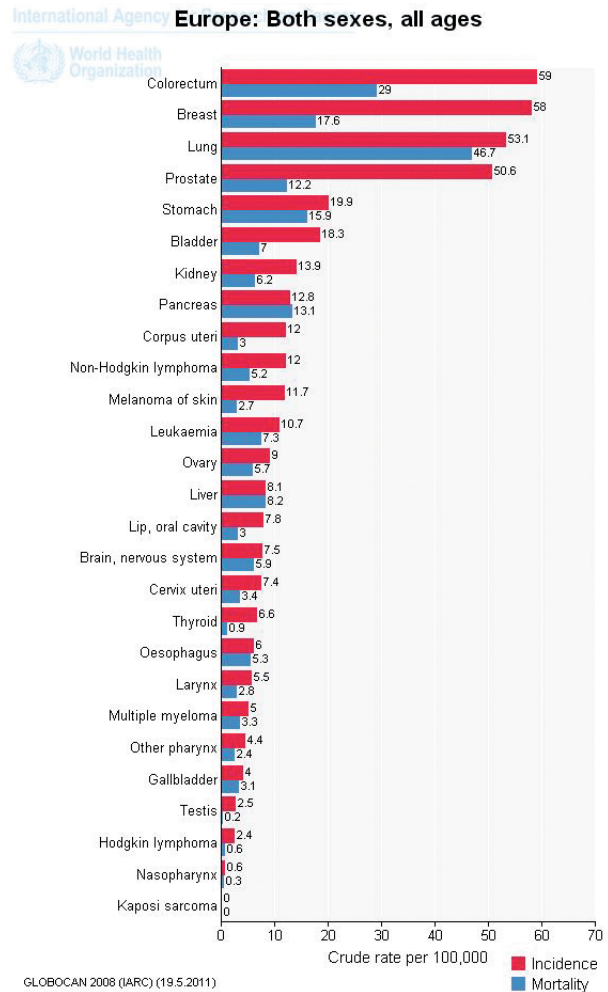


Figura 2. Tasas crudas de casos estimados y fallecimientos por cáncer en los países europeos (por mil). Fuente: GLOBOCAN 2008 (Ferlay et al, 2010)

En Europa, en 2008, el cáncer más frecuente en las mujeres fue, con diferencia, el cáncer de mama (421.000 casos de cáncer de mama, el 28,2% del total), siendo también la primera causa de muerte en esta población (129.000 muertes, 17%) (Ferlay et al, 2010) (figura 2).

El incremento en la incidencia de cáncer de mama en muchos países occidentales entre 1980 y 1990 fue probablemente el resultado de cambios en factores reproductivos de las mujeres, incluyendo el incremento en el uso de terapia hormonal sustitutiva, así como a la puesta en marcha de campañas de detección precoz para esta enfermedad (Althuis et al, 2005). En el periodo 1990-94, el cáncer de mama en mujeres suponía el 25% de todos los cánceres diagnosticados; en 2006 la incidencia aumentó, alcanzando el 28,9% de todos los casos de cáncer (Ferlay et al, 2007). La incidencia de cáncer de mama en las mujeres

europeas ha continuado incrementándose en las últimas décadas (desde una tasa estandarizada por edad estimada de 76 por 100.000 personas/año en 1995 hasta 88,4 en 2008). Sin embargo, a partir de la década de los noventa y más concretamente desde el comienzo del milenio, las tasas de incidencia en algunos países como Estados Unidos, Reino Unido, Francia y Australia, han comenzado a descender (*Cronin et al, 2009*). Según los expertos este descenso se debe, en parte, a la disminución en el uso de la terapia hormonal sustitutiva combinada (*Canfell et al, 2008; Parkin, 2009; Seradour et al, 2009*). Por el contrario, en algunos países africanos y asiáticos, la tasa de incidencia se ha incrementado, probablemente debido a la incorporación tardía de los cambios en la conducta reproductiva y del estilo de vida (inactividad física, obesidad, etc.) que condujo al mismo comportamiento con anterioridad en América del Norte y Europa (*Colditz et al, 2006*).

Por otro lado, la mortalidad por cáncer de mama ha ido decreciendo en los últimos 25 años, tanto en Estados Unidos como en varios países Europeos, en buena parte resultado de las campañas de cribado y de las mejoras en el tratamiento de la enfermedad (*Autier et al, 2010*). En Europa, las tasas de mortalidad por cáncer de mama han supuesto un descenso del 11% en el periodo 1995 - 2008 (*Ferlay et al, 2010*).

El programa Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) de Estados Unidos (*SEER Cáncer Statistics Review, 1975-2006*) ha analizado los cambios en los patrones de incidencia, mortalidad y supervivencia para todos los tipos de cáncer, confirmando que, específicamente, el cáncer de mama es la causa más frecuente de muerte en mujeres entre 40 y 55 años, y que si la tendencia no cambia, una de cada cuatro mujeres desarrollará cáncer de mama a lo largo de su vida. El impacto sanitario, social y económico es, por tanto, realmente importante, teniendo en cuenta que afecta fundamentalmente a mujeres en edades tempranas y que en un tercio de los casos se convierte en una enfermedad crónica e insidiosa.

España presenta una tasa de incidencia menor a la media en Europa, ocupando una posición intermedia entre los países occidentales y del este de Europa, aunque también se trata del tumor maligno más frecuente entre la población femenina (*Pollán et al, 2007*). Anualmente, en nuestro país, se diagnostican cerca de 16.000 casos nuevos, lo que supone casi el 30% de los tumores descritos entre las mujeres. Según la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), la tasa de incidencia estandarizada estimada para España fue de 93,6 casos por 100.000 mujeres en el año 2006, frente a los 110 casos por cada 100.000 mujeres en Europa (*Pollán et al, 2007*).

En España, los datos muestran un incremento progresivo en la incidencia de esta patología en las dos últimas décadas (2-3% anual) para todos los grupos de edad; incremento mayor que el observado en países de Europa Occidental y en los Países Nórdicos (Pollán *et al*, 2007), con una tasa de incidencia ajustada por edad de 54,7 casos por 100.000 mujeres/año en el periodo 1980-1984 y de 83,8 casos por 100.000 mujeres-año entre 2000-2004 (Pollán *et al*, 2009). Se confirma, además, como la primera causa de muerte por cáncer en las mujeres españolas, con una mortalidad estandarizada del 18,6 por 100.000 mujeres/año (Díez *et al*, 2000; López-Abente *et al*, 2004; Pollán *et al*, 2007). Según los últimos datos del Instituto Nacional de Estadística, la mortalidad por cáncer de mama en España durante el año 2007, representó el 16% del total de la mortalidad por cáncer en la mujer, con 5.983 defunciones y una tasa bruta de 26,6 por cada 100.000 mujeres. En la figura 3 se muestran la incidencia y la mortalidad de los diferentes tipos de cáncer en la mujer en nuestro país.

International Agency for Research on Cancer **Spain: Women, all ages**

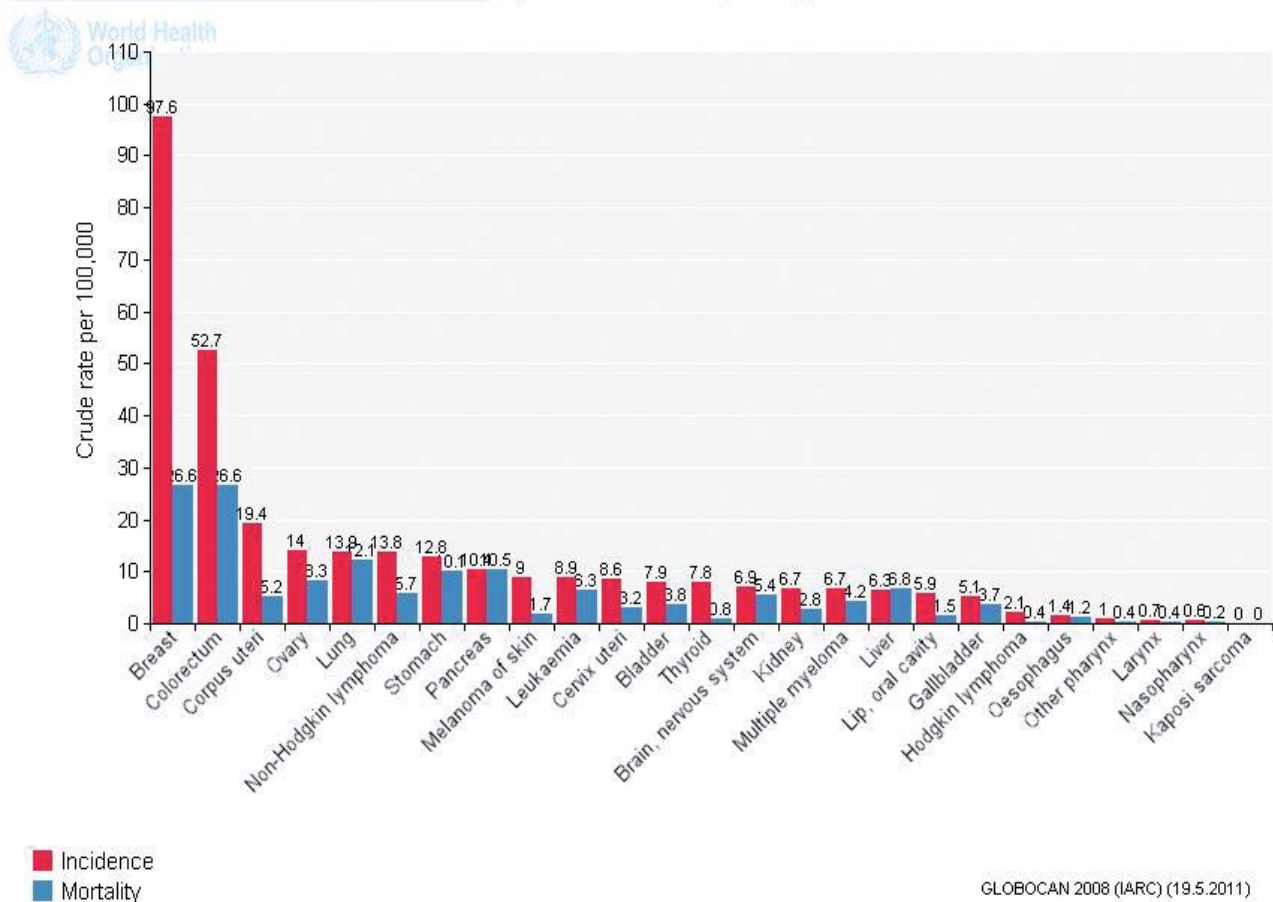


Figura 3. Incidencia y mortalidad por cáncer en la mujer en España. Fuente: GLOBOCAN 2008 (Ferlay *et al*, 2010)

El cáncer de mama constituye también un importante problema de salud pública en Andalucía, donde es el tumor maligno más frecuentemente diagnosticado entre las mujeres, con una incidencia de 2.500 nuevos casos en el año 2002 (67 casos por cada 100.000 mujeres) (*Junta de Andalucía. Consejería de Salud. Plan Integral de Oncología de Andalucía 2002-2006*). Es, a su vez, la primera causa de muerte por cáncer en el colectivo femenino, con una tasa bruta de mortalidad del 24,1 por cada 100.000 habitantes en 1999 (*Junta de Andalucía. Consejería de Salud. Plan Integral de Oncología de Andalucía 2002-2006*). Al igual que ocurre en otras regiones de España, se ha observado un descenso en la mortalidad en Andalucía a partir de 1993, lo que podría atribuirse, entre otras causas, al mayor conocimiento de la enfermedad, a la mejora del tratamiento y/o al diagnóstico en fases más tempranas; aunque no parece estar relacionado con la instauración del programa de detección precoz, ya que en Andalucía se inició a mediados de los años noventa (*Ruiz Ramos & Expósito, 2007*) y en los datos de 1993 no se pueden apreciar los efectos del programa sobre la mortalidad.

En Granada, según datos del Registro del Cáncer (*Registro de Cáncer de Granada, Escuela Andaluza de Salud Pública*), para el año 1996, la tasa de incidencia bruta anual fue de 64 por cada 100.000 mujeres, y la tasa estandarizada por la población mundial, de 46,7 por cada 100.000 mujeres. Si las tendencias no cambian, el riesgo acumulativo indica que 1 de cada 20 mujeres residentes en la provincia de Granada, desarrollará un cáncer de mama a lo largo de su vida (antes de los 75 años).

En la **figura 4** se muestran las diferencias en mortalidad por cáncer de mama entre las distintas provincias españolas.

Las diferencias regionales en incidencia en cáncer de mama otorgan un papel causal a las características geográficas, sociales y medioambientales de cada población (*Ruiz et al, 1997; Pollán et al, 2007*), observando que las cifras de incidencia y mortalidad por esta enfermedad parecen ir paralelas al grado de desarrollo socio-económico (**figura 5**).

1.1.2. Supervivencia

La información recogida por SEER, en relación con la supervivencia para cáncer de mama invasivo en Estados Unidos en el periodo 1999-2006, indica un porcentaje de supervivencia del 87,8% a los cinco años tras el diagnóstico de la enfermedad, y del 80,6% a los 10 años (*Surveillance, Epidemiology, and End Results*



Figura 4. Distribución provincial de mortalidad por cáncer de mama en mujeres: España, 1989-1998. Fuente: Pollán et al, 2007

(SEER) Program. SEER Cáncer Statistics Review. 1975-2006) (figura 6).

La supervivencia relativa media europea a los 5 años (estandarizada por edad y área), en mujeres diagnosticadas de cáncer de mama entre 1990-1994, según datos de EURO CARE-3, fue del 76%. La supervivencia observada a los cinco años para la media europea, de los casos incidentes del periodo 1995-1999, fue de un 73.3% y la supervivencia relativa de un 81.6% (EURO CARE-4). Las diferencias en supervivencia entre los diferentes países europeos son notables; los países del norte de Europa, incluidos Francia, Italia y Suiza, tuvieron mayor supervivencia (82%), en comparación con los países del este de Europa, con una supervivencia del 73% (Sant et al, 2009).

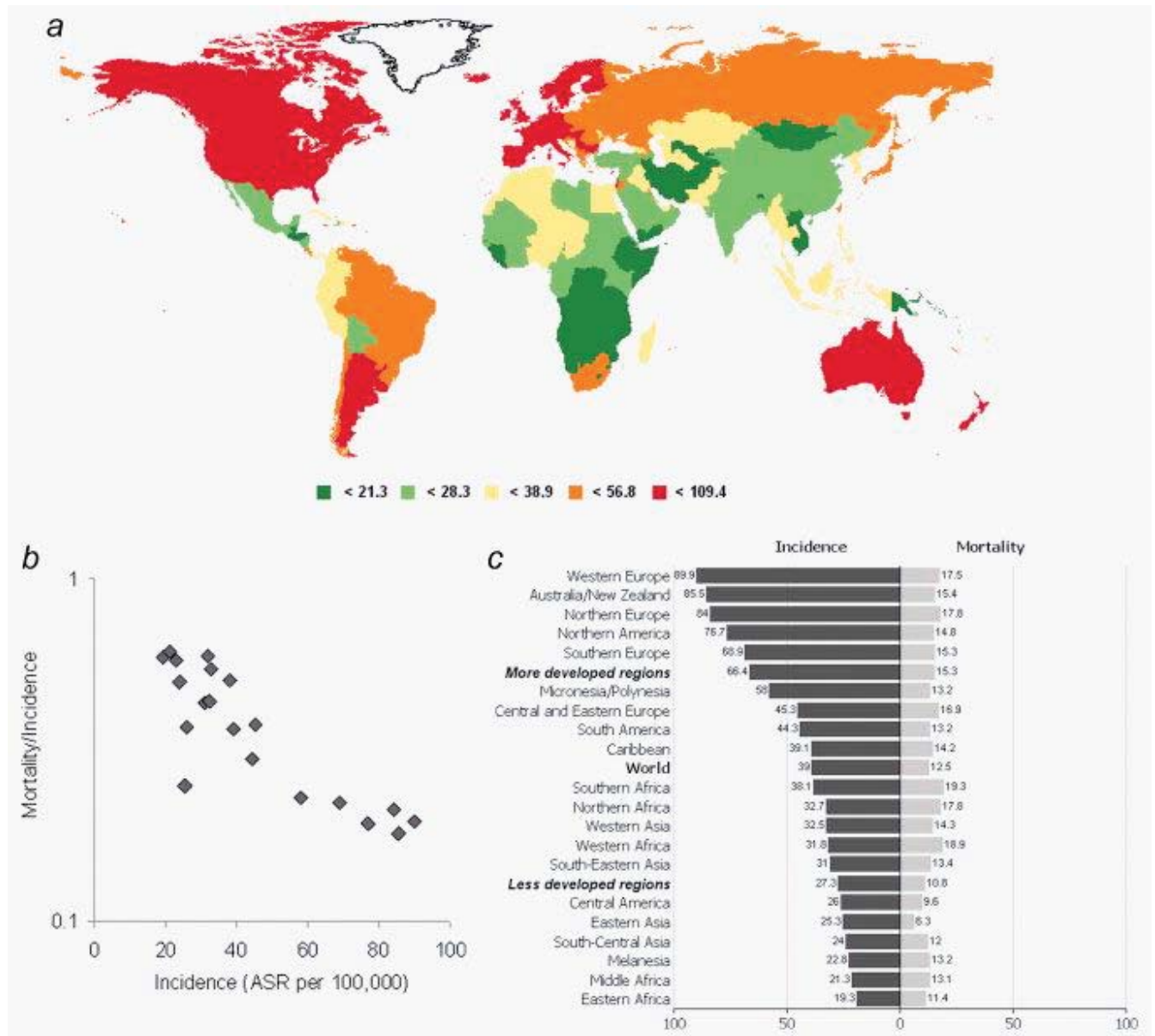


Figura 5. (a) Tasas de incidencia estimadas estandarizadas por edad por 100,000 (Mundial): cáncer de mama. (b) Cáncer de mama: relación entre incidencia y mortalidad: tasa de incidencia (20 regiones). (c) Tasas de incidencia y mortalidad por cáncer de mama estandarizadas por edad. Fuente: GLOBOCAN 2008

En España, la tasa de supervivencia relativa, ajustada por edad, a los 5 años fue del 86% (IC 95% 85,3-86,7) para los casos diagnosticados entre 1995-1999 (Chirlaque et al, 2010), superior a la referida en Europa, que se situó en torno al 80%; pero inferior a la descrita en Estados Unidos que alcanzó el 90% para el mismo periodo (Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER Cancer Statistics Review 1975-2006; Sant et al, 2003; Parkin et al, 2005; Verdecchia et al, 2007). No obstante, las campañas de diagnóstico precoz y los avances terapéuticos han contribuido al descenso paulatino en mortalidad, que ha alcanzado cerca del 2,4% anual desde 1993 (Pollán et al, 2007).

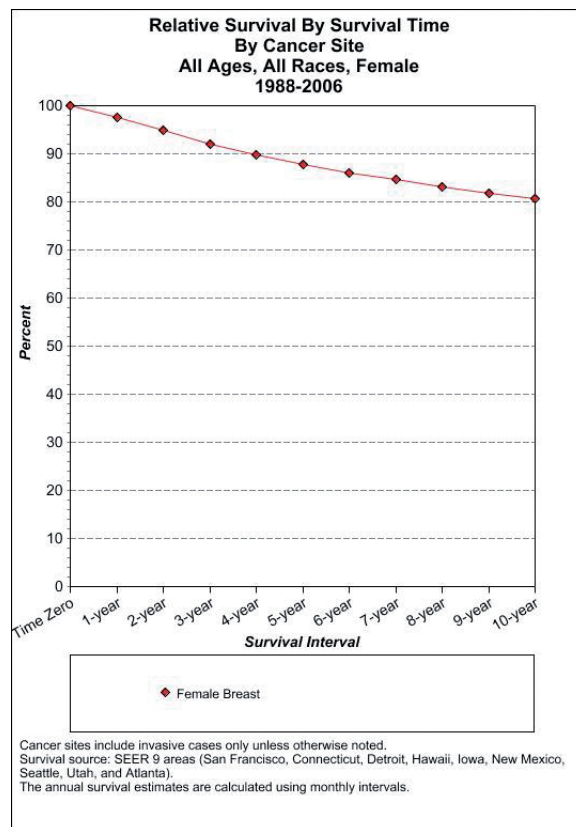


Figura 6. Supervivencia relativa en cáncer de mama en Estados Unidos. Fuente: Surveillance Research Program, NCI (2011)

En España, los mejores datos de supervivencia en cáncer de mama han sido generados por el estudio epidemiológico 'El Álamo', desarrollado por el grupo GEICAM (*Grupo Español de Investigación del Cáncer de Mama*). En este estudio se dispone, además, de las características demográficas, clínicas, los tratamientos y la evolución de las mujeres diagnosticadas de cáncer de mama invasivo entre 1990 y 1993 (*Martín et al, 2004*) y entre 1994 y 1997 (*Martín et al, 2006*), en los centros participantes. El estudio 'El Álamo' incluye una muestra bastante representativa de la población española que padece esta patología tumoral, por lo que los datos generados pueden considerarse de referencia para conocer las particularidades de esta enfermedad en nuestra población. Dentro del estudio 'El Álamo', se ha calculado el tiempo de supervivencia global (SG) de las 4.532 pacientes participantes, considerando como tal el tiempo transcurrido entre la fecha del diagnóstico y la fecha del fallecimiento (o fecha de último contacto, en caso de pérdida en el seguimiento). La media de supervivencia global fue de 8,68 años (IC 95%: 8,50-8,85), con una mediana de 11,29 años (IC 95%: 9,86-12,73). En esta población de estudio se ha observado una supervivencia a los 5 años mayor del 80% (*Martin et al, 2006*).

En la provincia de Granada, según datos del *Registro del Cáncer de Granada*, la supervivencia relativa a los 5 años, para mujeres diagnosticadas en el período 1991-94, fue del 74%, muy similar a la descrita para el mismo periodo en todo el territorio español

El incremento observado en la supervivencia en cáncer de mama, acompañado del descenso en la mortalidad por esta patología, sugiere mejoras reales en la atención (*Sant et al, 2006*). El acceso y la disponibilidad de tratamientos adecuados también influyen en una mejor supervivencia (*Gentil-Brevet et al, 2008*). Estudios previos refieren que el principal determinante de una peor supervivencia en cáncer de mama es el diagnóstico en estadios avanzados (*Sant et al, 2003 y 2004*).

La comparación de la supervivencia entre diferentes países o áreas dentro de un mismo país tiene gran interés, sin embargo, la interpretación de las diferencias observadas es compleja. Para ello, es necesario disponer de homogeneidad en las definiciones y en los métodos de trabajo utilizados en los diferentes registros de cáncer. Además, la supervivencia es un reflejo de elementos tan variados como las condiciones generales de salud de la población, factores genéticos, comorbilidad, estadio de la enfermedad en el momento del diagnóstico, dotación de servicios sanitarios del área o posibilidades de acceso de la población a la asistencia sanitaria. Todo ello traduce, en parte, la historia natural del cáncer, pero también la eficacia del tratamiento. Los registros de cáncer de población, además de monitorizar la magnitud del cáncer, pueden contribuir a la evaluación de los programas de atención al cáncer establecidos en el área del Registro, asegurando que todos los pacientes tengan acceso a los mismos recursos para un diagnóstico y tratamiento adecuados, siguiendo las guías de práctica clínica recomendadas.

1.1.3. Años potenciales de vida perdidos por cáncer de mama

Las tasas de incidencia y mortalidad se utilizan frecuentemente para cuantificar la entidad e importancia de un problema de salud, pero dichas medidas no tienen en cuenta otras variables de importancia, como por ejemplo, años potenciales de vida perdidos (APVP; en inglés, *YLL-years of life lost-*) que mide la mortalidad prematura de la población. Los APVP y el promedio de años potenciales de vida perdidos (AYLL - *average years of life lost-*), se proponen como indicadores de salud, ya que cuantifican la mortalidad prematura (*del Valle et al, 1993; Le et al, 2010*). El primero indica cuántos años de la vida de un paciente se han acortado a causa del cáncer, y el segundo muestra un promedio de años potenciales de vida perdidos

entre las personas fallecidas por esa enfermedad (Burnet et al, 2005; Pham et al, 2009). De esta forma se da mayor peso a las muertes que suceden en edades más tempranas que a aquellas que ocurren en población más anciana, proporcionando medidas más precisas de las muertes prematuras por cualquier causa (Center for Disease Control, 1986). Por otro lado, incrementos significativos en YLL y en AYLL en la población general, o en un grupo específico, pueden indicar la conexión con un riesgo de muerte prematura. Las intervenciones dirigidas para reducir el impacto de este riesgo, focalizadas en la población afectada, podrán así ser más efectivas.

Por otra parte, el promedio de años potenciales de vida perdidos muestra las consecuencias del cáncer de manera individual, más que incidencia o mortalidad, que se refieren a todos los pacientes de forma global, indicando cuántos años de vida es probable que pierda la mujer con cáncer de mama de acuerdo con su expectativa de vida.

La bibliografía disponible referente a estas variables es muy escasa, a pesar de su utilidad como indicador de salud de la población. En un estudio reciente llevado a cabo en Japón, la variable AYLL ha demostrado el efecto negativo del cáncer de mama en comparación con otros cánceres. Los cánceres de estómago, hígado y pulmón en mujeres, por ejemplo, tuvieron un AYLL de 15-16 años, mientras que los años potenciales de vida perdidos por el cáncer de mama fue de 25 años (Pham et al, 2009 y 2010).

Para cáncer de mama, Burnet y colaboradores estudiaron los datos de APVP/YLL respecto a otros tumores, utilizando los datos del 'East Anglian Cancer Registry' de Reino Unido, entre 1990 y 1994 (figura 7 y tabla 1) (Burnet et al, 2005).

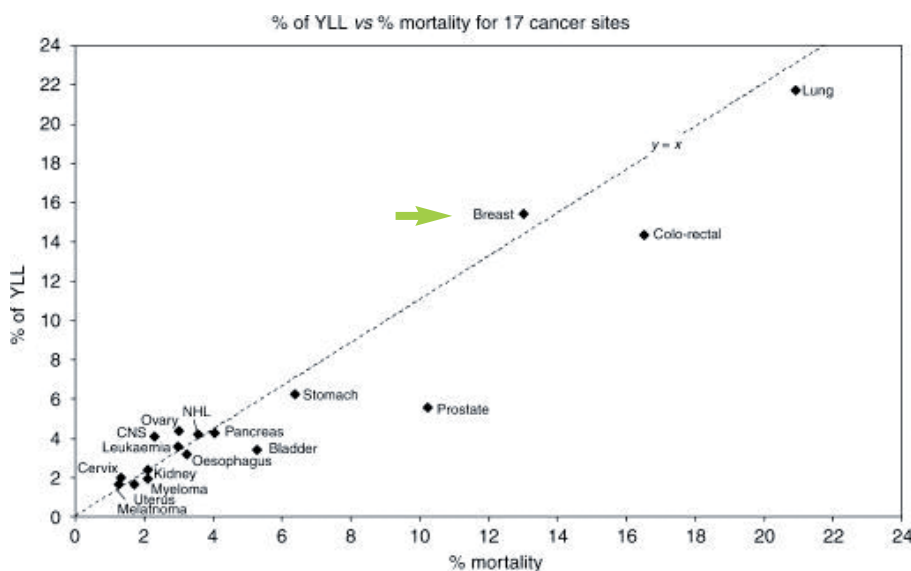


Figura 7. APVP (YLL) vs mortalidad cruda. Muestra la diferencia entre dos medidas de muerte por cáncer. APVP representa la carga por un determinado cáncer en la población, frente al porcentaje de muertes por dicho tumor. La línea de $y=x$ indica que cánceres cuyos APVP exceden su mortalidad están por encima y a la izquierda de la línea, como es el caso del cáncer de mama. Fuente: Burnet et al, 2005

Localización	% APVP	% Mortalidad	% APVP/ % mortalidad
Cerebro+SNC	4,1	2,3	1,78
Cérvix	2,0	1,3	1,53
Ovario	4,3	3,0	1,44
Melanoma	1,7	1,3	1,33
Leucemia	3,6	3,0	1,20
Mama	15,5	13,0	1,19
Linfoma NH	4,2	3,6	1,18
Riñón	2,4	2,1	1,13
Páncreas	4,3	4,1	1,05
Pulmón	21,7	20,9	1,04
Esófago	3,2	3,2	0,99
Estómago	6,2	6,4	0,98
Útero	1,7	1,7	0,97
Mieloma	1,9	2,1	0,91
Cólon+Recto (+ano)	14,5	16,5	0,87
Vejiga	3,4	5,3	0,65
Próstata	5,5	10,2	0,54

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad y APVP para 17 localizaciones tumorales. Fuente: Burnet et al, 2005

Localización	AYLL (años)	% YLL
Cerebro y SNC	20,1	3,4
Cérvix	17,3	1,7
Ovario	16,3	3,6
Melanoma	15,1	1,4
Leucemia	13,6	3,0
Mama	13,5	13,0
Linfoma No Hodgkin	13,3	3,2
Riñón	12,8	2,0
Páncreas	12,0	3,6
Pulmón	11,8	18,2
Esófago	11,2	2,7
Estómago	11,1	5,2
Útero	11,0	1,4
Mieloma	10,3	1,6
Cólon+Recto (+ano)	9,8	12,0
Vejiga	7,3	2,9
Próstata	6,1	4,7

Tabla 2. Promedio de APVP por paciente en 17 localizaciones tumorales. La media del promedio de APVP es de 12.5 años. Fuente: Burnet et al, 2005

La **tabla 2** muestra el promedio de años potenciales de vida perdidos (AYLL) y el porcentaje de APVP para cada localización tumoral.

Del Valle y colaboradores (*del Valle et al, 1993*) calcularon el porcentaje de APVP para los diferentes tipos de cánceres en Asturias y España para el año 1984, obteniendo para cáncer de mama en Asturias un 8,3 % y un 9,44% para España. Para el periodo 1998 a 2001, en Tarragona el cáncer de mama entre la población femenina supuso el 23,7% de APVP (*Registro del Cáncer de Tarragona, 2011*). Los datos recogidos para el periodo 2002-2004 en Extremadura, se han expresado como tasa de APVP, es decir, la razón entre el valor crudo y el estándar de la comunidad autónoma, siendo para cáncer de mama de 213,8 (*López, 2008*).

1.2. Factores de riesgo en cáncer de mama

Están bien descritos algunos de los factores de riesgo en cáncer de mama. Sin embargo, en un alto porcentaje de mujeres afectadas no es posible identificar factores de riesgo conocidos (*IARC, 2008; Lacey et al, 2009*), ya que éstos explican solamente alrededor del 41% del total de casos diagnosticados (*Kortenkamp, 2006*).

Entre los factores asociados con esta patología tumoral, los hay tanto endógenos como exógenos, para los que se conoce su efecto sobre el riesgo de cáncer de mama en la población. Entre ellos se incluyen factores de estilo de vida, factores reproductivos (por ejemplo estatus hormonal), características antropométricas, factores de exposición a agentes carcinógenos (radiación ionizante) e incluso predisposición genética (McPherson et al, 2000; Key et al, 2001); aunque el principal factor de riesgo es la edad (figura 8) (Vogel, 2008).

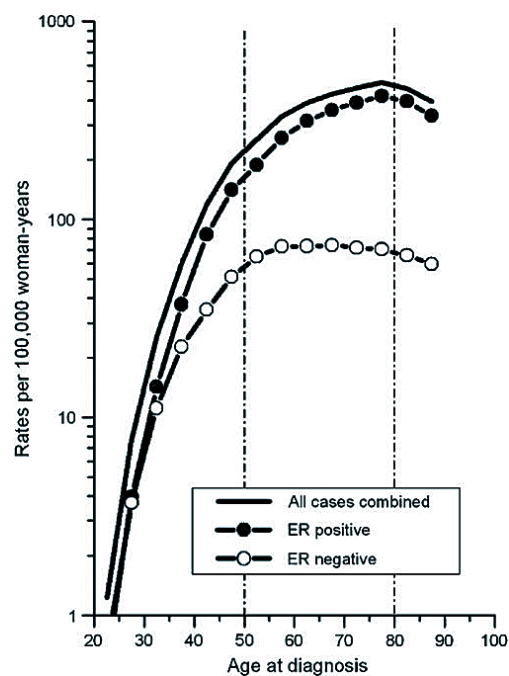


Figura 8. Tasas de incidencia de cáncer de mama invasivo por edad al diagnóstico. Escala logarítmica del National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER 13, 1998-2002) para todas las mujeres. Fuente: Vogel, 2008.

Muchos de los factores de riesgo establecidos, como menarquia temprana, menopausia tardía, nuliparidad, edad tardía para el primer embarazo y obesidad en mujeres postmenopáusicas, suponen una mayor exposición de la glándula mamaria a los estrógenos endógenos circulantes. La característica común a muchos de los factores ligados a hábitos reproductivos es el incremento del tiempo de exposición a las formas biológicamente activas de los estrógenos a lo largo de la vida. Los factores reproductivos se han asociado en múltiples estudios al riesgo en cáncer de mama, incluyendo su influencia sobre las características de la enfermedad (Albrektsen et al, 2010). El riesgo de cáncer de mama aumenta al aumentar el nivel de los estrógenos endógenos (estradiol, estrona y estrona sulfato) (Key et al, 2002), al igual que de los andrógenos endógenos, sobre todo en mujeres premenopáusicas (Dorgan et al, 2010).

Se acepta de forma generalizada que el cáncer de mama está relacionado con la exposición celular a las hormonas estrogénicas (*Pike et al, 1993*). De hecho, estrógenos y progestágenos están implicados en el desarrollo y crecimiento de las neoplasias mamarias, actuando como promotores de la enfermedad a través de su acción estimuladora sobre el desarrollo, crecimiento y funcionalidad de la glándula mamaria (*Toniolo et al, 1995*). A pesar de ello, aún no se han dilucidado de forma precisa algunos de los mecanismos exactos de actuación de las hormonas esteroideas en el proceso de carcinogénesis (*Russo et al, 1998*). Algunos datos de observación clínica confirman la asociación entre estrógenos y cáncer de mama, como por ejemplo, que la extirpación de los ovarios a una edad temprana confiere protección frente a la enfermedad tumoral, y que las mujeres con menarquia tardía y menopausia temprana parecen estar más protegidas frente al riesgo de transformación maligna (*Leung et al, 1973; Kelsey & Gammon, 1991*), sugiriendo que la reducción en el tiempo de exposición hormonal se acompaña de un menor riesgo de enfermedad.

Para entender cómo los estrógenos endógenos afectan al desarrollo de la enfermedad tumoral, habría que centrar la atención no sólo en los niveles de hormona circulante sino también en el momento preciso en que ocurre la exposición. Así, por ejemplo, una alta exposición a estrógenos durante el desarrollo perinatal (*Anbazhagan & Gusterson, 1994*), la adolescencia, el embarazo o la década anterior a la menopausia es considerada relevante para la transformación celular mamaria (*vom Saal, 1995*) y crítica para el desarrollo de la enfermedad tumoral (*Titus-Ernstoff et al, 2002*).

Discutiremos, a continuación, algunos de los factores de riesgo descritos para cáncer de mama.

1.2.1. Factores de riesgo epidemiológicos

a. Edad: la incidencia de cualquier cáncer, y entre ellos el de mama, se incrementa con la edad, diagnosticándose con mayor frecuencia entre las mujeres mayores de 50 años. Su incidencia se duplica cada 10 años hasta alcanzar la menopausia, cuando se produce un incremento mayor (*McPherson et al, 2000; Vogel, 2008*). Sin embargo, en los países occidentales está aumentando el diagnóstico entre mujeres más jóvenes.

b. Raza y área geográfica: la incidencia ajustada por edad para cáncer de mama es variable entre los distintos países, a la vez que se encuentran diferencias entre las distintas etnias de un país. Así, estudios en

poblaciones inmigrantes muestran que asumen las tasas de cáncer de mama del país en una o dos generaciones, debido probablemente a influencias ambientales, dietéticas y culturales, aunque debe existir un factor dependiente de la raza (*McPherson et al, 2000*). En Estados Unidos la incidencia de cáncer de mama es mayor entre la población blanca aunque la presentación entre la población negra suele ser más agresiva (*Smigal et al, 2006*). Los factores socio-demográficos inherentes a ambas razas podrían influir en esta diferencia de incidencia. Sin embargo, la razón de esta disparidad parece ser multifactorial, incluyendo factores socioeconómicos, que determinarían un menor acceso a la asistencia sanitaria, un diagnóstico más tardío y opciones de tratamiento limitadas. Diferentes estudios han tratado de relacionar el nivel socioeconómico con la incidencia de cáncer de mama, pero la mayoría de ellos son retrospectivos y el estatus económico es difícil de establecer con certeza en este tipo de diseños (*Baquet et al, 2000; Lannin et al, 2002; Ward et al, 2004*).

1.2.2. Factores de riesgo reproductivos

a. Edad de la menarquia y edad de la menopausia: la duración de la exposición a hormonas ováricas está estrechamente relacionada con el riesgo de cáncer de mama (por cada año de retraso en la aparición de la menarquia existe una reducción del 5% en el riesgo de desarrollar cáncer de mama). Además, en las mujeres que tienen una menarquia más temprana se ha observado que tienen niveles de estradiol más altos en suero y menor concentración de hormonas sexuales unidas a proteínas. Así mismo, por cada año de retraso en la menopausia existe un aumento del riesgo de desarrollo de cáncer de mama de un 3% (*Travis et al, 2003*).

Por otro lado, las mujeres que han sufrido una ooforectomía a los 35 años reducen el riesgo en un 40% (*Narod, 2006*).

b. Edad al primer parto: la nuliparidad y una edad tardía al primer embarazo incrementan la probabilidad de presentar cáncer de mama. El grupo de mayor riesgo lo presentan las mujeres que tienen su primer hijo después de los 35 años (*McPherson et al, 2000*). Cuando se comparan mujeres que han parido por vez primera después de los 30 años con las que lo han hecho antes de los 20, el riesgo se duplica entre las primeras. El riesgo es más elevado entre las primíparas de 35 y más años. La gestación de un segundo hijo entre mujeres jóvenes, también disminuye el riesgo de padecer cáncer de mama. Un mayor número

ro de partos, así como un menor intervalo entre los mismos, disminuye el riesgo igualmente. Los investigadores atribuyen esta asociación a que la mama tiene menos tiempo para acumular daños en el DNA antes de alcanzar su máxima diferenciación, lo que coincide con el primer embarazo.

El efecto de la paridad es diferente entre portadoras de los genes BRCA 1 y 2, ya que mientras la multiparidad parece ser protectora entre las mujeres portadoras de BRCA1, supone un factor de riesgo para las que presentan el gen BRCA2 (*Li et al, 2008*).

c. Lactancia: la asociación entre lactancia y una disminución en el riesgo de cáncer de mama no es muy evidente, aunque sí parece existir (*Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer-CGHFBC-, 2002; IARC, 2008; Lacey et al, 2009; Morris, 2009*), sobre todo para periodos de lactancia acumulados de más de 12 meses (*CGHFBC, 2002*).

1.2.3. Hormonas exógenas

a. Anticonceptivos hormonales: las hormonas exógenas también conllevan un mayor riesgo de cáncer de mama, por lo que las usuarias de anticonceptivos hormonales y de tratamientos de sustitución hormonal tienen más riesgo que las mujeres que no usan esos fármacos.

Se ha estudiado la contracepción hormonal como posible factor de riesgo del cáncer de mama, describiéndose un leve incremento del riesgo de cáncer de mama entre consumidoras de antiguas formulaciones de anticonceptivos hormonales, caracterizados por mayores concentraciones de estrógenos; por el contrario, con las nuevas formulaciones no parece encontrarse un incremento del riesgo (*Casey et al, 2008*).

b. Terapia hormonal sustitutiva: el riesgo relativo de cáncer de mama parece aumentar con el uso combinado de estrógenos y gestágenos. Además también se ha observado una disminución de la sensibilidad y especificidad de la mamografía para el diagnóstico precoz en mujeres consumidoras de terapia hormonal, al aumentar la densidad mamaria; sin embargo, algunos estudios indican que las mujeres diagnosticadas de cáncer de mama bajo terapia hormonal sustitutiva suelen presentar estadios precoces y un mejor pronóstico (*Becker et al, 2009*).

El intervalo entre el inicio de la menopausia y el comienzo de la terapia hormonal parece también jugar un papel en el riesgo de cáncer de mama (*Beral et al, 2011*). Los estudios clínicos sobre pacientes bajo terapia estrogénica sustitutiva o de reemplazo sugieren, además, que los estrógenos podrían actuar como

promotores de la enfermedad y afectar al desarrollo de la neoplasia, a pesar de que la exposición haya ocurrido en un periodo de tiempo reciente, cercano al diagnóstico de la enfermedad (*Writing group WHI, 2002; Million Women Study Collaborators, 2003*).

1.2.4. Estilo de vida

a. IMC (Índice de Masa Corporal): la obesidad se considera un factor de riesgo de cáncer de mama (*van den Brandt et al, 2000*), aunque el riesgo parece depender del estatus menopáusico, siendo mayor en mujeres postmenopáusicas (*Lahmann et al, 2004*).

b. Dieta rica en grasas y proteínas animales: el consumo de grasas saturadas se asocia con un mayor riesgo de padecer cáncer de mama, asociación mayor entre mujeres postmenopáusicas que nunca han usado terapia hormonal sustitutiva (*Sieri et al, 2008*).

c. Consumo de alcohol y tabaco: estos hábitos también se asocian con mayor riesgo de cáncer de mama (*Kropp & Chang-Claude, 2002; Zhang et al, 2007*). Según datos recientes del estudio EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*), el consumo de alcohol por encima de 10-15g/día (*WCRF/AICR, 2007*) puede ser causa de un 5% (IC 95% 2-8%) de los cánceres de mama diagnosticados entre las mujeres europeas (*Schütze et al, 2011*).

d. Actividad física: la actividad física moderada o importante reduce el riesgo de cáncer de mama, al igual que el control del sobrepeso y la obesidad (*Pan et al, 2009*).

1.2.5. Otros factores de riesgo

a. Exposición a radiación ionizante: la radiación incrementa el riesgo de enfermedad, sobre todo cuando ésta ha ocurrido durante el desarrollo de la glándula mamaria. El cribado mamográfico establecido a partir de los 50 años, presenta un riesgo por exposición a radiación ionizante mínimo y se contrarresta con los beneficios potenciales de una detección precoz (*Armstrong et al, 2009*).

b. Lesiones mamarias benignas y premalignas: la *American College of Pathologist* estableció en un documento de consenso en los años noventa, la clasificación de las lesiones mamarias benignas y estableció los niveles de riesgo para cada una de ellas (*Page & Dupont, 1990*). Las lesiones proliferativas con atipia, que incluyen la hiperplasia lobulillar y ductal, conllevan un aumento de riesgo entre 4-5 veces. El carci-

noma lobulillar *in situ* (CLIS) también se considera un marcador de alto riesgo (entre 9-11 veces), mientras que el carcinoma ductal *in situ* (CDIS) podría considerarse una lesión premaligna invasiva.

c. Factores genéticos e historia familiar de cáncer de mama: aproximadamente un 10% de los cánceres de mama podrían deberse a una predisposición genética (generalmente autosómica dominante con penetrancia limitada, es decir, puede transmitirse entre los diferentes sexos y sin que los portadores desarrollen el cáncer) (Veronesi *et al*, 2005). Aún no se conoce cuántos genes están implicados en el cáncer de mama. Los genes BCRA1 y BCRA2 (localizados en el brazo largo de los cromosomas 17 y 13, respectivamente) han sido identificados en una importante proporción de familias con mayor riesgo de cáncer de mama, con una probabilidad entre el 60 y 80% de desarrollar esta enfermedad (Veronesi *et al*, 2005). La presentación temprana del cáncer de mama, generalmente bilateral y cuando se asocia a otros cánceres epiteliales, se relaciona con mutaciones genéticas específicas.

Danaei y colaboradores (Danaei *et al*, 2005) han calculado la contribución de diversos factores de riesgo modificables, exceptuando los factores reproductivos, a la carga global de cáncer de mama. Los autores concluyen que el 21% de todas las muertes por cáncer de mama registradas en el mundo son atribuibles al consumo de alcohol, al sobrepeso y/u obesidad y a la falta de actividad física. Esa proporción se incrementa en los países con mayor renta per cápita (27%), siendo el sobrepeso y la obesidad los factores de riesgo más importantes. En los países de ingresos bajos y medios, la proporción de cánceres de mama atribuibles a esos factores de riesgo es menor, del 18%, y la falta de actividad física es el factor determinante más importante (10%).

La diferente incidencia del cáncer de mama en los países desarrollados y en los países en desarrollo puede explicarse, en parte, por el efecto de la alimentación, unido a la mayor edad del primer embarazo, el menor número de partos y el acortamiento de la lactancia (Peto, 2001). La creciente adopción de modos de vida occidentales en los países en desarrollo, está siendo un importante determinante del incremento, últimamente observado, en la incidencia de cáncer de mama en estos países.

1.3. Factores pronósticos en cáncer de mama

Una vez establecido el diagnóstico de cáncer de mama invasivo, los factores pronósticos y predictivos ayudarán en la toma de decisiones sobre el manejo y tratamiento de la enfermedad. Se reconoce como fac-

tor pronóstico a cualquier parámetro, conocido en el diagnóstico o después de la cirugía, que se asocie con una determinada supervivencia, global o libre de enfermedad, en ausencia de tratamiento adyuvante (Clark, 1994). Por otro lado un factor predictivo nos informa sobre la posible respuesta a un tratamiento, siendo posible que algunos factores sean pronósticos y predictivos al mismo tiempo. Factores que identifican pacientes con mal pronóstico son más fáciles de encontrar y evaluar que los que sirven para reconocer pacientes con muy buen pronóstico, debido a que la identificación de pacientes con pronóstico favorable requiere gran número de casos con seguimientos muy largos.

En la última década se han producido grandes avances tanto en las ciencias básicas como en las clínicas, desarrollándose nuevas técnicas de investigación y descubriéndose un gran número de macromoléculas relevantes en los procesos biológicos que ocurren en la enfermedad. Muchos investigadores están incorporando estos avances a la detección de factores pronósticos y predictivos en el cáncer de mama, lo que está suponiendo un especial desafío para los clínicos que, con frecuencia, se han enfrentado a la incertidumbre que acompaña a los resultados de las investigaciones, especialmente cuando éstos han de interpretarse como preliminares, no aplicables en la práctica clínica.

Este problema ha sido abordado por varios comités de expertos, encargados de revisar la evidencia disponible para ayudar a definir qué variables deben ser aplicadas a las cuestiones pronósticas o predictivas (Cianfrocca & Goldstein, 2004). Existe acuerdo en considerar factores pronósticos validados los siguientes: i) en la categoría de características de la enfermedad, el estado de los ganglios axilares, el tamaño tumoral y el tipo y grado histológico; ii) entre las características de la paciente y de forma independiente de la enfermedad, la edad; y iii) como biomarcadores, medibles en tejidos, células y fluidos, el estado de los receptores esteroideos (receptores de estrógenos -RE- y de progesterona -RP-). En este último grupo, la sobreexpresión del c-erbB-2, el estado del p53, la evidencia histológica de invasión vascular y los parámetros cuantitativos de angiogénesis, han sido también extensamente estudiados clínica y biológicamente (Cianfrocca & Goldstein, 2004).

El tratamiento adyuvante del cáncer de mama disminuye la mortalidad de esta enfermedad, y no está aún claro el beneficio si consideramos la toxicidad considerable asociada. Es por ello que sería muy útil disponer de factores pronósticos que ayuden a seleccionar a grupos de enfermas a las que se debe admi-

nistrar un tratamiento específico como es la quimioterapia complementaria tras la cirugía (*Cianfrocca & Goldstein, 2004*).

Los factores pronósticos más utilizados en la práctica clínica son los siguientes:

1.3.1. Factores pronósticos dependientes de las características del tumor

Estado ganglionar y tamaño tumoral

El estado ganglionar y el tamaño tumoral son dos de los principales factores pronósticos. El estado de los ganglios axilares se ha demostrado repetidamente como el factor único más importante para predecir la supervivencia global y libre de enfermedad en las pacientes con cáncer de mama (*Carter et al, 1989; Fisher et al, 1993; Veronesi et al, 1993; Lonning et al, 2007*). El 70% de las pacientes con ganglios axilares positivos recidivan antes de los 10 años, mientras que, en pacientes con ganglios axilares negativos, el porcentaje de recidivas se reduce a un 20-30%.

El número de ganglios afectados es también pronósticamente muy significativo. La seguridad en el establecimiento del estado de los ganglios axilares requiere que sean examinados un número suficiente de ganglios. Las investigaciones dirigidas a dilucidar esta cuestión indican que se deben obtener al menos 10 ganglios de la axila para definir el estado ganglionar, especialmente si éste resulta negativo (*Axelsson et al, 1992; Mersin et al, 2003*).

La estadificación axilar, a través de la evaluación patológica del primer ganglio de drenaje del área tumoral (biopsia del ganglio centinela), se ha desarrollado con éxito para evitar el vaciamiento ganglionar axilar entre las pacientes con axilas negativas (*Veronesi et al, 1997; Gipponi et al, 2004*). En los últimos años, esta técnica se ha demostrado sensible y específica para predecir el estado ganglionar (*Krag et al, 1998; Weaver et al, 2000; Schwartz et al, 2002*), pero no se ha validado todavía su equivalencia en términos de supervivencia global y libre de enfermedad al vaciamiento axilar.

Últimamente también se está considerando la presencia e identificación de micrometástasis en el ganglio centinela, por si pudiera tener significación como factor pronóstico, sin embargo aún no está claro cómo utilizar esta variable en el manejo terapéutico posterior (*Viehl, 2011*).

El diámetro del tumor primario invasivo es el segundo factor pronóstico en importancia, con clara

correlación con la afectación ganglionar y la supervivencia. La última edición del *AJCC Cancer Staging Manual* establece que el tamaño microscópico del componente infiltrante del tumor es el único dato que se debe tener en cuenta para el estadiaje T del cáncer de mama (*AJCC, 2002*), ya que se han demostrado diferencias sustanciales entre el tamaño macroscópico y microscópico, así como que la medición del componente infiltrante es la única que se correlaciona con el pronóstico (*Abner et al, 1998*). Dentro de cada una de las categorías ganglionares, el incremento del tamaño del tumor primario se asocia con un incremento en la mortalidad por cáncer de mama. Estos datos ilustran un hecho conocido clásicamente: que el tamaño tumoral es un potente factor predictivo del comportamiento de esta enfermedad (*Carter et al, 1989; Veronesi et al, 1985; Leitner et al, 1995; Giordano, 2003*).

Grado y subtipo histológico

El grado histológico también es un factor pronóstico clásico reconocido (*Henson & Ries, 1991; Lonning et al, 2007*). La utilidad del grado histológico como un indicador de la agresividad tumoral ha ganado aceptación de manera progresiva, al mismo tiempo que han estado disponibles técnicas específicas para su determinación con resultados reproducibles. El sistema de Bloom-Richardson es el más empleado en la valoración del grado, aunque aún no se ha resuelto cómo estimar la variabilidad interobservador entre patólogos (*Fitzgibbons et al, 2000*).

En general, el subtipo histológico de cáncer de mama invasivo no es pronósticamente importante, aunque algunos tipos especiales de adenocarcinoma ductal infiltrante parecen estar asociados a riesgos muy bajos de recidiva, concretamente carcinomas tubulares, papilares y mucinosos puros. En la mayoría de las series estudiadas, estos tumores se asocian a características favorables, tales como bajo grado de malignidad o negatividad axilar, no estando absolutamente claro que estos subtipos histológicos sean indicadores independientes de un curso favorable de la enfermedad (*Pereira et al, 1995; Cianfrocca & Goldstein, 2004*).

Los carcinomas lobulillares clásicos, que suponen alrededor del 4% de los carcinomas invasivos diagnosticados, y los carcinomas medulares típicos, particularmente con axila negativa, tienen también mejor pronóstico que los carcinomas invasivos ductales habituales y que otros subtipos de carcinomas lobulillares invasivos (*Fitzgibbons et al, 2000*).

Invasión vascular y linfática

La invasión vascular y linfática peritumoral ha demostrado tener significación pronóstica para el riesgo de recurrencia local y a distancia, sobre todo en casos con tamaño tumoral límite (2 cm) y sin afectación ganglionar, (*Cianfrocca & Goldstein, 2004*). El grupo de expertos de *St. Gallen* ha incluido esta variable en un algoritmo terapéutico diseñado por ellos, dado su valor pronóstico independiente (*Goldhirsch et al, 1998; Domínguez et al, 2001*).

Marcadores de proliferación

Se han evaluado diferentes métodos de medida de la tasa de proliferación de los tumores, con la intención de correlacionarlos con el pronóstico de la enfermedad. Entre ellos, destacan el índice de timidina marcada, la citometría de flujo de ADN, la cuantificación de células en fase S, o el índice mitótico, entre otros. Estos marcadores de proliferación han demostrado un importante valor pronóstico y predictivo de respuesta en diversos trabajos de investigación, ya que una alta tasa de proliferación se correlaciona con peor pronóstico en las enfermas no tratadas (*Baak et al, 2009*). Las técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) con anticuerpos dirigidos a antígenos de proliferación celular (Ki-67/MIB-1) son los más utilizados, dada su alta reproducibilidad y especificidad (*Domínguez et al, 2001*).

Receptores hormonales

La presencia de receptores hormonales, tanto de estrógenos (RE) como de progesterona (RP), en un carcinoma invasivo de mama, tiene un valor pronóstico y predictivo. En general, las pacientes con RE positivos tienen mejor pronóstico, no estando tan claro el valor de los RP, aunque algunos estudios con seguimientos largos sugieren que el significado pronóstico de los receptores hormonales puede no perdurar a largo del tiempo (*Hilsenbeck et al, 1998*). Sin embargo, la presencia de estos receptores es un factor predictivo potente ante la posibilidad de beneficiarse de un tratamiento adyuvante con tamoxifeno, reduciendo el riesgo de recurrencia y mortalidad (*Cianfrocca & Goldstein, 2004; ASCO, 2010*).

Índice Pronóstico de Nottingham (NPI)

En relación con los factores pronósticos derivados de características de la enfermedad, es destacable la significación del NPI, utilizado por primera vez en 1982. El NPI incorpora los tres indicadores pronósticos más potentes de esta categoría: el estado de los ganglios de la axila, el tamaño tumoral y el grado histológico. Su consistencia como factor pronóstico independiente se ha demostrado en una serie de más de

2.600 pacientes con cáncer de mama (*Kollias et al, 1997*). El uso de índices pronósticos, especialmente cuando compilan el uso de varios parámetros tradicionales, es de gran utilidad clínica, ya que pueden dar información sobre la evolución de los tumores a nivel individual (*Sidoni et al, 2004*).

Sobreexpresión de receptores del factor de crecimiento: HER2

La familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) consta de cuatro miembros, designados correlativamente de c-erbB-1 a c-erbB-4. De estos, el c-erbB-2, también llamado Her2-neu, ha sido extensamente estudiado como biomarcador en el cáncer de mama. Diferentes estudios han evidenciado que de un 20 a un 30% de los carcinomas invasivos de mama diagnosticados tienen amplificado y/o sobreexpresado del proto-oncogén c-erbB-2, localizado en el cromosoma 17 (*Slamon et al, 1987 y 1989*) o sobreexpresado el receptor HER-2/neu. Su activación pone en marcha vías de señalización intracelular que están en relación con la diferenciación, crecimiento y supervivencia celular. Su determinación se realiza por inmunohistoquímica o bien se mide la amplificación génica mediante hibridación por fluorescencia *in situ* (FISH). Su sobreexpresión se relaciona con un aumento de la tumorigenicidad, con el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), la angiogénesis y el potencial metastático, lo que le confiere tanto valor pronóstico como predictivo, con una reducción en la supervivencia libre de enfermedad y global (*Trock et al, 2000*). Su conocimiento se ha traducido en una mejoría en el pronóstico de pacientes que lo expresan si son tratadas con el anticuerpo monoclonal correspondiente (*trastuzumab*), convirtiéndose en una nueva diana terapéutica (*Domínguez et al, 2001*). Por otro lado, diferentes estudios sugieren que su sobreexpresión puede tener también un papel predictivo de respuesta tanto a quimioterapia como a hormonoterapia (*Cianfrocca & Goldstein, 2004*).

Perfiles de expresión génica

Los avances en las bases genéticas del cáncer han permitido identificar algunos de los genes responsables de la patogénesis del cáncer de mama. Sin embargo, aún no se conocen con exactitud cuáles serían los genes responsables de la progresión del cáncer de mama, que podrían utilizarse como marcadores de diseminación y recurrencia. Entre las estrategias de mayor impacto utilizadas actualmente en la identificación de estos nuevos marcadores, son los denominados métodos de alto rendimiento (*High-throughput Analysis*), que se caracterizan por el análisis masivo de múltiples marcadores genéticos en un solo experimento (entre 100-25.000 análisis en forma simultánea). El más popular de estos métodos es el

cDNA microarray, basado en la hibridación de moléculas de ARN de tejido tumoral contra secuencias del genoma humano impresas en un soporte sólido (láminas de vidrio o membranas de nitrocelulosa) (Corvalán, 2007).

El estado de los biomarcadores RE, PR y HER2 ha sido analizado en diversos estudios poblacionales de cáncer de mama invasivo, resultando ser marcadores predictivos y pronósticos (Caldarella et al, 2011). El grupo de investigación liderado por el profesor Perou (Perou et al, 2000), entre otros (Sorlie et al, 2001), ha identificado 4 subtipos tumorales diferentes con implicaciones clínicas características:

1. Luminal A y B. El subtipo A tiene mayor expresión de RE, mientras que el B es menos hormonosensible, es decir, obtiene menor beneficio de la hormonoterapia adyuvante y, por ello, tiene peor pronóstico. Estos subtipos incluyen los tumores HER2-/RE+.

2. Basal-like. También conocido como triple negativo (RE-/RP-/HER2-). En un 50% de los casos, este tipo de carcinomas presentan una sobreexpresión del receptor de crecimiento epidérmico (EBFR), y generalmente se asocian con hallazgos histopatológicos de mal pronóstico, como alto grado nuclear, pleomorfismo o un alto índice mitótico; pero paradójicamente se asocia a una buena tasa de respuesta a quimioterapia. Los tumores BRCA-1 son en su mayoría basales y los BRCA-2, luminales.

3. HER2+. Esta variante presenta el genotipo de RE negativo y se asocia con la sobreexpresión de genes relacionados con una mayor agresividad biológica, lo que supone un peor pronóstico. Este subtipo presenta una resistencia relativa a determinados agentes quimioterápicos. Sin embargo, su historia natural ha sufrido un cambio con la introducción en el mercado del anticuerpo monoclonal anti-HER-2 (*trastuzumab*).

En este sentido, y para identificar subgrupos de enfermas de alto y bajo riesgo de recaída y así seleccionar el tratamiento adyuvante más adecuado en cada caso, varios grupos de investigación han tratado de desarrollar herramientas clínicas útiles relacionadas con perfiles genéticos específicos. Así, el grupo del NSABP (*National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project*, <http://www.nsabp.pitt.edu/>) ha desarrollado un método con RT-PCR (*reverse transcriptase polymerasa chain reaction*) aplicable al tejido tumoral fijado en parafina: Oncotype Dx® (Paik et al, 2004). Sobre una selección de 21 genes –16 relacionados con cáncer de mama y 5 de control– determinan una escala de recurrencia (*recurrence score*) que estima el riesgo de recidiva de ese tumor en los 10 años siguientes al diagnóstico y establece tres grupos

de riesgo. Esta herramienta cuantifica la probabilidad de recurrencia en pacientes con estadios I-II, ganglios negativos y RE+ (Paik et al, 2006). Actualmente hay un ensayo en marcha en Estados Unidos para validar este método (*Trial Assigning Individual Options for Treatment* o TAILORx).

En esta misma línea, el grupo holandés del *Netherlands Cancer Institute* ha desarrollado un protocolo que incluye 70 genes (MammaPrint®), relacionados con la proliferación, invasión, metástasis, integridad del estroma y angiogénesis (van de Vijver et al, 2002) para cuantificar el pronóstico de las pacientes.

Otros factores

Entre los factores cuyo valor predictivo y/o pronóstico está aún por establecer destacan: el activador de plasminógeno tipo urocinasa (uPA) y su inhibidor (PAI-1), ambos marcadores de invasión tumoral, recomendados en guías ASCO (*American Society of Clinical Oncology*); la ciclina E, encargada de regular la entrada de las células en la fase S del ciclo celular; la topoisomerasa II, enzima de reparación nuclear diana de algunos citostáticos; las cadherinas; marcadores de neoangiogénesis como el VEGF y las micrometástasis en sangre periférica y médula ósea (Arroyo et al, 2009).

1.3.2. Factores pronósticos dependientes de las características de la paciente

Edad

De entre las características del paciente que se barajan como pronósticamente significativas, la edad es la única validada y se incluye entre los factores que determinan grupos de riesgo objeto de aproximaciones terapéuticas diferenciadas. Casi todos los estudios sugieren que las mujeres jóvenes con cáncer de mama, particularmente aquellas con menos de 35 años, tienen más probabilidades de que su enfermedad tenga un mal pronóstico, generalmente condicionando pobres resultados terapéuticos, incluso tras ajustar por otros factores pronósticos (Cianfrocca & Goldstein, 2004). Desde la descripción de los genes BRCA1 y BCRA2 (Hall et al, 1990; Miki et al, 1994; Wooster et al, 1995), parece confirmarse que mujeres muy jóvenes tienen un riesgo mayor de tener la forma hereditaria de la enfermedad, según resultados descritos por diferentes estudios recientes. Así, la historia familiar de cáncer de mama es un factor de riesgo importante para mujeres menores de 35 años (RR 3.22) (Althuis et al, 2003) y sugiere la presencia de un síndrome familiar, y el cáncer de mama a una edad temprana se suele asociar con un riesgo familiar incrementado, especialmente aquellas que portan la mutación del gen BRCA1 (Anders et al, 2009).

Etnicidad

Mujeres afroamericanas e hispanas tienen peor supervivencia por cáncer de mama comparadas con las de raza blanca. En Estados Unidos la incidencia de cáncer de mama es mayor en la población blanca pero la presentación en la población negra suele ser más agresiva (*Smigal et al, 2006*). Esta disparidad, según se ha comentado previamente, parece ser multifactorial, incluyendo la dificultad de acceso a los sistemas sanitarios para el diagnóstico y el tratamiento, lo que implica mayor estadio al diagnóstico y peor evolución (*Cianfrocca & Goldstein, 2004*).

2. EXPOSICIÓN QUÍMICA AMBIENTAL Y EFECTOS SOBRE LA SALUD HUMANA. DISRUPCIÓN ENDOCRINA

A lo largo del siglo XX, los fenómenos de industrialización y urbanización han originado evidentes beneficios para el ser humano, entre ellos el crecimiento económico y la mejora de la salud en muchas regiones del mundo. Sin embargo, al mismo tiempo, se han originado nuevos riesgos, como los asociados a la aparición de nuevas sustancias químicas exógenas al organismo humano que contaminan el medio ambiente y suponen una nueva amenaza para la salud de la población. Así, hoy en día, aproximadamente una cuarta parte de la carga global de enfermedad puede ser atribuida a factores ambientales (*Smith et al, 1999; Prüss-Ustün & Corvalán, 2007*).

En los años 40 se inició la producción masiva de sustancias químicas. En la actualidad se estima en más de 100.000 las sustancias químicas diferentes registradas en Europa para su uso comercial, y se registran cientos de sustancias nuevas cada año (*Goldman, 2002*). El aire, el agua, el suelo y la comida, en definitiva el hombre y su entorno, quedan expuestos a estas sustancias, en todas las etapas de su producción y uso, desde el momento de su fabricación hasta los procesos de distribución, utilización y degradación final. Además, la exposición se produce tanto de forma conocida y programada, como de forma no intencionada, accidental o, simplemente, inadvertida (*Olea et al, 1998*).

Ya a comienzos de los años 60, Rachel Carson (*Carson, 1962*) advertía de la difusión a todo el planeta de algunos compuestos de síntesis, utilizados fundamentalmente como plaguicidas, y del gran impacto de esa exposición sobre el equilibrio de las especies.

Se hace preciso, por tanto, la realización de estudios clínico-epidemiológicos que contribuyan a la evaluación del grado de exposición a los contaminantes ambientales, así como la definición de instrumentos para la medida de la exposición y efecto a los mismos. Según se recoge en uno de los primeros Informes sobre Exposición de la Población General a Sustancias Químicas, elaborado por el *Center of Disease Control and Prevention (CDC, 2001)*, la monitorización de los niveles de exposición en la población es un requisito imprescindible para la evaluación del riesgo sobre la salud humana. La Unión Europea se ha responsabilizado de esta tarea, estableciendo programas específicos de investigación dentro del 5º, 6º y 7º Pro-

grama Marco de investigación. No obstante, aún está lejos el acuerdo para establecer un programa europeo de biomonitorización humana similar al programa americano, aunque proyectos de investigación auspiciados por el 7º Programa Marco están contribuyendo a este objetivo (proyecto *COPHES-Consortium to Perform Human Biomonitoring on a European Scale* y proyecto *DEMOCOPHES-Demonstration of a Study to Coordinate and Perform Human Biomonitoring on a European Scale*; disponibles en <http://cordis.europa.eu/fp7>).

Actualmente, prácticamente la totalidad de la población europea presenta concentraciones detectables de algunos compuestos contaminantes ambientales (*Porta et al, 2008*). La información sobre exposición humana es relativamente reciente y demuestra que ésta es muy variable en su magnitud, con implicaciones clínicas, sanitarias, ambientales y sociales, conocidas solo en parte (*Porta et al, 2002*).

El elevado número de compuestos químicos, la variedad de sus posibles efectos adversos y la incertidumbre sobre sus consecuencias clínicas, han generado una preocupación creciente en científicos, médicos y ambientalistas, entre otros profesionales, así como en una parte importante de la sociedad (*Porta et al, 2002; Weinhold, 2003; Stokstad, 2004; Porta et al, 2006*).

2.1. Disruptores endocrinos (DE)

Las alteraciones sobre la salud de distintas especies animales e incluso del hombre, evidenciadas tras la exposición a cierto grupo de contaminantes ambientales, incluyen, junto a otras, enfermedades hormono-dependientes entre las que se encuentran: disfunciones tiroideas, alteraciones en el crecimiento, aumento en la incidencia de problemas relacionados con el tracto reproductor masculino, disminución de la fertilidad, pérdida en la eficacia del apareamiento, anomalías del comportamiento, alteraciones metabólicas, desmasculinización, feminización, alteraciones del sistema inmune, e incluso aumento en la incidencia de diferentes tipos de cáncer (*Colborn & Clement, 1993*).

La hipótesis patogénica subyacente explica que algunas de estas sustancias químicas se comportan como hormonas, alterando la homeostasis normal del sistema endocrino y produciendo un desequilibrio en el balance de estrógenos, andrógenos, progestágenos y hormonas tiroideas a través de mecanismos de acción diversos (*Miller & Sharpe, 1998*). Aunque cualquier sistema hormonal es susceptible de ser dañado, los primeros compuestos químicos exógenos o xenobióticos identificados se comportaban como estró-

genos, interfiriendo con la hormona femenina estradiol, imitando o bloqueando su acción natural. De ahí que la información existente relativa a los xenoestrógenos sea, cualitativa y cuantitativamente, más importante.

En la conferencia “*Estrogens in the Environment I*”, celebrada en el Instituto Nacional de Salud y Medio Ambiente americano (NIEHS) en 1979, se verificó la presencia medioambiental de sustancias que se comportaban como hormonas. Se estableció un mecanismo sencillo mediante el cual estos compuestos imitarían a la hormona uniéndose a su receptor, provocando el mismo espectro de efectos biológicos que la hormona natural, o bien antagonizarían el efecto hormonal bloqueando el receptor correspondiente. En ambos casos, el resultado final favorecería una alteración del sistema hormonal con consecuencias difícilmente predecibles. En 1979 no se disponía aún de mucha información acerca de los efectos de estas sustancias sobre la salud humana, por lo que gran parte de las conclusiones fueron puramente especulativas. No fue hasta la siguiente conferencia “*Estrogens in the Environment II*” (NIEHS), celebrada en 1985, cuando se presentaron datos que revelaban el efecto de los xenoestrógenos sobre el desarrollo humano. Se demostró la ubicuidad de estas sustancias en el medio ambiente y se presentó información sobre la variabilidad de su potencial como hormonas exógenas, tanto agonistas o como antagonistas hormonales (McLachlan, 1993).

En una conferencia celebrada en Wingspread (Winsconsin, Estados Unidos) en 1991, se evaluó la evidencia hasta entonces existente sobre la forma en que distintos compuestos químicos podían estar afectando a la reproducción y al desarrollo de los animales, y a la salud humana. Esta conferencia concluyó que *un gran número de sustancias químicas, sintetizadas por el hombre y liberadas al medio ambiente, así como algunas naturales, tienen efecto sobre el sistema endocrino del hombre y de los animales. Se trata de compuestos persistentes, organohalogenados y bioacumulables, que incluyen algunos plaguicidas (fungicidas, herbicidas e insecticidas), además de compuestos de síntesis y algunos metales.* Incluso se acuñó un nombre para este tipo de compuestos químicos, que son conocidos desde entonces como **disruptores endocrinos** (Colborn & Clement, 1992). En España, este nombre fue aceptado por consenso en la primera Conferencia Nacional de Disruptores Endocrinos celebrada en Granada en 1996.

Con posterioridad a la Conferencia de Wingspread, otras reuniones científicas, como las celebradas en Weybridge (Reino Unido) en 1996 y de nuevo en Wingspread en 1997, sirvieron para sentar las bases con-

ceptuales de la disrupción endocrina, definir la forma de aproximación científica más apropiada y concretar la correcta evaluación de la importancia de los disruptores hormonales en la salud humana y de las especies animales.

El término **disruptor endocrino** (Endocrine Disrupting Chemicals/EDCs) define hoy día a un grupo sustancias químicas de muy diferente origen, estructura y uso. Se trata de sustancias exógenas al organismo, naturales o sintéticas, que interfieren con la producción, liberación, transporte, metabolismo, unión, acción biológica o eliminación de las hormonas responsables del mantenimiento de la homeostasis y regulación del desarrollo (COM, 706). En algunas ocasiones se trata de compuestos a los que los ensayos habituales de toxicidad no habían atribuido efecto importante. Además, muchos de ellos presentan gran estabilidad e inercia para reaccionar químicamente, por lo que reúnen las características óptimas para haber sido, y ser, empleados en grandes cantidades y con gran libertad, sin especial protección medioambiental.

En los años transcurridos desde la conferencia de Wingspread, la comunidad científica ha comprendido que el problema generado por los disruptores endocrinos sobrepasa nuestra capacidad de prevención. Estos productos químicos se utilizan en preparaciones complejas, es decir, que contienen muchas impurezas, isómeros y congéneres, lo que hace muy difícil el estudio de su metabolismo y seguimiento a través de los ecosistemas.

La investigación de los efectos de los disruptores endocrinos ha resultado mucho más compleja de lo que era previsible, y ha desvelado determinados aspectos de la biología del desarrollo hasta ahora desconocidos. Por ejemplo, que estos compuestos son capaces de intervenir, tanto en la morfogénesis mamaria, cuando la mama está aparentemente inactiva, como durante la formación del aparato genital masculino y femenino. Es precisamente durante el período en el que ocurre este desarrollo crítico, cuando la exposición a xenohormonas ambientales puede determinar la aparición de efectos irreversibles, generalmente no manifestados hasta la edad adulta. Aunque sutiles, estos efectos pueden derivar en graves consecuencias para el individuo, su descendencia e incluso para la población general.

Se ha sugerido que los disruptores endocrinos presentan características particulares que los hacen distintos a otros tóxicos medioambientales, y que condicionan cualquier aproximación a la relación de causalidad buscada entre exposición y enfermedad (Colborn & Clement, 1993; Ohi, 1999). Esta forma especial de toxicidad (Fernández et al, 1998), podría deberse a que:

- 1. El momento de la exposición** es decisivo para determinar el carácter, la gravedad y la evolución posterior del efecto. Los efectos son distintos sobre el embrión, el feto, o el individuo adulto. Si actúan durante momentos críticos, como los estadios tempranos de la vida, caracterizados por una rápida diferenciación celular y organogénesis, producen lesiones irreversibles.
- 2. Los efectos** pueden no aparecer en el momento de la exposición, pudiendo permanecer latentes durante años y evidenciarse años más tarde, o hacerse patentes en la descendencia en lugar de en los individuos expuestos.
- 3. No existe un umbral** de concentración preciso para el desarrollo del efecto toxicológico, y desde luego, ese nivel de concentración es muy inferior al reconocido como límite de seguridad para otros aspectos toxicológicos, distintos de la disrupción endocrina.
- 4. Es posible la acción combinada** de los disruptores, que pueden adquirir, al actuar conjuntamente, un efecto paradójico, ya sea sinérgico, antagónico o simplemente aditivo.

Algunos de los compuestos disruptores endocrinos son bien conocidos por su capacidad para acumularse y persistir en las cadenas tróficas, como es el caso de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs). Otros parecen no acumularse, pero su presencia como contaminantes en el entorno (agua, aire, alimentos, utensilios) es tan frecuente que la exposición diaria está asegurada. Los disruptores endocrinos alcanzan el organismo humano fundamentalmente a través de una exposición ambiental de fondo y posiblemente en dosis bajas en la mayor parte de los casos (*Hansen, 1998*), aunque a menudo las concentraciones de los agentes químicos son similares a las de las hormonas endógenas. La principal vía de entrada es la dieta, no sólo por el consumo de productos vegetales contaminados, sobre todo con pesticidas y fitosanitarios, sino por la ingesta de productos de origen animal (concretamente de las partes más grasas de estos alimentos para el caso de los contaminantes liposolubles), y por el agua de bebida, vehículo de multitud de contaminantes. Pero existen otras fuentes de exposición que incluyen la cosmética, la farmacología, los detergentes y el campo de los plásticos y las resinas sintéticas. Esta diversidad de fuentes, junto a la gran variedad de compuestos químicos, dificulta extraordinariamente la aplicación de medidas de prevención.

COMPUESTOS

USOS Y VÍAS DE EXPOSICIÓN

DDT y sus metabolitos

o,p'-DDT

p,p'-DDT

o,p'-DDD

p,p'-DDD

p,p'-DDE

Plaguicidas: DDT fue prohibido en 1972 pero este producto, así como sus metabolitos, aparecen aún hoy en día en sangre y tejidos humanos

Metoxicloro e hidroximetabolitos**Dieldrín**

Plaguicida prohibido en U.S.A. en 1974

Clordecona (Kepona)

Plaguicida prohibido en U.S.A. en 1977

Endosulfán y compuestos relacionados

Plaguicidas actualmente en uso

a-Endosulfán

β-Endosulfán

Endosulfán éter

Endosulfán-diol

Endosulfán-lactona

Endosulfán-sulfato

Toxafeno

Plaguicida prohibido en U.S.A. en 1982

Alquilfenol polietoxilatos (n<2)

Alquilfenoles (R>4 carbonos):

p-nonilfenol

p-octilfenol

Surfactantes industriales presentes en detergentes; componentes de plásticos con propiedades antioxidantes y/o maleables

Ftalatos: n-butyl ftalato

Ablandadores del plástico en chupetes

Benzilbutilftalato

y mordedores Plastificantes del PVC y cosméticos

Bisfenol A y compuestos relacionados

Bisfenol F

Precusores del plástico policarbonato y de las resinas epoxi; subproductos

Bisfenol AF

de plásticos tras digestión microbiana

Butilhidroxianisol (BHA)

Antioxidante

PCBs

Transformadores eléctricos, prohibidos en 1970

Fenilfenol

Limpiadores, desinfectantes

Acido amsónico

Blanqueadores

Bifenilos polibromados(PBBs, PBDEs)

Retardadores de la llama. Usados en textil y plásticos

Perfluorados (PFOS, PFOA)

Recubrimientos en sartenes y utensilios de cocina. Aislantes textiles

Parabenes

Conservantes empleados en cosmética

Benzofenonas

Filtros UV empleados en cosmética

Canfenos

Filtros UV empleados en cosmética

Cinamatos

Filtros UV empleados en cosmética

Tabla 3. Disruptores endocrinos

2.2. Censo de disruptores endocrinos

Al menos se conocen 13 listas de disruptores endocrinos, realizadas por diferentes administraciones y organizaciones. La lista alemana, junto a la sueca, inglesa, americana, noruega y japonesa, compiten con las producidas por diversas organizaciones no gubernamentales. La Comisión Europea, a demanda de su Par-

lamento (SACO 100EN, 1998), contrajo el compromiso de elaborar un censo de compuestos químicos disruptores endocrinos. El encargo de la Dirección General de Medioambiente (DG ENV) pasó a las consultoras internacionales BKH y TNO que, finalmente, presentaron en Mayo de 1999 una lista con aproximadamente 560 compuestos químicos para los que se había establecido, en publicaciones de carácter científico, su interferencia con algún sistema hormonal en particular. Una vez recibida la aprobación del Comité de Expertos de la DG ENV, la lista fue reajustada tras la aportación, por parte de la industria, de nueva información en dos campos muy particulares: volumen de producción y persistencia medio ambiental. De esta manera, el censo inicial de 560 compuestos químicos quedó reducido a 29, que junto a algunos de sus congéneres, hacen un total de sesenta sustancias. La lista recoge fundamentalmente plaguicidas organoclorados (DDT, DDE, endosulfán, aldrín, endrín, dieldrín, toxafeno, metoxicloro); PCBs y PBBs empleados ampliamente hasta épocas recientes como aislantes eléctricos y estabilizantes de pinturas y plastificantes; bisfenol-A y sus derivados, presentes en empastes dentales y en el recubrimiento plástico de las latas de conservas; alquilfenoles y ftalatos, utilizados en la fabricación de plásticos, incluido el PVC, entre otros (*Soto et al, 1995; Olea et al, 1996*). Junto a éstos, los derivados del tributyl estaño completan el censo (**tabla 3**).

La caracterización de disruptores endocrinos con actividad hormonal y la identificación de las vías de exposición, han sido y son labores concienzudas y persistentes de nuestro grupo de investigación, que ha llevado a expandir considerablemente el censo de disruptores endocrinos, de manera especial en tres grupos de compuestos químicos:

1. Pesticidas organoclorados (*Botella et al, 2004; Cerrillo et al, 2005; Carreño et al, 2007; López-Espinosa et al, 2007 y 2008; Porta et al, 2008*).
2. Bisfenoles, alquilfenoles y bifenilos policlorados (*Olea et al, 1996; Pérez et al, 1998; Rivas et al, 2002; Fernández et al, 2007a; López-Espinosa et al, 2009*).
3. Dioxinas y furanos (*López-Espinosa et al, 2008b*).

Es realmente llamativo comprobar que algunas de la listas de sustancias químicas clasificadas como disruptores endocrinos y, más específicamente, como xenobióticos estrogénicos, incluyen pesticidas y productos químicos de empleo en agricultura junto a fitoestrógenos y micoestrógenos, productos naturales contenidos en algunos organismos vegetales, y a productos farmacéuticos empleados en el tratamiento hormonal de enfermedades muy diversas, tanto en medicina como en veterinaria. Incluso en algu-

nos casos, esas listas también contienen hormonas naturales y sus productos de degradación, que, de manera natural, se encuentran en la excreción urinaria de los individuos normales. Este hecho puede confundir al consumidor, al mostrar productos industriales como una parte más del censo de productos naturales y farmacológicos. Sin embargo, mientras que los productos naturales han estado en contacto con la especie humana durante años, y los productos farmacológicos están bajo una estricta regulación, los disruptores endocrinos de origen industrial tan solo han empezado a regularse, y siempre bajo la aplicación del principio de precaución y últimamente bajo la regulación europea REACH [*Registration, Evaluation, Authorization of Chemicals; Regulación 1907/2006, Artículo 33(1)*].

2.3. Exposición humana a disruptores endocrinos

La contaminación por disruptores endocrinos (DE) de la población general es un hecho relevante desde una perspectiva de salud pública, importante para el sistema sanitario asistencial y para las políticas ambientales, alimentarias, industriales y económicas. En España, los conocimientos sobre la contaminación de los alimentos por disruptores endocrinos presentan grandes vacíos temporales y geográficos, pero aún es menor la información sobre sus concentraciones en las personas, ya que no existe ningún estudio representativo de la población general sana, efectuado en una zona geográfica amplia, salvo el realizado en Cataluña por el Dr. Porta (*Porta et al, 2010*) y en Canarias por el Dr. Dominguez-Boada (*Zumbado et al 2005*), aunque sí se han publicado diversos estudios que objetivan la presencia de estos compuestos en alimentos cárnicos, leche pasteurizada (*Porta et al, 2002 y 2006*), pescado (*Lázaro et al, 1999*), mantequillas (*Badia-Vila et al, 2000*), tejido graso de aves españolas, agua de ríos, entre otras localizaciones (*Porta et al, 2002*). Al estudiar poblaciones humanas, se ha detectado también la presencia de estas sustancias en tejido graso de población infantil (*Olea et al, 1996; López Espinosa et al, 2007*), leche materna, suero (jóvenes y mujeres adultas) y tejido adiposo de mujeres embarazadas (*Campoy et al, 2001*), en placentas (*Fernández et al, 2007; López-Espinosa et al, 2008 y 2009*) lo que sugiere un claro riesgo de exposición a estas moléculas.

Además del empleo de insecticidas y fertilizantes, otras fuentes de exposición a otros tipos de disruptores endocrinos son igualmente inquietantes:

1.La producción cárnica descansa en un amplio uso de estimulantes del crecimiento y antibióticos.

2.El rápido desarrollo del uso de **plásticos** ha resultado ser una fuente de exposición a compuestos químicos que llegan a los elementos.

3.El número de medicamentos ha aumentado enormemente y la eliminación de sus metabolitos por vía urinaria y fecal contamina los cursos del agua.

Los estudios disponibles indican que en un 80-100% de la población existen concentraciones detectables de múltiples compuestos (*Porta et al, 2002 y 2006; Olea et al, 2002; Carreño et al, 2007; López Espinosa et al, 2007; Fernández et al, 2007; entre otros*). Pero incluso para los compuestos mejor caracterizados aún hay cuestiones por resolver, como por ejemplo, a qué obedece la presencia de DDT en sangre de cordón umbilical o en la placenta de los recién nacidos de nuestro país a pesar de su prohibición (*López Espinosa et al, 2007; Fernández et al, 2007*).

Por otra parte, el número de estudios sobre los efectos que los disruptores endocrinos tienen en las personas es aún muy exiguo, lo que sugiere que concentraciones de algunos disruptores endocrinos por debajo de las que normalmente se consideran seguras, pueden causar efectos biológicos y clínicos relevantes (*Porta et al, 2002 y 2006*).

Muchos de los disruptores endocrinos tienen una gran inercia química (persistencia en el medio, efectos a largo plazo, bioacumulación), se han dispersado y contaminan amplias zonas del planeta, son muy difíciles de excretar por el cuerpo humano, en el que tienen una larga vida media y se acumulan en los tejidos grasos (*European Workshops on Endocrine Disruptors, 2001; Olea et al, 2002*).

Ya se ha comentado que la principal vía de exposición es a través de la dieta, debido a su acumulación en la cadena alimentaria. Además de los alimentos, la exposición a disruptores endocrinos de la población general puede ocurrir también a través de la contaminación existente en aire, agua, suelo, flora y fauna, especialmente en áreas dedicadas a la agricultura extensiva, afectando a las poblaciones que residen en estas áreas geográficas (*Cerrillo et al, 2006*).

En cuanto a la exposición ocupacional, ésta afecta fundamentalmente a trabajadores expuestos en aplicaciones terrestres y aéreas de estas sustancias en la agricultura y a los que trabajan en su fabricación (*García et al, 1999*).

Para la mayoría de los productos químicos descritos hay un patrón de incremento en la carga corporal con la edad, probablemente consecuencia de tres factores (*Ahlborg et al, 1995*):

1. La acumulación de los productos a través del tiempo.

2. La mayor exposición en personas de mayor edad debido, por ejemplo, a que vivieron en periodos de gran uso de derivados organoclorados.

3. El metabolismo más lento y la posibilidad de detoxificación a través de la lactancia o el embarazo en individuos de mayor edad.

2.4. Disruptores endocrinos y cáncer de mama

Debido a la frecuencia de la enfermedad, la investigación de sus causas, además de las descritas con anterioridad, debe considerarse un objetivo prioritario desde el punto de vista de la salud pública. El conocimiento existente sobre la etiología del cáncer de mama es bastante limitado, ya que los factores de riesgo conocidos explican menos del 50% de los casos (*Kesley et al, 1993; Rockhill et al, 1998; Kortenkamp, 2006*).

Coincidiendo con el desarrollo económico y el aumento en la frecuencia del cáncer de mama en los países desarrollados, el creciente avance de la industrialización ha supuesto la introducción de millares de sustancias químicas y de agentes físicos en el medio laboral, sin que se haya evaluado su potencial nocivo para la salud (*Pollán, 2001*).

Por el momento es difícil deslindar la contribución de la exposición ocupacional de la de otros determinantes asociados al estilo de vida y al nivel socioeconómico.

La enfermedad tumoral mamaria se ha asociado tanto con la sociedad industrializada como con el estilo de vida occidental. Desde el fin de la segunda guerra mundial, son muchos los factores que han cambiado en el estilo de vida de la mujer en las sociedades industrializadas; por ejemplo, en lo que se refiere a los cambios en la dieta respecto a la ingesta de energía, grasa, carne, leche, pescado, fibra, o verduras frescas (*Hershcopf & Bradlow, 1987; Kelsey et al, 1993*). Los modos de vida se identifican con una sobrealimentación, el exceso de peso y la baja actividad física, lo que puede inducir, en sí mismo, una desregulación hormonal. Estos cambios pueden, además, empezar a edades tempranas, lo que podría estar relacionado con la incidencia de cáncer de mama en mujeres jóvenes.

Los estudios epidemiológicos que han intentado probar la asociación entre la exposición a xenoestrógenos, fundamentalmente pesticidas organoclorados y el riesgo de padecimiento de cáncer de mama son, cuanto menos, reiterativos e insuficientes, si es que hemos de buscar una definición de la situación

actual (Kortenkamp, 2006). Algunos de los estudios epidemiológicos realizados en los últimos 20 años son: Davis (1993), Krieger (1994), Ahlborg (1995), van't Veer (1997), López Carrillo et al, (1997), Hunter (1997), Stellman (1998), Olaya-Contreras (1998); Guttus (1998), Hoyer (1998, 2000), Helzlsouer (1999), Mendoca (1999), Zeng (1999), Demers (2000), Ward (2000), Wolff (1993, 2000a y b) y Laden (2001), Aronson (2000), Millikan (2000), Romieu (2000), Woolcott (2001), Moysich (2002), Sarcinelli (2003), Ibarlucea (2004), Xu (2010). La mayor crítica de estos estudios es que se han ceñido a estudiar la exposición humana a uno o unos pocos compuestos. Esta aproximación es, como se ha dicho, insuficiente si se considera la gran variedad de sustancias químicas presentes en el medio ambiente que entran dentro de la clasificación de organoclorados y que se amplía de forma considerable si se considera el conjunto de los disruptores endocrinos con carácter estrogénico. Por esta razón, los estudios diseñados para investigar la exposición a un único compuesto químico y el riesgo de padecimiento de cáncer de mama que concluyen negativamente deberían limitarse a esa conclusión de forma exclusiva y precisa, y no extender la conclusión al conjunto de todos los pesticidas organoclorados y a todos los xenoestrógenos. A pesar de que se contabilizan más de 30 estudios epidemiológicos, lo cierto es que éstos tienen defectos de diseño que impiden extraer conclusiones válidas y sesgan su interpretación.

Los datos de bioacumulación de DDT/DDE en el tejido adiposo y su liberación a sangre, pueden ofrecer alguna información adicional en el estudio de la hipótesis medio ambiental en cáncer de mama. Los resultados de los estudios epidemiológicos que han utilizado estos tejidos para la cuantificación de la exposición parecen ser algo más convincentes en la demostración de la hipótesis. Por ejemplo, el DDE parece estar un 50% más elevado en el tejido graso mamario de las enfermas afectas de cáncer que en las enfermas sin tumores mamarios malignos (Falck et al, 1992). Estas diferencias se hacen aun más visibles cuando se determinan los niveles de DDE en pacientes con tumores positivos para el receptor estrogénico (Dewailly et al, 1994).

La inconsistencia en los resultados puede deberse a los sesgos en la elección de la población o los subgrupos étnicos seleccionados para hacer los diferentes estudios (Snedeker, 2001), la variabilidad en la sensibilidad al análisis químico o fallos en un control adecuado de potenciales confusores, efectos modificadores y otras covariables asociadas. Los productos químicos pueden también interactuar con el medioambiente, la dieta, el estilo de vida, la susceptibilidad genética y factores reproductivos que no se han medi-

do sistemáticamente en los diferentes estudios (*Sasco, 2001*).

Por otro lado, la mayor parte de los trabajos en este campo estiman la exposición de manera indirecta, utilizando datos derivados de cuestionarios epidemiológicos, orientados a tipificar la exposición, incluido el momento en que ésta ha ocurrido, información sobre el lugar de residencia, ocupación, hábitos de vida, entre otros. Pero la utilización exclusiva del cuestionario epidemiológico puede introducir sesgos importantes, ya que el investigador queda, en muchos casos, a merced de la calidad y la validez de las preguntas y le enfrenta en ocasiones a problemas de legibilidad o ausencia de anotaciones, limitando, en definitiva, las posibilidades de obtención de información de forma fidedigna, y concluyendo en una clasificación inadecuada de la exposición (*Dolk & Vrijheid, 2003; Kurahashi et al, 2005; Vidaeff & Sever, 2005*).

Por último, indicar que en la mayoría de los casos la hipótesis de asociación entre compuestos organoclorados y cáncer de mama se ha planteado con estudios que incluyen la medida indirecta de exposición a uno o unos pocos contaminantes medioambientales, generalmente pesticidas de uso agrícola, o de exposiciones químicas importantes ligadas a actividades profesionales concretas, olvidando que es el efecto combinado del conjunto de compuestos químicos disruptores endocrinos, y su interacción con las hormonas endógenas, lo que, en última instancia, define el riesgo de enfermedad (*Soto et al, 1997; Kortenkamp et al, 1998; Payne et al, 2001; Kortenkamp, 2006; Valerón et al, 2009*).

3. BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN, SUSCEPTIBILIDAD Y EFECTO

3.1. TEXTB como factor de riesgo de cáncer de mama

Durante las últimas décadas, el interés de la comunidad científica por los compuestos químicos disruptores endocrinos ha experimentado un crecimiento espectacular, ya que estas sustancias parecen jugar, de manera inequívoca, un papel importante en la génesis de enfermedades relacionadas con el desarrollo y la funcionalidad del sistema reproductor, y con la aparición de tumores en órganos dependientes de las hormonas (*Miller & Sharpe, 1998*).

La relación causal entre exposición a disruptores endocrinos y efecto en humanos es relevante y plausible, y se apoya en observaciones clínicas tan importantes como la experiencia humana con el fármaco dietilestilbestrol (DES) (*Swan, 2000*), o las alteraciones observadas en hijos de trabajadores profesionalmente expuestos a algunos pesticidas clasificados, hoy día, como xenoestrógenos (*Soto et al, 1995*). Miller y Sharpe (1998) enunciaron algunos de los factores que contribuyen a la dificultad de establecer asociaciones de causalidad entre disruptores endocrinos y enfermedad. Las razones son:

- 1. La baja potencia hormonal** de la mayoría de los compuestos químicos identificados como disruptores endocrinos.
- 2. La variedad** en cuanto a su naturaleza y estructura química, lo que dificulta tanto su identificación como la asignación a cada uno de ellos de un papel de forma aislada.
- 3. La posibilidad** de que los **efectos combinados** puedan ser críticos para ejercer un efecto hormonal.
- 4. La incertidumbre** que rodea al efecto de estos compuestos, que varía dependiendo del órgano diana y de las circunstancias de la exposición.

La medida de la exposición crea grandes problemas de clasificación en los diseños epidemiológicos, cuando se intentan categorizar los factores de riesgo relevantes. La necesidad de seleccionar uno o varios test de disrupción endocrina es una de las cuestiones más debatidas dentro de las organizaciones gubernamentales implicadas en el estudio de dichas sustancias y encargadas de proponer medidas de regulación. Una clasificación incorrecta limita la posibilidad de establecer una relación causa-efecto por la expo-

sición a compuestos químicos con actividad disruptora endocrina. La separación temporal entre exposición y presentación de la enfermedad, acentúa las dificultades.

Nuestro grupo de trabajo, de carácter multidisciplinar, no ha sido ajeno a estas preocupaciones y ha venido desarrollando, de forma ininterrumpida, trabajos de investigación, tanto identificando compuestos con actividad hormonal, como estableciendo métodos de estimación de la exposición que van más allá de la cuantificación aislada de uno o unos pocos compuestos. Estos trabajos han permitido avanzar considerablemente en el conocimiento sobre la importancia de los disruptores endocrinos en el desarrollo de enfermedades hormono dependientes, sopesar de forma objetiva la extensión e importancia de la exposición humana a compuestos químicos con actividad hormonal y disponer de marcadores de exposición/efecto de aplicación rutinaria en estudios epidemiológicos.

La *Agencia Americana para la Protección del Medio Ambiente y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico* (OCDE) ha tratado de establecer una batería de ensayos in vitro para el pre-cribado de sustancias químicas con potencial estrogénico. Algunos de los ensayos empleados para evaluar la disrupción endocrina son:

1. Test uterotrófico en ratas inmaduras.
2. Bioensayo de Herberger de próstata.
3. Protocolo 407 ampliado para efectos transgeneracionales.
4. Bioensayo E-Screen.
5. Levaduras (bioensayo YES) o líneas celulares, transfectadas de manera permanente con receptores específicos.

Además, y con objeto de dar una solución al problema de la estimación de la exposición conjunta a varios xenoestrógenos, se ha sugerido la cuantificación en muestras biológicas y medioambientales del mayor número posible de compuestos químicos, el estudio de las interacciones existentes entre ellos, y el desarrollo de biomarcadores de exposición y efecto para los compuestos hormonalmente activos.

El diseño de estudios encaminados a investigar la relación existente entre la exposición a disruptores endocrinos y el desarrollo último de enfermedad, basados en el análisis de muestras humanas, debe considerar la hipótesis a ser testada, los compuestos químicos que van a ser medidos y la actividad biológica que vaya a ser analizada. Sin embargo, estas consideraciones no suelen ser tenidas en cuenta de mane-

ra sistemática. Por ejemplo, muchos estudios han incluido compuestos químicos que no son hormonalmente activos, otros estudios sólo han medido y tenido en cuenta un único compuesto, y la mayoría de los estudios no han considerado los efectos acumulativos y las interacciones entre compuestos químicos.

Dentro de este contexto, hace más de una década, Soto y colaboradores propusieron que, además de medir los niveles de exposición a determinados disruptores endocrinos, sería más útil evaluar el efecto de los mismos mediante la medida de la actividad biológica resultante de la exposición a xenobióticos (*Sonnenschein et al, 1995; Soto et al, 1997*). A partir de esta idea y en colaboración con el grupo americano, nuestro grupo de investigación desarrolló una metodología de extracción de estrógenos en muestras biológicas humanas, y al mismo tiempo adoptó y desarrolló un sistema para estimar la carga estrogénica total de xenobióticos presentes en muestras biológicas, empleando el test 'E-Screen', desarrollado por Soto & Sonnenschein (*Soto et al, 1992*) y modificado por Villalobos (*Villalobos et al, 1995*). Este bioensayo compara la proliferación de las células de la línea MCF-7 de cáncer de mama tratadas con estradiol, con aquellas tratadas con diferentes concentraciones de xenobióticos sospechosos de ser estrogénicos. La metodología analítica desarrollada permite, partiendo de muestras biológicas humanas, por ejemplo tejido adiposo o placenta, separar por medio de técnicas cromatográficas los xenobióticos lipofílicos organohalogenados con actividad estrogénica (fracción α) de aquellos estrógenos naturales contenidos en las muestras humanas (fracción β), si bien en esta última fracción también pueden estar presentes compuestos de síntesis no halogenados (xenoestrógenos) como por ejemplo bisfenol A. Esta metodología se hace indispensable para que las muestras puedan ser ensayadas en test biológicos en los que los estrógenos naturales desencadenan los efectos específicos relacionados con su actividad, como es el estímulo de la proliferación celular. Para su utilización, el ensayo requiere que se obtengan muestras exentas de estrógenos endógenos que al ser evaluadas en el test biológico den una respuesta hormonal que pueda ser atribuida al contenido en xenoestrógenos, sin la interferencia de las hormonas naturales.

La utilización de las fracciones α y β del extracto en el ensayo E-screen permite, por medio de diluciones sucesivas, estimar su efecto proliferativo y su equivalencia en concentración de hormona natural, es decir de estradiol. La actividad biológica de las muestras de tejido adiposo extraídas y testadas en el ensayo E-Screen permite cuantificar el efecto hormonal estrogénico y puede ser transformada en *unidades equivalentes de estradiol (eqE)*, es decir, en la concentración de estradiol que produciría un efecto

proliferativo similar. Este concepto ha sido referido como carga estrogénica total efectiva (TEXB: *Total Effective Xenoestrogen Burden*) (Rivas et al, 2001), ya que asigna un valor de estrogénicidad a las muestras biológicas y convierte un marcador de exposición en un marcador de equivalencia biológica y de efecto biológico (Fernández et al, 2004). Este marcador ha sido aplicado con éxito en estudios epidemiológicos de muy diferente índole, en los que la exposición a disruptores endocrinos estrogénicos se cuantifica mediante la medida individual de residuos químicos y la estimación de la actividad estrogénica del extracto tisular (Ibarluzea et al, 2004; Fernández et al, 2007b).

La utilidad de ambos tipos de medida se subraya si tenemos en cuenta la baja correlación mostrada por cada compuesto analizado, así como por la suma de los compuestos determinados y la actividad estrogénica de la fracción α ($r_s = 0.01$, $p=0.86$), en un estudio realizado con muestras de tejido adiposo procedentes de pacientes intervenidas de cáncer de mama y de otras patologías no tumorales (Fernández et al, 2004), ya que se ahonda en la idea de que la medida de la concentración de determinadas sustancias xenoestrogénicas no refleja necesariamente su efecto biológico.

La medida de TEXB en muestras biológicas va más allá del concepto de biomarcador de exposición, puesto que, con su expresión no se limita a indicar exposición, sino que establece un vínculo con el efecto biológico producido. La medida de TEXB en muestras biológicas es, por tanto, un marcador de exposición y un marcador subrogado de efecto, al mismo tiempo. Este biomarcador, junto con las técnicas de análisis químico, que permiten hoy día detectar y cuantificar sustancias a concentraciones pico y nanomolares, junto con la inclusión de nuevos disruptores endocrinos, hace que el campo objeto de estudio responda de pleno a las recomendaciones de la Unión Europea.

3.1.1. Riesgo de cáncer de mama y el efecto combinado de estrógenos ambientales. TEXB

Entre 1996 y 1998 nuestro grupo de investigación realizó un estudio de base hospitalaria con diseño caso-control, cuyo objetivo fue determinar si el efecto combinado resultante de la exposición a estrógenos ambientales era un factor de riesgo de cáncer de mama. Para ello se cuantificó la exposición a 16 compuestos organoclorados-disruptores endocrinos, con actividad estrogénica probada, en muestras de tejido adiposo de mujeres con cáncer de mama y en sus controles apareados, y se investigó, además, la actividad biológica resultante de la exposición al conjunto de compuestos bioacumulados, utilizando para

ello el ensayo biológico de estrogénicidad E-Screen, lo que permitió clasificar a las pacientes de acuerdo a su carga estrogénica total efectiva-TEXB (Ibarluzea *et al*, 2004).

Se reclutaron pacientes en dos hospitales de Granada y uno de Almería, con edades comprendidas entre los 35 y 70 años. Las mujeres con cáncer de mama fueron sometidas a cirugía tras el diagnóstico y se clasificaron atendiendo a los tipos histológicos: 77,2% carcinoma ductal infiltrante, 9,8% carcinoma lobulillar y el 13% otros subtipos, o *in situ* (4,5%). Casos y controles fueron apareados por edad (± 3 años) y hospital de reclutamiento, seleccionando a los controles entre mujeres que iban a ser intervenidas quirúrgicamente de patología no tumoral, endocrina u oncológica, debido a la necesidad de analizar muestras de tejido adiposo entre las variables del estudio. Los criterios de exclusión para los controles fueron la presencia de patología endocrina o ginecológica, incluyendo diabetes o historia de cáncer.

Se identificaron 260 casos y 352 controles, de los que se obtuvo muestra de tejido adiposo en 219 casos y 307 controles. Antes de la cirugía se les realizó un cuestionario epidemiológico diseñado *ad hoc* para obtener información sobre características sociodemográficas, historia reproductiva (fertilidad, estado menopáusico, uso de hormonas exógenas, entre otros), dieta, consumo de alcohol o tabaco, e historia familiar de cáncer de mama. El cuestionario, el análisis químico y el ensayo de estrogénicidad se pudo realizar para 198 casos (76%) y 260 controles (73%).

Se analizó la presencia y concentración de 16 pesticidas organoclorados y se investigó el efecto biológico del tejido extraído mediante el test de proliferación celular E-Screen. Los principales resultados del estudio caso-control se resumen a continuación.

La media de edad de los casos fue algo menor que la de los controles (54,8 vs. 56,8; $p=0,06$), a pesar del apareamiento por edad. El IMC (Índice de Masa Corporal) fue también algo menor en los casos (27,3 kg/m² vs. 29,6 kg/m²; $p>0,01$). Las diferencias en otros factores de riesgo de cáncer de mama entre casos y controles fueron estadísticamente significativas para estado civil, nivel educativo, ocupación, número de embarazos a término, edad al primer hijo a término, meses de lactancia, historia familiar de cáncer de mama y consumo de alcohol y tabaco.

Todas las mujeres, casos y controles, tenían niveles medibles de al menos alguno de los 16 pesticidas incluidos en el estudio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles para ninguno de los pesticidas, aunque en los casos se encontraron mayores niveles para p,p'-DDE,

aldrín, lindano y endosulfán-éter. La edad y el IMC mostraron una correlación positiva con p,p'-DDE, pero no con otros pesticidas. La medida de TEXB de las fracciones α o β no se asoció con ninguno de los 16 pesticidas cuantificados, excepto para endosulfán-éter, que mostró una correlación negativa con TEXB de la fracción beta. Ambos, TEXB- α y TEXB- β se correlacionaban de forma positiva. Se encontró que TEXB- α y β descendían con la edad, siendo mayor la reducción para la fracción beta. El IMC no se asoció estadísticamente con la estrogenicidad de las fracciones α o β .

Cuando se calculó la OR cruda para todos los casos y controles, sólo la exposición a aldrín supuso un incremento significativo del riesgo OR (OR 1,55; IC 95% 1,00-2,40).

La población se clasificó por encima y por debajo de la mediana de IMC. Con esta categorización, las mujeres con cáncer de mama con mayores niveles de TEXB en la fracción α mostraron un riesgo de enfermedad de 2,44 (OR 2,44; IC 95% 1,03-5,78) cuando se comparaban con las de referencia (menores valores de TEXB), después de ajustar por las variables de interés. Cuando se incluía TEXB- β en el modelo de regresión logística, la OR alcanzaba el valor de 3,42 (IC 95% 2,22-9,58).

La población también se clasificó en función de estado pre o post menopáusico. En el grupo de mujeres postmenopáusicas, el riesgo de enfermedad fue estadísticamente significativo para aldrín (OR 1,84; IC 95% 1,06-3,18), lindano (OR 1,76; IC 95% 1,04-2,98) y TEXB- α (OR 2,18; IC95% 1,09-4,36). Por último, estratificando a las mujeres por menopausia e IMC, las mujeres postmenopáusicas más delgadas mostraron una asociación estadísticamente significativa con TEXB- α , con una OR para el segundo tercil de 2,78 (IC 95% 1,00-7,72) y para el tercer tercil de OR 5,67 (IC 95% 1,59-20,21).

Las conclusiones obtenidas en el estudio de casos y controles fueron las siguientes:

- 1. Las características sociodemográficas**, antropométricas, de historia reproductiva, antecedentes familiares de cáncer de mama y de estilo de vida, identificadas como factores de riesgo en el estudio caso-control, son similares a las descritas en la literatura para esta patología.
- 2. Todas las mujeres participantes** en el estudio (tanto casos como controles) mostraron niveles detectables de al menos uno de los plaguicidas analizados, siendo el más frecuentemente detectado el p,p'-diclorodifenildicloroetileno (DDE), seguido de endosulfán-éter, del lindano y del aldrín.
- 3. p,p'-DDE no se asocia con cáncer de mama**, si bien, se observan ligeros incrementos de riesgo en los estratos superiores de este residuo, fundamentalmente en mujeres postmenopáusicas con un mayor gra-

do de obesidad, pero que no alcanzan la significación estadística. Aldrín, endosulfan-éter y lindano mostraron leves incrementos de riesgo, significativos o muy cercanos a la significación estadística, fundamentalmente para las mujeres postmenopáusicas.

4. La carga estrogénica de la fracción cromatográfica α (TEXB α), utilizada como biomarcador de exposición que integra la respuesta estrogénica de sustancias exógenas, midiendo la capacidad de inducir proliferación en células de cáncer de mama, presentó una asociación intensa con la carga estrogénica de la fracción cromatográfica β y una relación inversa con la edad. Además se asoció de manera significativa con otras variables como antecedentes de cáncer de mama y consumo de tabaco.

5. La escasa o nula asociación entre los niveles de los plaguicidas analizados, así como la ausencia de asociación entre los niveles de plaguicidas y la carga xenoestrogénica de la fracción α induce a pensar que su utilización como biomarcador de exposición, próximo al significado de biomarcador de efecto, presenta un uso potencial. Al desconocerse los diferentes mecanismos de acción biológica de los compuestos xenoestrogénicos y su respuesta integrada (efecto biológico) apoyan la utilización de este biomarcador. La **carga corporal de xenoestrógenos** (medida en fracción cromatográfica α) es un **factor de riesgo para cáncer de mama**, tanto para el conjunto de mujeres como para las mujeres postmenopáusicas que presentan un menor grado de obesidad. Los riesgos asociados se incrementan al ajustar los resultados por la carga estrogénica de la fracción β . Las similitudes y diferencias de estos resultados con los mostrados para los plaguicidas estudiados, vuelven a indicar que la interpretación a nivel biológico puede ser más significativa que el conjunto de efectos individuales.

6. La carga estrogénica de la fracción β , fundamentalmente representativa de la carga estrogénica endógena, además de estar fuertemente relacionada con la carga xenoestrogénica de la fracción α , se relaciona con el estado civil e inversamente con la edad. Los antecedentes de cáncer de mama, fuertemente ligados a la estrogenicidad de la fracción α , no tienen ninguna repercusión sobre la fracción β . La fuerte correlación entre ambas fracciones estrogénicas y su comportamiento paralelo con un buen número de variables podría atribuirse, en parte, a que ambas comparten cierto grado de exposición a xenoestrógenos medioambientales

3.2. Compuestos organoclorados y supervivencia en cáncer de mama

Aunque múltiples estudios han tratado de establecer la relación entre la exposición a compuestos organoclorados y el riesgo de cáncer de mama, son pocos los estudios que han valorado el efecto de esta exposición en la evolución de la enfermedad.

Hoyer y colaboradores evaluaron, en el año 2000, el efecto de la exposición a dieldrín en la supervivencia de mujeres diagnosticadas de cáncer de mama, observando que tenía un efecto adverso y estadísticamente significativo en la supervivencia global, sugiriendo que la exposición previa a compuestos organoclorados con actividad estrogénica no solo tiene efecto sobre el riesgo de enfermedad, sino también sobre el pronóstico de la misma (*Hoyer et al, 2000*). Por otra parte, niveles elevados en sangre de p,p'-DDE se ha relacionado con mayor afectación ganglionar (*Demers et al, 2000*), y altas concentraciones de dieldrín también se relacionan con tumores ER negativos y con un incremento en el riesgo de recurrencia de la enfermedad (*Hoyer et al, 2001*). El microambiente estrogénico generado por los residuos organoclorados en el tejido adiposo mamario parece también influir en el comportamiento del tumor a través de la activación del RE α (Receptor estrogénico alfa) y la proliferación dependiente de RE α (*Muñoz de Toro et al, 2006*).

La exposición ambiental a compuestos organoclorados podría, por tanto, afectar también a la progresión del cáncer de mama. Se hace necesario, una vez conocido el riesgo de enfermedad que determina la exposición a estas sustancias, conocer qué tipo de enfermedad, y la agresividad de la misma, es la que determina la exposición a contaminantes ambientales-disruptores endocrinos, sobre todo teniendo en cuenta su posible efecto combinado.

Bajo estas premisas se ha planteado el presente trabajo de Tesis Doctoral.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. Hipótesis

página 77

2. Objetivos

página 78

La relación existente entre exposición a sustancias químicas con actividad hormonal (disruptores endocrinos-DE) a lo largo de la vida y la aparición de diferentes patologías en la vida adulta, constituye un problema complejo y de difícil enjuiciamiento. El cáncer de mama y los factores ambientales es un ejemplo paradigmático, de dificultad en establecer una asociación medioambiente y cáncer. La razón podría radicar en que la mayor parte de los estudios llevados a cabo a este respecto han explorado el efecto de un compuesto químico único, o unos pocos, como causa de enfermedad. Esa aproximación sencilla y fácilmente abordable en un estudio clínico y epidemiológico es claramente errónea porque obvia aspectos elementales de la realidad: la exposición humana a DE ocurre para múltiples compuestos químicos, actuando a bajas dosis y a través de mecanismos de acción diversos. Por tanto, desde el punto de vista patogénico es ineludible investigar el efecto combinado de la exposición a múltiples compuestos químicos y no limitarse a la demostración de la exposición a uno o unos pocos residuos. Además, la exposición del ser humano a DE puede ser de carácter ocupacional o ambiental y ocurre a través de múltiples vías, incluyendo el agua, la comida, el aire, el suelo, o productos de aseo personal. En algunos casos, la vía de exposición puede no ser evidente –exposición inadvertida- y también es difícil encontrar poblaciones libres de exposición. Por otra parte, la demostración del efecto sobre salud se ha limitado al estudio de enfermedades de causa multifactorial y con prolongados tiempos de latencia, en las cuales la exposición a DE es un factor más, no exclusivo ni excluyente, en la etiología de la enfermedad.

La monitorización de niveles de exposición en la población es un paso imprescindible para reforzar la investigación sobre la evaluación de los riesgos en salud. Muestras biológicas diversas, como por ejemplo sangre-suero, saliva, leche materna o tejido graso, pueden servir para la aplicación de biomarcadores de exposición y efecto. La cuantificación química permite identificar los contaminantes ambientales más frecuentes y de interés en la población de estudio y establecer procedimientos de seguimiento. Por otra parte, tanto la medida de compuestos químicos de forma individualizada como la estimación de la actividad hormonal resultante de la exposición a múltiples compuestos, en los extractos tisulares, son dos formas igualmente útiles de aproximación a la estimación de la exposición. Mediante técnicas bioquímicas sencillas se pueden extraer los xenobióticos hormonales allí contenidos y testar su actividad estrogénica-antiestrogénica.

Este conocimiento previo, desarrollado por nuestro equipo de investigación, ha permitido desarrollar y estandarizar el **biomarcador de exposición ‘carga estrogénica total efectiva (TEXB)’**, empleado para evaluar el papel de la exposición a contaminantes químicos-DE en el estudio epidemiológico caso-control en cáncer de mama en el que se basa este trabajo de Tesis Doctoral. En el mismo se concluyó que, si bien solo dos (aldrín y lindano) de los 16 compuestos químicos (DE) medidos en el tejido adiposo se asociaba con el riesgo de enfermedad, el efecto combinado de todos ellos, la ‘carga estrogénica total efectiva’, suponía un mayor riesgo, especialmente para las mujeres tras la menopausia y con un índice de masa corporal por debajo de la mediana de la población de estudio.

El estudio que se presenta en esta memoria de Tesis Doctoral se enmarca dentro de los objetivos planteados en el proyecto de investigación ‘*Análisis de supervivencia en cáncer de mama. Diez años de seguimiento de la cohorte Granada-Almería de cáncer y medioambiente*’, llevado a cabo por un grupo multidisciplinar de clínicos, investigadores básicos y epidemiólogos de distintas instituciones, financiado por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (**Proyecto nº 0133/2007**). La consecución de los objetivos del proyecto pretende contribuir al conocimiento de la supervivencia global y libre de enfermedad a los cinco y diez años en un grupo de mujeres con cáncer de mama, reclutadas por nuestro grupo de investigación en un estudio caso-control realizado hace más de diez años, y definir las variables pronóstico relacionadas con su supervivencia.

1. Hipótesis

En patología tumoral maligna mamaria, una vez instaurado el tratamiento antitumoral sistémico, los contaminantes ambientales -DE- bioacumulados en el tejido adiposo podrían aún contribuir a la exposición interna a residuos químicos con actividad hormonal y afectar negativamente a la evolución de la enfermedad.

2. Objetivos

2.1. General

Analizar en la cohorte de pacientes con cáncer de mama, reclutadas en el momento del diagnóstico, la supervivencia global, observada y relativa, a cinco y diez años, y la supervivencia libre de enfermedad, en función de las variables clínicas y epidemiológicas de riesgo y de la exposición a contaminantes ambientales-DE.

Para lograr este objetivo se plantean los objetivos específicos siguientes:

- 1. Conocer la evolución** de la enfermedad en la población de estudio.
- 2. Estudiar la supervivencia** libre de enfermedad transcurridos diez años del diagnóstico clínico y estimar el tiempo de supervivencia libre de enfermedad, y los tiempos a recidiva y a metástasis.
- 3. Investigar** si el biomarcador de exposición y efecto 'TEXB', además de factor de riesgo de cáncer de mama, tiene un valor pronóstico en esta enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Población de estudio.
Definición de caso y control

[página 80](#)

2. Fuentes de información

[página 81](#)

3. Muestras biológicas:
obtención y procesamiento

[página 84](#)

4. Análisis estadístico y epidemiológico

[página 88](#)

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Población de estudio. Definición de caso y control

Entre mayo de 1996 y septiembre de 1998, nuestro grupo de investigación llevó a cabo un estudio epidemiológico de casos y controles de base hospitalaria que tenía como propósito analizar la relación existente entre la exposición a diferentes contaminantes ambientales-DE contenidos en tejido adiposo y el riesgo de cáncer de mama. Se reclutaron casos incidentes de cáncer de mama de tres hospitales públicos, dos en la provincia de Granada (Hospital Universitario San Cecilio y Hospital Universitario Virgen de las Nieves) y uno en la provincia de Almería (Complejo Hospitalario Torrecárdenas). Se consideró **caso** a mujer recién diagnosticada e intervenida quirúrgicamente de cáncer de mama en los hospitales participantes, sin antecedentes tumorales previos y que, conocidos los objetivos del estudio, aceptara participar en el estudio firmando el correspondiente consentimiento informado. Los casos se aparearon con mujeres **control**, considerando como tal a mujer intervenida quirúrgicamente de cualquier patología no oncológica, ginecológica o endocrina, emparejada con la mujer caso por hospital de reclutamiento y por edad (± 3 años) (*Ibarluzea et al, 2004*). Todas las participantes en el estudio contestaron una encuesta epidemiológica diseñada *ad hoc*, consintieron que se obtuvieran muestras de sangre y tejido adiposo durante su intervención quirúrgica y que se revisara la información disponible en sus historias clínicas.

Se contactó inicialmente con un total de 260 pacientes de cáncer de mama, 10 de las cuales rechazaron participar en el estudio (3,8%), y para 36 (13,8%) la información obtenida fue insuficiente (faltaba bien la encuesta o la muestra biológica). Finalmente, 214 casos (82,3%) fueron entrevistados y se dispuso de suficiente tejido adiposo y tumor para realizar los análisis establecidos.

Las fuentes de información del estudio fueron por tanto tres:

- 1) **historia clínica** de las pacientes,
- 2) **cuestionario epidemiológico** estructurado, que incluía información relevante sobre características sociodemográficas y factores de riesgo establecidos para cáncer de mama y
- 3) **muestras biológicas** de las participantes (sangre y tejido adiposo, mamario en los casos y abdominal en los controles). En estas muestras se cuantificó la exposición a 16 contaminantes ambientales-DE y se

analizó la actividad biológica resultante mediante el biomarcador de exposición TEXB (*Fernandez et al, 2004*). Además, en el tejido tumoral se determinó la expresión de receptores específicos.

Transcurridos diez años del reclutamiento de las pacientes, se planteó conocer el estado vital y su relación con las variables del estudio epidemiológico en el que se fundamenta este proyecto, incluyendo la información obtenida en el cuestionario epidemiológico, el análisis biológico de las muestras de tejido adiposo, los datos relevantes en el momento del diagnóstico, la evolución clínica de la enfermedad y la supervivencia de las pacientes tras la revisión de las historias clínicas.

Se ha podido efectuar el seguimiento en 203 mujeres de las 214 incluidas en el estudio epidemiológico inicial.

2. Fuentes de Información

2.1. Variables obtenidas en el momento del reclutamiento

Entrevistadores especialmente entrenados para el estudio contactaban con las mujeres tras su ingreso en los hospitales participantes para informarles de los objetivos y procedimientos del estudio y solicitarles su participación. La colaboración en el estudio significaba responder al cuestionario epidemiológico diseñado *ad hoc*, consentir que se revisara y obtuviera información de su historia clínica y acceder a que en la intervención quirúrgica se recogieran una muestra de sangre y otra de tejido adiposo mamario (~ 2 gr). De las mujeres que rechazaban participar en el estudio se dispone de los datos básicos incluidos en la hoja de no participación o no respuesta:

Hoja de no respuesta:

- Código de identificación
- Municipio de residencia y duración de la residencia por municipio
- Estado civil
- Escolaridad
- Ocupación

La entrevista personal estructurada incluía los siguientes apartados:

1. Hospital de reclutamiento

2. Características sociodemográficas:

- Edad al diagnóstico
- Municipio de residencia (rural/urbano)
- Estado civil
- Escolaridad
- Actividad laboral en el momento de la entrevista
- Ocupación
- Exposición ocupacional
- Clase social

3. Características antropométricas:

- Peso (Kg)
- Altura (cm)

4. Historia reproductiva:

- Edad de menarquia
- Edad de menopausia
- Años fértiles (calculado por diferencia entre edad de menarquia y de menopausia)
- Número de embarazos, número de hijos, edad al primer y al último embarazo a término
- Número de abortos
- Lactancia, duración total de la misma (suma de todos los meses de lactancia)

5. Intervenciones quirúrgicas previas:

- Ooforectomía, edad de la cirugía

6. Anticoncepción y terapia hormonal sustitutiva:

- Utilización de anticonceptivos hormonales, edad de inicio y duración
- Utilización de tratamiento hormonal sustitutivo, edad de inicio y duración

7. Hábito tabáquico y consumo de alcohol:

- Hábito de fumar
- Edad de inicio y finalización del hábito tabáquico
- Consumo de alcohol

8. Historia familiar de primer grado para cáncer de mama.

Además, en el momento del reclutamiento, se obtuvo información relevante de la historia clínica de las pacientes:

- Nº de historia clínica
- Diagnóstico principal (*Clasificación Internacional de Enfermedades, CIE-9-*) (*WHO, 1977*)
- Tipo y grado histológicos (*Clasificación Internacional de Enfermedades Oncológicas, CIE-0-2*) (*WHO, 1990*)
- Estadio tumoral: TNM clínico y anatomopatológico (*Clasificación de tumores malignos*) (*Sobin & Wittekind, 1997*)
- Receptores hormonales (de estrógenos y progesterona)
- Marcadores tumorales (pS2, catepsina D y p53)

En las muestras de tejido adiposo mamario obtenidas en la intervención quirúrgica, se investigó la presencia y concentración de 16 compuestos organoclorados y el efecto acumulado de todos ellos en el bioensayo de proliferación E-Screen, resultando el biomarcador de exposición 'carga estrogénica total efectiva': TEXB.

2.2. Variables obtenidas en el seguimiento.

Transcurridos diez años del reclutamiento, se realizó una revisión de las historias clínicas de las mujeres diagnosticadas con cáncer de mama con objeto de conocer su estado vital. Se recogió también información del Registro de Cáncer de Granada (*Escuela Andaluza de Salud Pública*) y del Registro Nacional de Defunciones. Las variables incorporadas fueron las siguientes:

Tiempo medio de seguimiento (obtenido por la diferencia entre la fecha de diagnóstico y la fecha de última revisión o último contacto)

Recidivas: localización, tiempo a recidiva y proporción

Metástasis: localización, tiempo a metástasis y proporción

Supervivencia Global observada (a los 5 y 10 años)

Supervivencia Libre de Enfermedad (a los 5 y 10 años)

Supervivencia Relativa (a los 5 y 10 años)

Mortalidad

La **supervivencia observada** de cáncer de mama indica la proporción de mujeres diagnosticadas de un

cáncer de mama en un momento determinado que siguen vivas al final de un intervalo de tiempo definido. Esta tasa tiene en cuenta todas las defunciones, independientemente de su causa; constituye el reflejo verdadero de la mortalidad total en el grupo de mujeres estudiadas, no de la mortalidad atribuible exclusivamente al cáncer de mama. Por este motivo, se calcula la **supervivencia relativa**, que corrige las tasas observadas teniendo en cuenta el riesgo de las pacientes de morir por causas diferentes al cáncer de mama.

Para la corrección se utilizan las tablas de vida de una población de características similares en cuanto a género, edad y periodo de observación, por lo que, generalmente, la supervivencia relativa es más elevada que la observada.

3. Muestras biológicas: obtención y procesamiento

Las muestras de tejido adiposo se obtuvieron durante la intervención quirúrgica de las pacientes. Se tomaron aproximadamente 2 gramos de tejido graso mamario, que se identificaron y almacenaron a -70°C en el Laboratorio de Investigaciones Médicas del Hospital Universitario San Cecilio (Granada) hasta el momento de su procesamiento. Las muestras de tejido adiposo se extrajeron en todos los casos antes del inicio del tratamiento de radioterapia o quimioterapia.

3.1. Extracción de xenoestrógenos en muestras de tejido adiposo

De los distintos procedimientos no destructivos de purificación, el más utilizado habitualmente se basa en la separación de los compuestos químicos de interés por cromatografía de adsorción en columna, utilizando distintos adsorbentes (alúmina, carbón activado, silica gel, sephadex, etc., o mezcla de ellos) y eluyentes como éter de petróleo, éter etílico, hexano u otros. Esta metodología permite eliminar prácticamente la totalidad de las sustancias interferentes, las cuales quedan retenidas en el adsorbente, debido a la diferencia de polaridad existente entre ellas y el disolvente de elución empleado. Para la extracción de los xenoestrógenos a partir de muestras de grasa, se utilizó una metodología basada en el método descrito en 1984 por *Okond'Ahoka y colaboradores*, con ligeras modificaciones.

3.2. Cromatografía líquida de alta resolución semipreparativa (HPLC)

De acuerdo con los trabajos precedentes de nuestro grupo de investigación, se utilizó un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) semipreparativa, eficaz para la separación de moléculas organocloradas con actividad estrogénica, de compuestos hidrosolubles tales como las hormonas naturales y aditivos y monómeros de plásticos como los bifenoles y alquilfenoles, que permite diferenciar la actividad hormonal de diferentes compuestos presentes en las muestras (*Rivas et al, 2001; Fernandez et al, 2004*). Se empleó un cromatógrafo líquido de alta resolución modelo 501 Millipore de Waters.

El método consiste en la inyección en el cromatógrafo del extracto obtenido (500 μ l) tras el procesamiento de la muestra, seguida de purificación cromatográfica con columna de sílice en las condiciones descritas por *Okond'Ahoka y colaboradores*. El eluido cromatográfico se recoge separado en tres fracciones de volúmenes, 11, 2 y 12 ml respectivamente, que corresponden a la división del cromatograma en tres secciones. Las fracciones obtenidas se identifican como:

Fracción α : Corresponde a los minutos del 0 al 11. En esta fracción eluyen compuestos organohalogenados.

Fracción x : Corresponde a los minutos del 11 al 13. Fracción de seguridad y separación entre las fracciones α y β .

Fracción β : Corresponde a los minutos del 13 al 25. En esta fracción eluyen hormonas naturales y otros compuestos no halogenados (más polares) como alquilfenoles y bifenoles.

Cada una de estas fracciones se lleva a sequedad en corriente de nitrógeno (con sumo cuidado para evitar posibles pérdidas). Los compuestos químicos identificados en la fracción α son: o,p'-DDT, p,p'-DDT, o,p'-DDD, p,p'-DDE (DDE), metoxicloro, endosulfán α , endosulfán β , endosulfán éter, endosulfán diol, endosulfán lactona, endosulfán sulfato, aldrín, dieldrín, endrín, mírex, clordano y γ hexaclorociclohexano (lindano).

La presencia de organoclorados en la fracción α se confirmó por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS). La cromatografía de gases demostró que los pesticidas organoclorados eluían en la fracción α , y siempre confirma la presencia de pesticidas organoclorados en dicha fracción, y no en las fracciones x o β . Los límites de detección (LD), obtenidos por cromatografía de gases, para los diferentes compuestos organoclorados fueron de 0,1 ng/ml para endosulfán éter; 0,5 ng/ml para o,p'-DDT,

lindano, endosulfán α , endosulfán diol, endosulfán sulfato; 1 ng/ml para metoxicloro; 2 ng/ml para endosulfán β y endosulfán lactona; 3 ng/ml para endrín; 5 ng/ml para p,p'-DDT, o,p'-DDD, p,p'-DDE y, finalmente, 10 ng/ml para mírex (*Rivas et al, 2001*).

3.3. Determinación de lípidos totales

El cálculo de los lípidos totales en las muestras de tejido adiposo se realizó gravimétricamente, previa extracción de la materia grasa con una disolución de cloroformo: metanol, ácido clorhídrico, evaporación de los disolventes y posterior pesada del residuo (*Rivas et al, 2001*).

3.4. Evaluación de la estrogénicidad de los extractos de tejido adiposo: fracciones α y β

Para la evaluación de la estrogénicidad de los extractos de tejido adiposo se utiliza el bioensayo de estrogénicidad E-Screen, que emplea la línea celular de cáncer humano MCF-7. Esta línea celular fue establecida por *Soule y colaboradores (1973)* a partir de un carcinoma de mama humano. Su gran difusión como modelo experimental de cáncer de mama puede ser atribuida a que se trata de la primera línea celular documentada como receptor estrogénico positivo (*Horwitz et al, 1978*), que responde con cambios metabólicos y estructurales a la acción de los estrógenos (*Lippman et al, 1986*). La línea celular MCF-7 presenta, además, receptores específicos para otros agentes hormonales, entre los cuales se encuentran los andrógenos, progestágenos, glucocorticoides, vitamina D3, hormonas tiroideas, prolactina, insulina, calcitonina y factores estimuladores del crecimiento celular (*Lippman et al, 1986*).

En el estudio se empleó el stock de las células MCF-7 BUS cedidas por el Dr. C. Sonnenschein (*Tufts University, Boston, EE.UU.*) y clonadas como C7MCF-7 a partir del pase 173 de la MCF-7 original cedida por el Dr. McGrath de la *Michigan Cancer Foundation*.

El test E-Screen se realizó siguiendo la metodología previamente descrita por *Soto (Soto et al, 1992)* y modificada por nuestro grupo de investigación (*Villalobos et al, 1995*). Las células MCF-7 en confluencia se tripsinizan y alícuotas de esta suspensión se siembran en placas de 24 pocillos a concentraciones iniciales de 20.000-40.000 células por pocillo, en medio de mantenimiento [medio mínimo esencial con sales de Earle y con rojo fenol, DMEM (+RF)], suplementado con el 5-10% de suero bovino fetal. Una vez que las células están adheridas al soporte plástico de la placa (generalmente 24-48 horas), se retira el medio

de mantenimiento y se añade medio experimental desprovisto de rojo fenol y suplementado con el 10% de suero humano desprovisto de estrógenos, CDHuS. Estradiol 17- β y las diluciones de las fracciones HPLC α y β se añaden al medio de cultivo. El ensayo finaliza a las 144 horas de subcultivo (fase exponencial) tras la aspiración del medio y la fijación de las células para tinción (mediante la técnica de la sulforrodamina-B) o contaje (adición de solución lisadora para obtener los núcleos y proceder a su recuento), tras lo cual, podemos comparar la proliferación celular inducida por el estradiol y las diluciones de las fracciones HPLC α y β .

Las fracciones cromatográficas α y β obtenidas por cromatografía líquida semipreparativa, ensayadas en el ensayo biológico E-Screen, permiten determinar la carga hormonal correspondiente a cada fracción. Para ello, los extractos secos y en duplicado de ambas fracciones se resuspenden en 5 ml de medio de cultivo experimental suplementado con el 10% CDHuS y se agitan con un vórtex durante al menos 5 minutos. Posteriormente, las fracciones se esterilizan con filtro de tamaño de poro de 0,22 μm y se realizan diluciones 1:1, 1:5 y 1:10 con objeto de poder asegurarse que posibles efectos tóxicos de las muestras no enmascaren actividades estrogénicas o antiestrogénicas. Las diluciones obtenidas se someten, finalmente, al test en el que se incluyen grupos celulares no tratados (control) y grupos celulares expuestos a estradiol-17 β a concentración 10 pM, que asegura proliferación celular máxima.

La actividad biológica de las muestras de tejido adiposo extraídas y testadas en el ensayo E-Screen permite cuantificar el efecto hormonal estrogénico y puede ser transformada en unidades equivalentes de estradiol (eqE), es decir, en la concentración de estradiol que produciría un efecto proliferativo similar. Este concepto ha sido referido como carga estrogénica total efectiva (TEXB) (*Rivas et al, 2001*), ya que asigna un valor de estrogenicidad a las muestras biológicas y convierte un marcador de exposición en un marcador de equivalencia biológica y de efecto biológico (*Olea et al, 2002*). En este estudio nos referiremos a la TEXB α o β según hagamos mención a una u otra de las fracciones cromatográficas aludidas.

3.5. Determinación de receptores tumorales

Las piezas de tejido tumoral fueron remitidas a los Departamentos de Anatomía Patológica de cada uno de los hospitales participantes. La determinación de las proteínas citosólicas es un paso previo a la cuantificación de los marcadores tumorales, que se realiza siguiendo el método de Bradford modificado (*Brad-*

ford, 1976). Para la determinación de los receptores tumorales de estradiol (RE) y progesterona (RP) se utiliza la técnica de anticuerpo monoclonal, que se basa en un inmunoensayo enzimático (ERIA, PgRIA, Abbott). La cuantificación se expresa para ambos receptores en fentomoles (10-15 moles) por mg de proteína citosólica. El límite de positividad fue, en ambos casos, de 15 fmol/mg de proteína citosólica.

4. Análisis estadístico y epidemiológico

4.1. Análisis de datos

El proceso de recopilación de datos se ha realizado a partir de las historias clínicas de las pacientes y de la revisión de la base de datos inicial creada para el estudio de casos y controles. Tras la revisión de la calidad de la base de datos, se ha realizado un estudio descriptivo de las variables recogidas, mediante el análisis de la frecuencia (%) para las variables categóricas y de las medidas de tendencia central (media y mediana) y dispersión (mínimo, máximo, desviación estándar) para las variables cuantitativas.

En el análisis bivalente, para evaluar las diferencias de concentraciones de los compuestos químicos investigados y de los valores de TEXB obtenidos entre los diferentes grupos, se usaron las pruebas no paramétricas de Mann-Whitney, de Kruskal Wallis y la correlación de Spearman.

Para el estudio de los factores que determinan el pronóstico de las pacientes incluidas en nuestra serie, se consideran dos variables dependientes:

- 1) Tiempo hasta la muerte (supervivencia global, SG), y
- 2) Tiempo de supervivencia libre de enfermedad (SLE), que incluye el tiempo hasta la aparición de metástasis y/o hasta la presencia recidiva.

Las variables consideradas las podemos clasificar en:

- **Variables de respuesta o dependientes:** Tiempo de supervivencia en meses (estimación de SG); tiempo transcurrido entre el diagnóstico y la aparición de recidiva local, en meses; tiempo transcurrido entre el diagnóstico y la aparición de metástasis, en meses; y tiempo libre de enfermedad (estimación de SLE), con un seguimiento siempre superior a 120 meses.

- **Variables independientes:**

Variables antropométricas y sociodemográficas: hospital de reclutamiento, edad (medida en años), IMC (en kg/m²), residencia (rural/urbana), nivel de escolaridad (no sabe leer/escribir, sabe leer/escribir, gra-

duado escolar, bachiller elemental, bachiller superior/FP, titulado medio y titulado superior) ocupación en el momento del diagnóstico (trabajadora, desempleada, pensionista, jubilada, ama de casa), dedicación a la agricultura (sí/no), estado civil (soltera, casada, viuda/separada).

VARIABLES REPRODUCTIVAS: edad de menarquia, edad de menopausia (sí/no), años fértiles (calculados por diferencia entre edad de menopausia y de menarquia), ooforectomía (sí/no, edad), embarazo (sí/no), abortos (sí/no, número), número de hijos, edad al primer y último hijo, lactancia y duración de la misma (sí/no, meses), uso de anticonceptivos hormonales (sí/no, edad de inicio y tiempo de uso), terapia hormonal sustitutiva (sí/no, edad de inicio y tiempo de uso).

ANTECEDENTES: antecedentes de cáncer de mama en familiares de primer grado (sí/no).

TABACO Y ALCOHOL: hábito tabáquico (nunca ha fumado, exfumadora y fumadora), edad de inicio y años fumando; consumo de alcohol (nunca ha bebido, ex bebedora, bebedora), consumo de alcohol (sí/no).

VARIABLES DEL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO: carcinoma in situ, carcinoma ductal infiltrante y carcinoma lobulillar infiltrante, entre otros subtipos histológicos, con sus variedades.

VARIABLES CLÍNICAS: estadio tumoral (clasificación clínica, cTNM e histológica, pTNM), metástasis ganglionares (sí/no), grado tumoral (1, 2 y 3), receptores hormonales (de estradiol-RE y progesterona-PR), marcadores tumorales (pS2, catepsina D, p53).

VARIABLES DE EXPOSICIÓN: TEXB de la fracción α (pM/g lípido), TEXB de la fracción β (pM/g lípido), y niveles de 16 compuestos orgánicos persistentes (ng/g lípido) en las muestras de tejido adiposo.

Para cada una de las variables dependientes se ha llevado a cabo un análisis en dos fases:

1. Análisis univariante de supervivencia mediante el método de Kaplan-Meier y el test de log rank para supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad. Análisis bivariante posterior, empleando la prueba de Breslow para las variables cualitativas o el modelo de riesgos proporcionales de Cox para las variables cuantitativas.

Por otro lado, se estimó la supervivencia relativa y sus intervalos de confianza al 95% (IC 95%) a 5 y 10 años del diagnóstico, mediante un análisis de cohorte, utilizando el método Pohar-Perme (*Pohar & Stare, 2006*). Las tablas de vida se construyeron usando el método de Elandt-Johnson (*Elandt-Johnson & Johnson, 1980*).

2. Análisis multivariante mediante el método de Cox (modelo de riesgos proporcionales) para supervi-

vencia global y supervivencia libre de enfermedad. Se ha investigado, asimismo, la posible presencia de interacciones. El análisis multivariante ha incluido las variables que resultaron con asociaciones estadísticamente significativas en el análisis bivariante y aquellas que por su plausibilidad biológica o clínica se consideran relevantes. El análisis multivariante se ha realizado con el modelo de riesgos proporcionales de Cox que tiene por objeto elegir el mejor modelo, es decir, aquél que explique la mayor variabilidad de las variables de resultado y que sea el más parsimonioso respecto al tiempo de supervivencia global y libre de enfermedad. El modelo se ajusta en función de los perfiles de riesgo y los exponentes a los que hay que elevar la función de supervivencia basal.

En todas los análisis realizados se consideró la significación estadística para $p \leq 0,05(**)$ y tendencia a la significación estadística para $p \leq 0,1(*)$, como propone Greenland (*Greenland, 1989*).

Todos los cálculos se realizaron con el programa estadístico SPSS versión 15.0 (*SPSS Inc., Chicago, IL*).

RESULTADOS

1. Análisis descriptivo de la población de estudio

[página 92](#)

2. Seguimiento: evolución de la enfermedad y supervivencia de las pacientes

[página 104](#)

3. Factores pronósticos en cáncer de mama

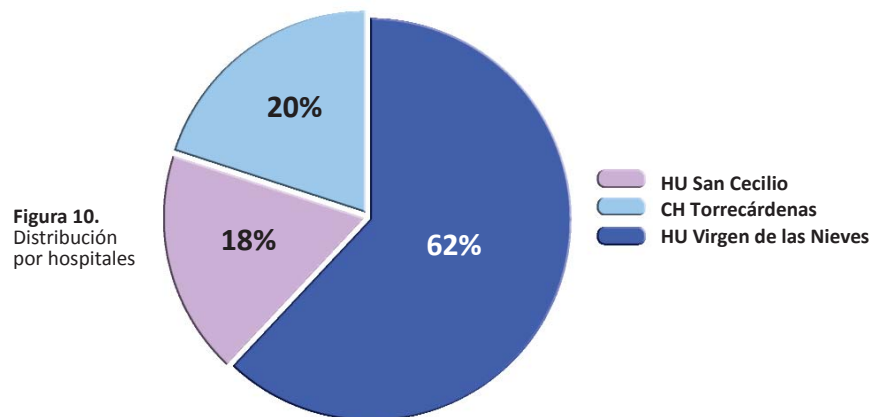
[página 108](#)

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Como se comentó en los antecedentes de este trabajo de Tesis Doctoral, durante el periodo de reclutamiento del estudio caso-control de cáncer de mama, que tuvo lugar entre mayo de 1996 y septiembre de 1998 (*Ibarluzea et al, 2004*), se contactó con un total de 260 pacientes de cáncer de mama, 10 de las cuales rechazaron participar en el estudio (3,8%), y para 36 (13,8%) no se obtuvo la información necesaria propuesta en los objetivos del estudio (faltaba bien la encuesta o la muestra biológica). Finalmente, 214 (82,3%) casos fueron entrevistados y se dispuso de suficiente tejido adiposo y tumor para realizar los análisis establecidos. Sin embargo, en este trabajo de tesis se ha podido realizar el seguimiento de un total de 203 (78,1%) casos de los incluidos inicialmente en el estudio. A continuación, describiremos las variables epidemiológicas de la población de estudio para la que se ha realizado el seguimiento.

1.1. Variables epidemiológicas

La distribución de las pacientes con cáncer de mama a las que se ha realizado el seguimiento, por hospital, ha sido la siguiente: 126 (62%) pertenecían al hospital Universitario Virgen de las Nieves, 37 (18%) al hospital Universitario San Cecilio y 40 (20%) al complejo hospitalario Torrecárdenas de Almería (*figura 10*).



Se presenta a continuación un resumen de la información recogida en el cuestionario epidemiológico, diseñado *ad hoc*, sobre los posibles factores de riesgo de cáncer de mama incluidos en el mismo.

La edad media de las pacientes al diagnóstico fue de 54,36 años (desviación estándar -DE- 10,36 años), con un rango de edad entre 34-76 años. En la *figura 11* se muestra la distribución por edad de las pacien-

tes en grupos de 10 años. Como se puede observar, la década de mayor presentación del cáncer de mama en nuestra población de pacientes fue la de los 45-54 años (27,1%), seguida de la de los 55-64 (26,1%), <44 (20,7%) y ≥65 años (19,7%).

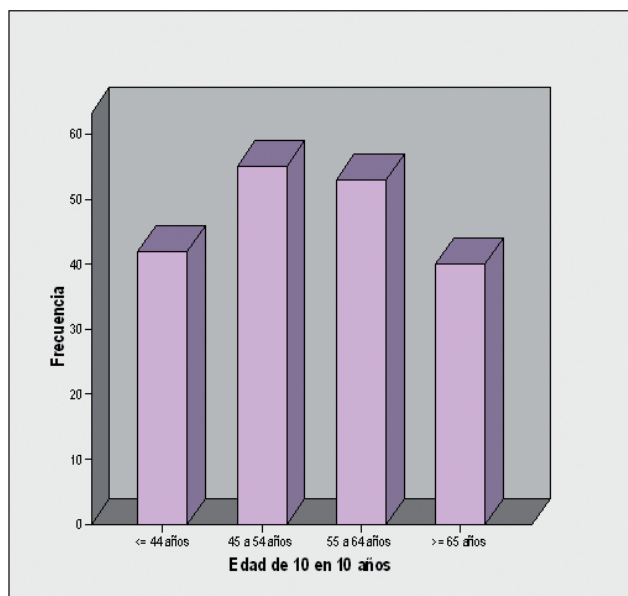


Figura 11. Distribución por edad de las pacientes

IMC(kg/m ²)	n (%)
• <18,5	4 (2,0)
• 18,5-24,9	61 (30,0)
• 25-29,9	72 (35,5)
• 30-34,9	45 (22,2)
• 35-39,9	12 (5,9)
• ≥ 40	4 (2,0)
• NS/NC	5 (2,5)

Su índice de masa corporal (IMC o Índice de Quetelet, en kg/m², según la clasificación de la OMS) en el momento del diagnóstico, tuvo un valor medio de 27,72 kg/m² (DE 4,97), con un rango entre 16,71-42,46 kg/m². La distribución de las pacientes según la clasificación de la OMS se detalla en la tabla 4.

La mayoría de las pacientes con cáncer de mama de nuestra serie tienen un IMC comprendido entre 25-35 (57,7%), que, según la clasificación de la OMS, define el sobrepeso y la obesidad.

Las características sociodemográficas de la población de estudio se muestran en la tabla 5. Las mujeres refirieron una residencia habitual urbana (definida en función del número de habitantes, >10.000) en el 43,43% de los casos. Entre las que residían en un medio rural, el 25% de ellas describieron una permanencia mayor al 93% de toda su vida en ese ámbito. El porcentaje de ruralidad se definió mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ ruralidad} =$$

$$\frac{(n^\circ \text{ años lugar nacimiento}) + (n^\circ \text{ años lugar residencia})}{\text{edad}} \times 100$$

TABLA 5. CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS	
	n (%)
Ruralidad (%)	
• 0	86 (42,4)
• > 0-28,24	13 (6,4)
• > 28,24-93,84	50 (24,6)
• > 93,84	49 (24,1)
• NS/NC	5 (2,5)
Estado Civil	
• Soltera	17 (8,4)
• Casada	152 (74,9)
• Viuda/separada	29 (14,3)
Nivel de escolaridad	
• No sabe leer/escribir	30 (14,8)
• Sabe leer/escribir	80 (39,4)
• 2º Grado completo	68 (33,6)
• Universitaria	20 (9,8)
Ocupación	
• Trabajadora	61 (30,0)
• Desempleada/parada	10 (4,9)
• Pensionista/Jubilada	39 (19,2)
• Ama de casa	87 (42,9)
Trabajo en agricultura	
• No	110 (54,2)
• Sí	88 (43,3)

También se recogió información acerca del estado civil de las participantes, estando la mayoría casadas (74,9%) en el momento del diagnóstico. Un alto porcentaje de las mujeres no tenía ningún tipo de estudios o tan solo describieron saber leer y escribir (54,2%), y solo un 9,8% de ellas refirieron formación universitaria completa. Respecto a la actividad laboral, el 42,9% de las mujeres eran amas de casa, trabajaban fuera el 30% de ellas, dentro de las cuales el 43,3% se dedicaban a tareas relacionadas con la agricultura.

Las características reproductivas de la población de estudio se muestran en la **tabla 6**.

La edad media de la menarquia entre las mujeres del estudio fue de 12,99 años (DE 1,74; rango 9-19 años). La distribución de las pacientes según la mediana (13 años) se detalla en la **tabla 6**.

TABLA 6. HISTORIA REPRODUCTIVA Y GINECOLÓGICA

	n (%)	Media (DE ^a)	Rango
Nº de hijos		2,81 (1,85)	0-11
• < 3	120 (59,1)		
• ≥ 3	53 (26,1)		
Edad al 1er hijo (años)		24,82(4,22)	15-37
• ≤ 22	55 (27,1)		
• 22-26	59 (29,1)		
• 27-29	38 (18,7)		
• > 29	21 (10,3)		
Lactancia (meses)		16,37 (21,69)	0-98
• ≤ 6	40 (19,7)		
• 6-15	29 (14,3)		
• 15-31,5	39 (19,2)		
• > 31,5	37 (18,2)		
Menarquia (años)		12,99 (1,74)	9-19
• < 13	86 (42,2)		
• ≥ 13	112 (54,9)		
Menopausia (años)		48,93 (4,44)	38-58
Anticonceptivos hormonales			
• No	138 (68,0)		
• Sí	60 (29,6)		
Terapia hormonal sustitutiva			
• No	189 (93,1)		
• Sí	9 (4,5)		
Ooforectomía			
• No	186 (91,6)		
• Sí	12 (5,9)		

^a DE: desviación estándar

En el momento del diagnóstico de cáncer de mama, el 58,1% de las mujeres estaban en menopausia, siendo la edad media de la misma de 48,93 años (DE 4,44, rango 38-58 años, mediana 50 años). Del total de pacientes, 12 (el 5,9%) tuvieron menopausia artificial al realizárseles a lo largo de su vida la extirpación quirúrgica de los ovarios (ooforectomía). Calculando los años fértiles de las pacientes como la dife-

rencia entre la edad de la menopausia y la edad de la menarquia, las participantes tuvieron una media de años fértiles de 34,33 años (DE 5,19), con un rango de 20,91 a 45,09 años.

El número medio de hijos por mujer fue de 2,81, con un mínimo de 0 y máximo de 11. El 87,2% de las mujeres había tenido algún embarazo y el 26,1% algún aborto. La edad media para el primer hijo vivo fue de 24,82 años (DE 4,22, rango 15-37 años) y la edad media para el último hijo fue de 33,26 años (DE 4,99, rango 22 a 46 años) (ver tabla 6). El 71,4% de las mujeres con hijos dio lactancia materna, con una media acumulada de 22,36 meses (DE 22,56).

Entre las enfermas de cáncer de mama participantes en el estudio, un 29,6% de ellas (60 mujeres) utilizaron anticonceptivos hormonales a lo largo de su vida fértil, siendo la edad media de comienzo de uso los 28,8 años (DE 7,24, rango 16-47 años) y con un tiempo medio de uso de 3,83 años (DE 3,66, rango 0-15 años). Únicamente 9 pacientes (4,4%) estuvieron bajo terapia hormonal sustitutiva, con una edad media de inicio del tratamiento de 47,11 años (DE 4,68, rango 40 a 53 años), y un tiempo medio de uso de 10,56 años (DE 11,39, mediana 6 y rango de 2 a 36 años).

Del total de pacientes con cáncer de mama, el 10,3% (21 mujeres) confirmaron tener antecedentes familiares de primer grado de dicha patología.

La tabla siguiente (tabla 7) muestra las características epidemiológicas de la población de estudio en relación con el hábito tabáquico y de consumo de alcohol.

TABLA 7. CONSUMO DE TABACO Y ALCOHOL	
	n (%)
Hábito de fumar	
• No	150 (73,9)
• Ex fumadoras	15 (7,4)
• Sí	33 (16,3)
Consumo de alcohol	
• No	144 (70,9)
• Ex bebedoras	41 (20,2)
• Sí	13 (6,4)

La edad media de inicio al hábito tabáquico entre las fumadoras (actuales y pasadas) fue de 21,58 años (DE 7,38, rango 14 a 55 años), con una media de años fumando de 13,44 años (DE 9,42, rango 2 a 40 años). Respecto al consumo de alcohol, un alto porcentaje de la población declaró no consumir alcohol (71%) y, entre las consumidoras, la media de consumo de alcohol en gramos/día fue de 8,41 (DE 6,31, rango 1,21 a 32,91 g/día), por debajo de las recomendaciones establecidas por el Código Europeo contra el Cáncer (Boyle et al, 2003).

1.2. Características de la enfermedad

Las 203 mujeres diagnosticadas de cáncer de mama para las que se ha podido realizar el seguimiento, se clasificaron atendiendo a criterios histológicos del tumor. Así, el 74,25% de los tumores correspondieron a carcinomas ductales, incluyendo 3 casos de carcinoma ductal *in situ* (1,48%). El porcentaje de carcinoma lobulillar fue del 6,93% y el 11,40% restante correspondió a otros tipos histológicos (tabla 8). El grado de diferenciación celular más frecuentemente descrito entre las pacientes, establecido de acuerdo a los criterios de Bloom y Richardson (Bloom & Richardson, 1957), fue el grado 3, con el 36% de los casos, seguido del grado 2 con el 32%, y por último del grado 1 con el 7,9% de los casos. Se demostró invasión ganglionar regional en el 43,3% de las pacientes incluidas (88 casos).

La información respecto al estatus de receptores estrogénicos (RE) en los tumores intervenidos, solo fue posible su determinación en 130 (64%) de las piezas, siendo positivos el 22,7% de ellos. También se pudo obtener información sobre los receptores de progesterona (RP) para 129 tumores (63,5%), de los cuales el 31,5% fueron positivos para dicho receptor. La distribución de las pacientes según la positividad o negatividad para ambos receptores se detalla en la tabla 9.

La tabla 10 muestra la distribución de los casos por estadio antes de la cirugía -estadio clínico-, atendiendo a los criterios establecidos por la AJCC (Green et al, 2002). Las pacientes se clasificaron en: estadio I (12,3%, 25 de ellas); estadio II (63,6%, 129); estadio III (9,8%, 20); y estadio IV (2%, 4 de ellas) (figura 12). No se dispone de esta información para 25 pacientes (12,3%).

TABLA 8. CARACTERÍSTICAS DE LA ENFERMEDAD

	n	%
Variedades histológicas		
- Carcinoma In situ	3	1,48
- Carcinoma Infiltrante Ductal		
• Forma clásica	147	72,77
• Comédoco	6	2,97
• Inflamatorio	3	1,48
• Inflamatorio+comédoco	1	0,49
• Medular	2	0,99
• Mucinoso/mucoide	6	2,97
• Papilar	2	0,99
• Epidermoide	1	0,49
• Paget+ductal infiltrante	1	0,49
- Carcinoma Infiltrante Lobulillar		
• Forma clásica	14	6,93
- Ambos (Ductal y Lobulillar)	1	0,49
- No disponible	16	7,43
Grado histológico		
• Grado 1	16	7,90
• Grado 2	65	32,00
• Grado 3	73	36,00
• No disponible	49	24,20

TABLA 9. RECEPTORES HORMONALES (RE^a Y RP^b)

	n (%)
RE+/ RP+	34 (16,7)
RE+/RP-	11 (5,4)
RE-/RP+	30 (14,8)
RE-/ RP-	54 (26,6)

^aRE: receptores de estrógenos^bRP: receptores de progesterona

Las pacientes se volvieron a clasificar tras la cirugía, lo que ha permitido establecer la concordancia entre la clasificación pre- y post-quirúrgica. En el diagnóstico de estadios más precoces (I y IIA) y de estadios avanzados (IIIA y IIIB) la concordancia fue del 71,9% y del 84,3%, respectivamente; mucho mayor que la concordancia obtenida al comparar los estadios clínico y postquirúrgico de estadios intermedios (IIB), que es del 18,3%.

TABLA 10. DISTRIBUCIÓN POR ESTADIO EN CÁNCER DE MAMA

Estadio Clínico	n (%)	Estadio Postquirúrgico	n (%)
I	25 (12,3)	I	32 (15,8)
IIA	98 (48,3)	IIA	63 (31,0)
IIB	31 (15,3)	IIB	50 (24,6)
IIIA	12 (5,9)	IIIA	22 (10,8)
IIIB	8 (3,9)	IIIB	11(5,4)
IIIC	0 (0,0)	IIIC	5 (2,5)
IV	4 (2,0)	IV	2 (1,0)
No disponible	25 (12,3)	No disponible	18 (8,9)

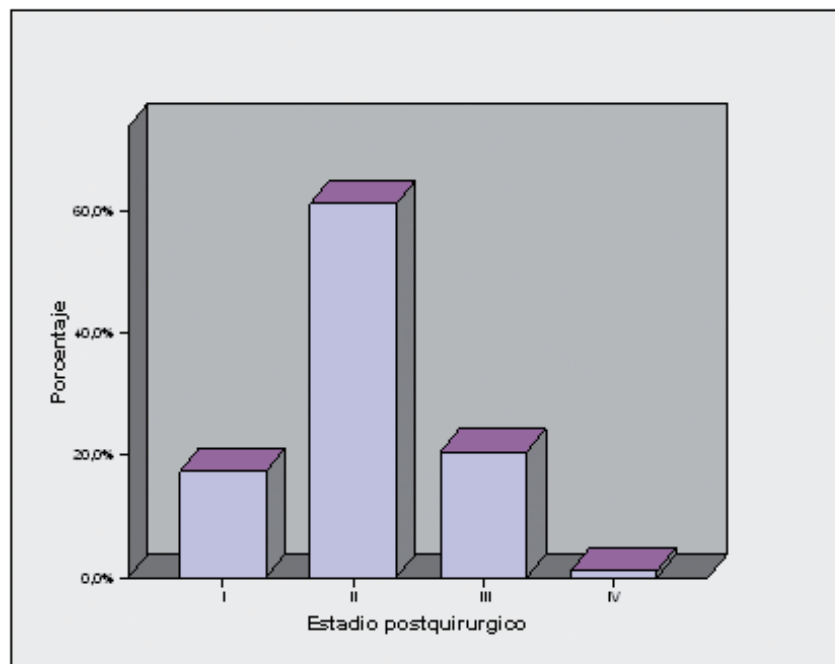


Figura 12. Distribución de los casos por estadio

1.3. Características de la exposición

1.3.1. Concentración de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo

En la tabla 11 se muestran las medidas de tendencia central (mediana, media aritmética -MA- y media geométrica -MG-) y dispersión (desviación estándar -DE-) de los niveles de plaguicidas en tejido adiposo de las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama. Todas las mujeres presentaron concentraciones cuantificables de al menos uno de los 16 plaguicidas analizados. Sin embargo, únicamente se han tenido en cuenta cuatro plaguicidas, de los 16 seleccionados, por detectarse al menos en el 30% de las muestras analizadas, con niveles iguales o superiores al LD (límite de detección): p,p'-DDE, aldrín, endosulfán-éter y lindano. El p,p'-DDE es el plaguicida que más contribuye, en términos de concentración, a la carga de los compuestos plaguicidas organoclorados analizados. La suma de las concentraciones medias aritméticas para estos cuatro plaguicidas fue de 502,3 ng/g de lípido, siendo la contribución del DDE del 93,8%. La contribución del lindano es ligeramente superior al 3% de la carga, mientras que el aldrín se encuentra en torno al 2,5%, y finalmente, el endosulfán-éter supone menos del 0,5%.

TABLA 11. NIVELES DE PLAGUICIDAS^a EN TEJIDO ADIPOSO

Plaguicida ^b	Mediana	MA	MG	DE
• DDE	379,6	471,4	326,9	388,16
• Aldrín	LD ^c	12,69	2,84	30,51
• Endosulfán-éter	0,39	2,10	0,79	8,46
• Lindano	LD	16,09	6,12	45,32

^a MA, media aritmética, MG, media geométrica; DE, desviación estándar

^b ng/g lípido

^c LD, límite de detección

Como se comentó en la introducción de este trabajo de Tesis Doctoral, existen escasos estudios que hayan relacionado la concentración de compuestos organoclorados con determinadas características de la enfermedad que son conocidos factores pronósticos de la misma, como son: estadio, infiltración de ganglios linfáticos regionales, recurrencia de la enfermedad (incluidas las metástasis), la presencia de receptores hormonales en el tumor y el grado de diferenciación celular. Por este motivo, se ha estudiado la relación entre la concentración media de los cuatro plaguicidas con mayor carga en el tejido adipo-

TABLA 12. FACTORES PRONÓSTICOS DE CÁNCER DE MAMA Y NIVELES DE PLAGUICIDAS (MA Y DE)^a EN TEJIDO ADIPOSEO

	DDE	Aldrín	Endosulfán-eter	Lindano
• Estadio tumoral				
- I+II	457,39 (356,54)	12,02 (29,54)	2,73 (10,07)	19,37 (53,29)
- III+IV	461,59 (402,32)	18,60 (39,09)	0,63 (0,65)**	9,14 (14,92)**
• Ganglios				
- Negativos	450,79 (297,82)	10,99 (27,78)	2,38 (8,29)	21,59 (62,46)
- Positivos	464,07 (427,28)	15,76 (35,48)	2,06 (9,43)	11,90 (20,04)
• Recurrencia				
- No	438,95 (324,56)	12,39 (28,45)	2,72 (10,52)	15,34 (33,99)
- Sí	507,29 (435,27)	12,39 (32,97)	1,19 (3,18)	21,45 (68,76)
• Grado celular				
- 1+2	443,12 (347,45)	13,03 (27,93)	3,74 (12,92)	13,82 (36,71)
- 3	487,93 (374,58)	14,29 (37,66)	1,08 (2,86)*	22,45 (63,30)
• Receptores hormonales^c				
- RE(+)/RP(+)	462,51 (278,09)	15,13 (34,06)	1,01 (1,89)	11,77 (17,24)
- RE(-)/RP(+ó-)	483,99 (450,48)	12,98 (36,06)	2,07 (8,85)	11,92 (23,28)

^a MA: Media aritmética y DE: desviación estándar, ng/g lípido grasa

^b pM eqE/g lípido

^c RE, receptores de estrógenos; RP, receptores de progesterona (+ positivos, - negativos)

**Significación estadística (p<0,05) * Significación estadística (p<0,1)

so de las pacientes con cáncer de mama y los factores pronósticos comentados (tabla 12). En general, se observa mayor concentración de plaguicidas en pacientes con tumores en estadios más precoces, siendo estas diferencias estadísticamente significativas entre estadio de la enfermedad con las concentraciones de endosulfán-éter y lindano (p=0,016 y 0,047 respectivamente) y el grado de diferenciación celular y endosulfán-éter (p=0,078).

1.3.2. Carga estrogénica total efectiva: TEXB alfa y beta

La carga estrogénica total efectiva (TEXB - *total effective xenoestrogen burden*) fue medida en el tejido adiposo de 198 (97,54%) de las 203 pacientes (tabla 13). Los valores de TEXB se expresan en pM eqE/g lípido (picomolar de equivalentes de estradiol por gramo de lípido).

TABLA 13. NIVELES DE TEXTB (pM eqE/g LÍPIDO) EN TEJIDO ADIPOSO

TEXTB	Mediana	MA ^a	DE ^b
• TEXTB α	13,41	125,12	323,29
• TEXTB β	20,83	138,70	271,08

^a MA media aritmética
^b DE desviación estándar

TEXTB α : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

TEXTB β : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene compuestos más polares, incluyendo estrógenos endógenos y compuestos de síntesis no organohalogenados, como por ejemplo bisfenol A.

Las mujeres fueron clasificadas en función de los valores de TEXTB, cuantificados tanto para la fracción α (que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica) y la fracción β (que contiene estrógenos endógenos y naturales contenidos en muestras tejido adiposo humano, incluyendo compuestos de síntesis no organohalogenados como por ejemplo bisfenol A) (tabla 14).

TABLA 14. NIVELES DE TEXTB α Y β EN TEJIDO ADIPOSO (CUARTILES)

	n (%)
TEXTB α^a	
• $\leq 0,72$	49 (24,0)
• 0,73-13,42	50 (24,5)
• 13,43-50,20	50 (24,5)
• $> 50,20$	49 (24,0)
TEXTB β^a	
• $\leq 2,69$	49 (24,0)
• 2,70-20,84	50 (24,5)
• 20,85-100	50 (24,5)
• > 100	49 (24,0)

^a pM eqE/g lípido

TEXTB α : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

TEXTB β : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene compuestos más polares, incluyendo estrógenos endógenos y compuestos de síntesis no organohalogenados, como por ejemplo bisfenol A.

Al igual para los niveles de pesticidas organoclorados en relación con los factores pronósticos de enfermedad, en la tabla 15 se muestran las medias para TEXTB para cada uno de los citados factores. No se detectan diferencias estadísticamente significativas, aunque se observa una mayor carga estrogénica (α y β) a estadio tumoral más temprano, no recurrencia de la enfermedad y la ausencia de adenopatías; por el contrario, hay menor carga estrogénica para los grados 1 y 2 de diferenciación celular y receptores hormonales positivos.

TABLA 15. FACTORES PRONÓSTICOS Y TEXB α Y β ^{a,b}

Factor pronósticos	TEXB α (MA y DE)	TEXB β (MA y DE)
• Estadio tumoral		
- I+II	138,32 (354,06)	145,51 (281,05)
- III+IV	99,53 (245,99)	113,66 (227,43)
• Ganglios		
- Negativos	133,34 (285,40)	149,39 (275,10)
- Positivos	123,45 (374,13)	124,99 (263,75)
• Recurrencia		
- No	142,71 (372,83)	151,53 (296,07)
- Sí	101,88 (222,26)	115,77 (224,47)
• Grado celular		
- 1+2	92,48 (209,50)	98,02 (204,73)
- 3	146,57 (316,77)	145,03 (292,33)
• Receptores hormonales^c		
- RE (+)/RP(+)	98,31 (235,85)	110,31 (226,75)
- RE(-)/RP(+ó-)	157,39 (490,67)	144,71 (320,49)

^a MA: Media aritmética y DE: desviación estándar , ng/g lípido grasa

^b pM eqE/g lípido

TEXB α : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

TEXB β : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene compuestos más polares, incluyendo estrógenos endógenos y compuestos de síntesis no organohalogenados, como por ejemplo bisfenol A.

^c Receptores hormonales: RE, receptores de estrógenos; RP, receptores de progesterona (+ positivos, - negativos)

2. SEGUIMIENTO: EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD Y SUPERVIVENCIA DE LAS PACIENTES

2.1. Evolución de la enfermedad y supervivencia de las pacientes

Transcurridos diez años desde el reclutamiento, se ha realizado una revisión de las historias clínicas de las mujeres diagnosticadas de cáncer de mama, y se ha solicitado además información de las mismas tanto en el Registro del Cáncer de Granada (Escuela Andaluza de Salud Pública) como en el Registro Nacional de Defunciones.

El tiempo de seguimiento medio para nuestra serie ha sido de 107,66 meses (DE 41,2), con un rango de 2 a 146 meses, considerando como tal al tiempo transcurrido desde la fecha de la intervención del cáncer de mama hasta la fecha de la última revisión y/o último contacto con la paciente o, en su caso, hasta la fecha de éxitus de las pacientes del estudio. Entre las 197 (97%) pacientes para las que se tenían datos sobre su estado vital al final del seguimiento, se habían producido un total de 67 defunciones (33,17%), con una edad media a la defunción de $60,33 \pm 11,63$; con 37 años la más joven y 82 la de mayor edad. La edad media al diagnóstico de las pacientes que fallecen a lo largo del seguimiento es de 56,44 años (DE 10,59), y de 53,24 años (DE 10,06) las que permanecen vivas.

A lo largo del seguimiento 58 mujeres (28,71%) presentaron algún tipo de recaída. El 9,4% (19) de las pacientes fueron diagnosticadas de recidiva locorregional a lo largo del seguimiento, de las cuales 11 lo hicieron a nivel local (57,9%), 6 (31,58%) en la mama contralateral, y 3 (15,79%) a nivel de piel de la mama afectada. El tiempo medio transcurrido entre el diagnóstico de la enfermedad (fecha de la intervención) y el diagnóstico de la recidiva locorregional fue de 52,84 meses (DE 29,4; rango 11 a 112 meses).

Para 180 pacientes se pudo disponer de información referente a la presencia o no de metástasis a lo largo del tiempo de seguimiento, registrándose para 47 (23,2%) de ellas este diagnóstico. En la tabla siguiente (tabla 16) se especifica la localización de las metástasis. El tiempo medio transcurrido entre el diagnóstico de la enfermedad (fecha de la intervención) y el diagnóstico de la metástasis fue de 53,24 meses (DE 37,28; rango 0 a 123 meses).

TABLA 16. LOCALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE METÁSTASIS

Localización	n (%)
• Pulmonares	5 (10,64)
• Óseas	7 (14,89)
• Hepáticas	5 (10,64)
• Cerebrales	1 (2,13)
• Supraclaviculares	2 (4,25)
• Cuero Cabelludo	1 (2,13)
• Múltiples	17 (36,17)
• Otra localización	9 (19,15)

El análisis de supervivencia en las 186 (91,62%) mujeres para las que se dispuso de información completa al final del seguimiento, mostró una supervivencia global observada (SG) del 83,9% (IC 95% 78,13-89,66) a los 5 años y del 71% (IC 95% 63,25-78,74) a los 10 años (figura 13). El tiempo de supervivencia medio fue de 119,91 meses/9,9años (IC 95% 113,65-126,17 meses).

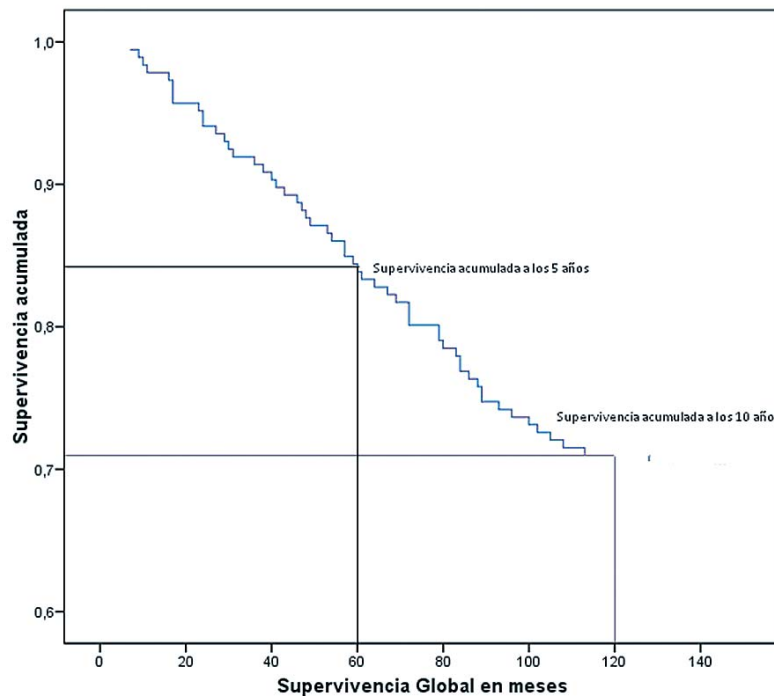


Figura 13. Supervivencia Global Observada

El análisis de supervivencia libre de enfermedad (SLE) pudo realizarse para 174 mujeres (85,71%) de las que se disponía de esta información. La supervivencia libre de enfermedad (incluyendo recidiva y/o metástasis) de la serie al final del seguimiento fue del 81% (IC 95% 74,52-87,47) a los 5 años y del 71% (IC 95% 63,33-79,26) a los 10 años (figura 14). El tiempo de supervivencia libre de enfermedad medio fue de 118,75 meses/9,89 años (IC 95% 111,86-125,65 meses).

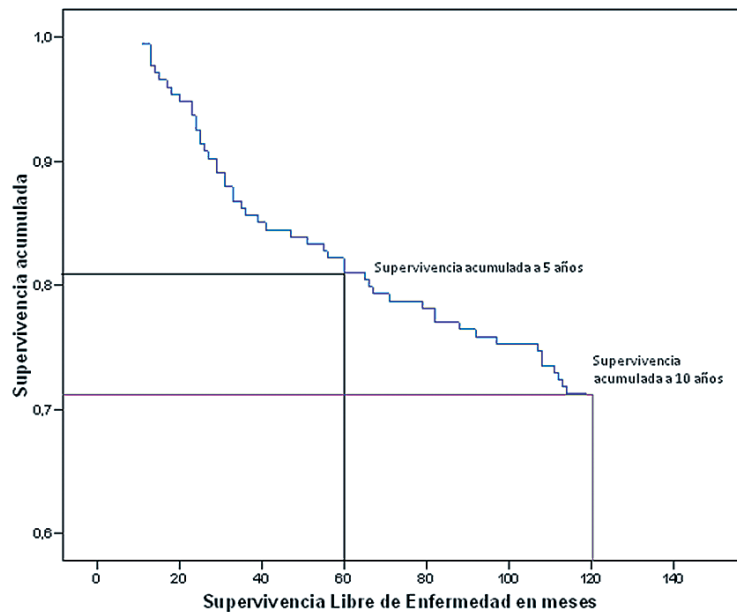


Figura 14.
Supervivencia
Libre de Enfermedad

2.2. Años potenciales de vida perdidos

Los años potenciales de vida perdidos (APVP) por una causa determinada es un indicador de salud que cuantifica la mortalidad prematura debido a un problema de salud concreto, es decir, en nuestro trabajo, cuántos años de la vida pierden las pacientes diagnosticadas por cáncer de mama cuando se produce su deceso.

En la tabla 17 se muestran los años potenciales de vida perdidos por cáncer de mama en nuestra población de estudio. Los APVP para nuestra serie fueron 790.

El cálculo de la tasa bruta de APVP se realiza según la siguiente fórmula (del Valle et al, 1993):

$$[\text{total APVP}/\text{total población}] \times 100.000$$

Si establecemos el año 2003 como valor de la mediana entre las fechas de reclutamiento (1196-1998) y del final del seguimiento (2008), la población femenina total en las provincias de Granada y Almería para ese año, en el rango de edad de nuestra población de estudio (34-76 años), recogida por el Institu-

to Nacional de Estadística, fue de 317.747 mujeres. Por tanto, la tasa bruta de APVP por cáncer de mama en nuestra serie sería $790/317.747 \times 100.000 = 248,6 \times 105$.

TABLA 17. AÑOS POTENCIALES DE VIDA PERDIDOS (APVP) POR CÁNCER DE MAMA

Grupos de edad	Marca de clase ^a	APVP por fallecido ^b	Nº defunciones por cáncer de mama ^c	APVP ^d
34-43	39	31	10	310
44-53	49	21	15	315
54-63	59	11	15	165
64-76	70	0	18	0
Total APVP = 790				

Planeamiento y procedimiento del cálculo:

^a Marca de clase: mediana de edad del intervalo

^b APVP por fallecido: límite superior para el cálculo de APVP = 70 años (Burnet et al, 2005)-marca de clase por cada grupo de edad.

^c Número de defunciones en cada grupo de edad.

^d APVP: defunciones x APVP por fallecido

2.3. Supervivencia relativa

Se ha estimado la supervivencia relativa (figura 15) y sus intervalos de confianza al 95% (IC95%) a 5 y 10 años del diagnóstico.

- Supervivencia relativa a los 5 años: 86.8% (82.4 – 91.4)

- Supervivencia relativa a los 10 años: 73.3% (68.3 – 78.7)

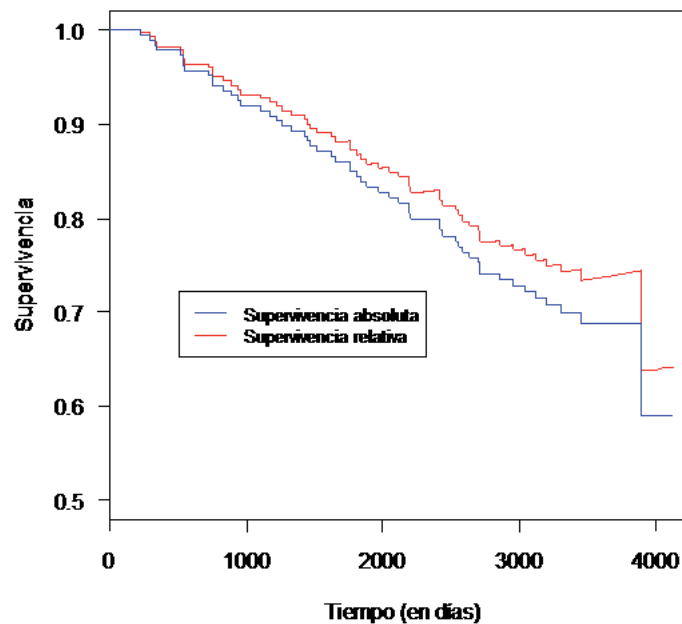


Figura 15. Tiempo de supervivencia (Granada y Almería) para cáncer de mama 1996-2008

3. FACTORES PRONÓSTICOS EN CÁNCER DE MAMA

3.1. Factores pronósticos de supervivencia global (SG)

3.1.1. Variables epidemiológicas

i. Hospital de reclutamiento

En la población de estudio, se ha investigado el tiempo medio de supervivencia y la supervivencia a 5 y 10 años de las pacientes diagnosticadas por cáncer de mama teniendo en cuenta el hospital de referencia. En el análisis crudo, se observa una mayor supervivencia entre las pacientes pertenecientes al área sanitaria del H.U. San Cecilio de Granada, diferencias que resultaron estadísticamente significativas (tabla 18).

TABLA 18. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) POR HOSPITALES

	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG a 5 años (%)	SG a 10 años (%)	Valor p
HUSC	134,794 (124,932-144,657)	94,1	88,2	
CHT	121,202 (107,361-135,043)	86,7	76,7	0,035**
HUVN	114,484 (106,262-122,705)	80,3	68,4	

** Significación estadística ($p \leq 0,05$)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%
HUSC: Hospital Universitario San Cecilio (Granada)
HUVN: Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada)
CHT: Complejo Hospitalario Torrecárdenas (Almería)

Las diferencias en supervivencia encontradas según el hospital de referencia, se mantuvieron cuando se analizó el número de éxitos, por cada hospital, al final del seguimiento (figura 16).

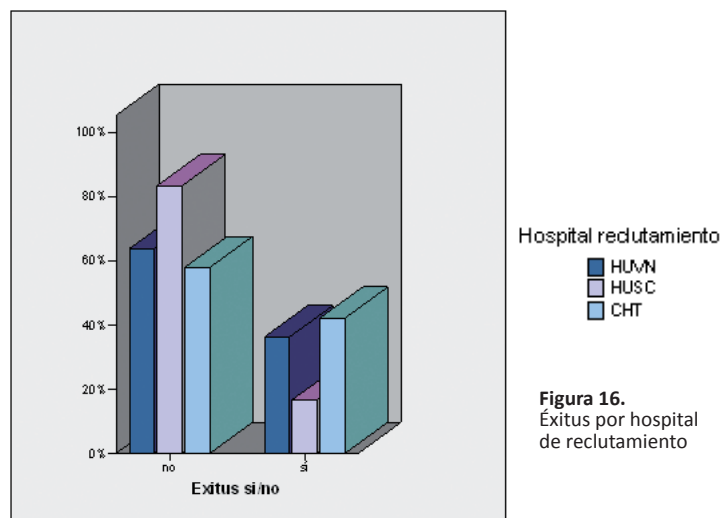


Figura 16.
Éxitos por hospital de reclutamiento

Con el objeto de caracterizar los casos de cáncer de mama en función del hospital de referencia, se ha analizado su distribución para las variables que, según la bibliografía, más peso tienen en el pronóstico de la enfermedad, como son la edad y el estadio al diagnóstico.

La distribución de la edad no difiere de forma estadísticamente significativa entre los tres hospitales; sí se observan diferencias significativas en el estadio al diagnóstico agrupado por hospital ($p=0,002$). Las figuras 17 y 18 representan la distribución de las pacientes por hospital según la edad y el estadio, respectivamente.

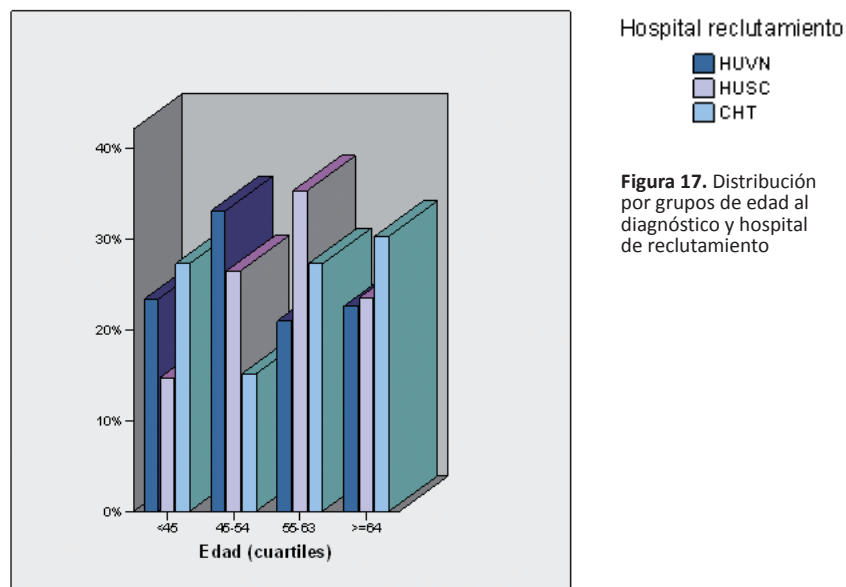


Figura 17. Distribución por grupos de edad al diagnóstico y hospital de reclutamiento

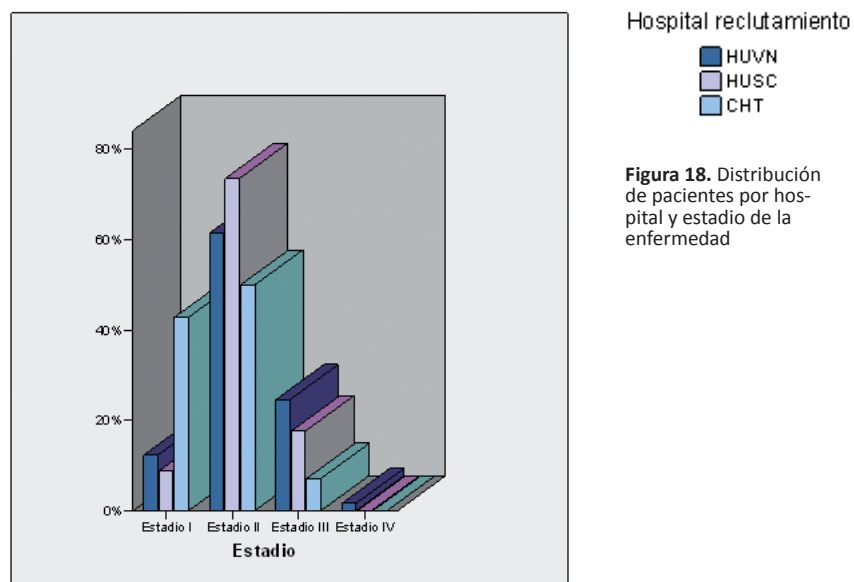


Figura 18. Distribución de pacientes por hospital y estadio de la enfermedad

En la **tabla 19** se muestra el RR (riesgo relativo) al incluir en el análisis las variables edad, estadio y hospital de reclutamiento.

TABLA 19. SUPERVIVENCIA GLOBAL - EDAD, ESTADIO Y HOSPITAL DE RECLUTAMIENTO. ANÁLISIS DE REGRESIÓN DE COX			
Variable	RR^a	IC 95%^b	Valor p
Edad	1,03	1,00-1,06	0,048**
Hospital			
• HUVN	1		
• HUSC	0,31	0,11-0,86	0,024**
• CHT	0,80	0,34-1,87	0,612
Estadio			
• I	1		
• II	0,99	0,41-2,38	0,986
• III	2,95	1,18-7,36	0,020**
• IV	24,93	4,69-132,39	<0,001**

** Significación estadística ($p \leq 0,05$)

^a RR: riesgo relativo

^b IC 95%: intervalo de confianza al 95%

HUVN: Hospital Virgen de las Nieves (Granada)

HUSC: Hospital Universitario San Cecilio (Granada)

CHT: Complejo Hospitalario Torrecárdenas (Almería)

ii. Edad

Como se comentó en la introducción de este trabajo de Tesis Doctoral, la edad es considerada como factor pronóstico independiente de supervivencia en el cáncer de mama.

Al estudiar la influencia de la edad sobre el pronóstico de la enfermedad en nuestra serie de pacientes, no se han observado diferencias estadísticamente significativas al estudiar la variable en continuo o a los 5 y 10 años. Si agrupamos a las pacientes por cuartiles de edad, se observa una menor SG en el grupo de mujeres con edad igual o superior a los 64 años, respecto al grupo de 45 o menos años ($p=0,046$). No se han observado diferencias si se compara la SG de las mujeres <45 años con los otros dos cuartiles. Si se clasifica a las pacientes en menores o mayores de 50 años al diagnóstico de la enfermedad, por ser la edad aproximada de la menopausia y la mediana de edad de menopausia de nuestra serie, también se observa una mayor supervivencia de las primeras ($p=0,039$) (tabla 20).

TABLA 20. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y EDAD AL DIAGNOSTICO

Edad (años)	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Cuartiles				
• < 45	123,62 (111,94-135,29)	90,5	76,2	0,587
• 45-54	118,40 (105,62-131,19)	80,0	74,5	
• 55-63	119,15 (107,59-130,71)	83,0	70,2	
• ≥ 64	114,67 (101,94-127,39)	83,3	61,9	
Mediana				
• ≤ 50	123 (113,11-132,89)	83,3	79,2	0,039**
• > 50	112,34 (103,88-120,80)	80,2	63,8	

** Significación estadística (p≤0,05)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

También se ha estudiado la influencia que puede tener la edad en cuanto a determinar unas características específicas de la enfermedad. No se ha observado relación con el subtipo o grado histológicos, pero sí parece determinar un mayor riesgo de presentar al diagnóstico un estadio más avanzado (estadio III) el grupo de edad de 45 a 54 años ($p=0,044$) en comparación con el grupo de ≤44 años (tabla 21). Globalmente, tener mayor edad en el momento del diagnóstico de la enfermedad, determina que ésta se presente en un estadio más avanzado ($p= 0,016$).

TABLA 21. DISTRIBUCIÓN DE ESTADIOS POR GRUPOS DE EDAD

	≤ 44 años	45 a 54 años	55 a 64 años	≥ 65 años
• I	9 (28,1%)	6 (18,8%)	13 (40,6%)	4 (12,5%)
• II	29 (25,7%)	29 (25,7%)	30 (26,5%)	25 (22,1%)
• III	3 (7,9%)**	17 (44,7%)**	9 (23,7%)	9 (23,7%)

** Significación estadística (p≤0,05)

Por otro lado, cada año que aumenta la edad de la paciente al diagnóstico, el riesgo de morir aumenta en 1,019, pero no es estadísticamente significativo ($p= 0,147$).

iii. IMC

Al realizar un análisis de regresión de Cox entre IMC y tiempo de supervivencia, no se observa relación estadísticamente significativa entre ambas variables ($p=0,888$). Si, en lugar de evaluar IMC como variable continua, agrupamos a las pacientes en cuartiles de acuerdo a su IMC (tabla 22) o con la mediana (26,92 kg/m²), tampoco se encuentra relación estadísticamente significativa con un mayor tiempo de supervivencia ($p=0,217$).

TABLA 22. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) E IMC				
IMC	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Cuartiles				
• ≤ 24,24	111,2 (97,63-124,77)	77,8	66,7	0,527
• 24,25-26,92	114 (99,78-128,21)	79,1	67,1	
• 26,93-31,18	131,38 (127,68-140,08)	95,6	80,0	
• > 31,18	117,34 (104,98-129,70)	84,1	70,5	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

iv. Variables sociodemográficas

Ruralidad

En el estudio previo de casos y controles sobre el que se basa este trabajo de Tesis Doctoral, se observó que a mayor tiempo de vida en un medio rural (% de ruralidad), se observaba una reducción del riesgo de cáncer de mama. Quisimos conocer si esta característica estaba también relacionada con el pronóstico de la enfermedad. Sin embargo, parece que el lugar de residencia no determina ninguna modificación en el riesgo (tabla 23).

La mediana de supervivencia para el intervalo de ruralidad 0-28,24 fue de 113 meses, es decir, las mujeres que han vivido entre un 0 y un 28,24% de su vida en un ámbito rural, la mitad sobreviven menos de 113 meses (9,4 años).

TABLA 23. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y TIEMPO DE RESIDENCIA EN MEDIO RURAL

% Tiempo en medio rural	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• 0	121,68 (112,52-130,84)	87,2	71,8	0,309
• 0-28,24	97,42 (67,67-127,162)	66,7	50,0	
• 28,25-93,84	122,60 (110,96-134,24)	84,4	75,6	
• >93,84	114 (112,99-125,83)	80,0	68,9	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Estado civil

El estado civil condicionaba, en el estudio previo de casos y controles, una modificación en el riesgo de cáncer de mama; así, estar casada o ser viuda o separada protegía del cáncer de mama frente a las solteras. Sin embargo, el análisis realizado indica que el estado civil no parece determinar mayor supervivencia una vez desarrollada la enfermedad ($p= 0,794$) (tabla 24).

TABLA 24. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y ESTADO CIVIL

Estado civil	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• Soltera	116 (89,93-142,07)	78,6	71,4	0,794
• Casada	119,88 (112,82-126,94)	84,4	71,6	
• Viuda/separada	111,48 (94,96-128)	80,0	64,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Escolaridad

El nivel de estudios también se ha considerado en este trabajo de Tesis Doctoral por estar relacionado de manera directa con la clase social de los individuos, condición asociada en la bibliografía con una exposición diferencial a compuestos orgánicos persistentes, como los evaluados en este trabajo, que pueden estar relacionados tanto con el riesgo como con el pronóstico de la enfermedad.

Para conocer el efecto del nivel educativo en la supervivencia global de las pacientes, se han establecido tres categorías de estudios: Nivel bajo, que incluye a las mujeres que no saben leer ni escribir o que tienen estudios primarios; Nivel medio para las mujeres con el 2º grado completo; y Nivel alto para aquellas con estudios universitarios. Tener nivel educativo medio y alto se asocia a una mayor supervivencia

global respecto a aquellas con bajo nivel educativo, pero esta diferencia no ha resultado estadísticamente significativa (tabla 25).

Nivel educativo	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• Bajo	118,04 (110,84-125,24)	82,7	67,6	0,672
• Medio	121,0 (101,75-140,24)	85,7	81,0	
• Alto	122,30 (102,99-141,71)	85,0	80,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Al agrupar los niveles educativos medio y alto, en comparación con un nivel bajo, también se observan diferencias, aunque no estadísticamente significativas, en cuanto a SG. Sobreviven a los 10 años el 67,6% de las pacientes con un nivel de escolaridad bajo, en comparación con el 80,5% de supervivencia a 10 años del grupo medio/alto ($p=0,151$).

Ocupación

En el estudio de casos y controles, tomando como referencia las mujeres cuya actividad era la de amas de casa, las mujeres con actividad laboral remunerada mostraron un mayor riesgo de cáncer de mama (OR 2, IC 95% 1,27-3,16). Sin embargo, la ocupación de las pacientes en el momento del diagnóstico no determina cambios en el pronóstico de la enfermedad en cuanto a supervivencia global, aunque las mujeres trabajadoras tienen una supervivencia global ligeramente superior (tabla 26).

Ocupación	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• Trabajadora	120,47 (108,88-132,05)	82,8	75,9	0,723
• Desempleada/parada	118,10 (90,95-145,25)	80,0	80,0	
• Pensionista/jubilada	114,19 (101,11-127,27)	87,5	62,5	
• Ama de casa	118,14 (108,39-127,89)	82,3	68,4	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Agricultura

Ocupaciones específicas, como haber trabajado en la agricultura, puede suponer una mayor exposición a contaminantes ambientales relacionados con un mayor riesgo de cáncer de mama. Cuando estudiamos la relación existente entre la dedicación o no a trabajo agrícola y la supervivencia global para cáncer de mama en nuestra población de estudio, no se observa ninguna relación con supervivencia global (tabla 27).

TABLA 27. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y TRABAJO EN AGRICULTURA

Trabajo en agricultura	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• No	119,54 (110,90-128,18)	84,0	71,0	0,999
• Sí	118,54 (109,03-128,04)	82,5	70,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

v. Historia reproductiva y ginecológica

Número de hijos

Una forma de detoxificación documentada a contaminantes ambientales bioacumulados a lo largo de la vida (carga xenobiótica), es la transferencia materna al hijo durante el embarazo a través de la placenta o en los primeros meses a través de la leche materna. Por esta razón, tradicionalmente se ha considerado el número de embarazos como variable determinante de dicha carga. En el estudio previo de casos y controles, un mayor número de hijos era un factor protector de cáncer de mama.

Las mujeres con cáncer de mama que no habían tenido hijos, presentan una supervivencia global a los 5 y 10 años del 84,2% y 73,7% respectivamente, mientras que las mujeres con hijos, independientemente del número, el 83,2% sobreviven a los 5 años y el 70,2% a los 10, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas. Si tenemos en cuenta únicamente a las mujeres con hijos (161 del total), no se observan diferencias al comparar la supervivencia en aquellas que tuvieron más de 3 hijos con las que tuvieron 3 o menos (mediana) (tabla 28).

TABLA 28. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y NÚMERO DE HIJOS

Hijos	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• No	120,42 (99,99-140,85)	84,2	73,7	0,760
• Sí	118,60 (111,9-125,29)	83,2	70,2	
Mediana hijos				
• ≤3	116,36 (108,03-124,7)	80,5	69,0	0,473
• >3	121,67 (111,22-132,11)	89,6	72,9	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Edad al primer hijo

Uno de los factores de riesgo conocidos en cáncer de mama, como anteriormente se ha comentado, es tener el primer hijo a edades más tardías. En este trabajo de Tesis Doctoral quisimos saber si esta característica se relacionaba también con la evolución de la enfermedad.

Como se observa en la tabla 29, tanto al agrupar a las mujeres con hijos según el valor de la mediana, como al clasificar la edad al 1º hijo en cuartiles, no se detectan diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia global, aunque el porcentaje de supervivientes a los 10 años del seguimiento en aquellas mujeres que tuvieron el primer hijo por encima de los 29 años es bastante menor. Sin embargo, al establecer el punto de corte a los 29 años, tampoco se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p=0,117$).

TABLA 29. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y EDAD AL PRIMER HIJO

Edad 1º hijo (años)	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Mediana				
• ≤ 26	105,19 (97,2-113,18)	78,4	66,7	0,808
• > 26	112,27 (100,48-124,07)	78,0	64,4	
Cuartiles				
• ≤ 22	124 (114,22-133,78)	89,8	75,5	0,377
• 23-26	114,04 (101,67-126,42)	81,1	71,7	
• 27-29	115,95 (100,87-131,03)	76,3	71,1	
• > 29	110,81 (94,86-126,76)	85,7	52,4	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Lactancia

La lactancia materna también se ha considerado como una vía de detoxificación y un factor protector frente al riesgo de cáncer de mama. Al evaluar el impacto de la lactancia (considerando el tiempo total acumulado en meses) sobre la supervivencia global en cáncer de mama, no se han observado diferencias significativas cuando se comparan las mujeres que dieron lactancia materna con las que no. Si se consideran solamente aquellas que amamantaron a sus hijos, al comparar las que tenían un mayor tiempo acumulado con las de menor tiempo acumulado, aunque parece observarse una mayor supervivencia entre las primeras, las diferencias no son estadísticamente significativas (tabla 30).

TABLA 30. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y LACTANCIA MATERNA				
Lactancia materna	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• No	115,93 (103,08- 28,78)	78,3	67,4	0,426
• Si	119,89 (112,56- 127,23)	85,1	71,6	
Valor mediana				
• ≤15 meses	117,07 (106,35-127,79)	82,9	70,0	0,588
• >15 meses	121,52 (111,86-131,17)	87,5	73,4	
Tiempo en terciles				
• < 8 meses	113,68 (98,57-128,79)	80,5	68,3	0,504
• 8-24 meses	117,73 (106,40-129,06)	84,6	69,2	
• >24 meses	124,76 (114,04-135,47)	90,2	78,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Menarquia

La presentación temprana de la menarquia parece asociarse a un mayor riesgo de cáncer de mama, ya que supone un mayor tiempo de exposición a estrógenos endógenos. Sin embargo, en nuestra serie, tener más precozmente la primera menstruación parece tener un papel protector en cuanto al pronóstico de la enfermedad, de manera estadísticamente significativa ($p=0,041$) (tabla 31).

TABLA 31. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y EDAD DE LA MENARQUIA

Menarquia (años)	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Mediana				
• <13	121,27 (111,56-130,99)	83,3	74,4	0,467
• ≥13	117,32 (108,86-125,79)	83,3	67,6	
4º cuartil				
• < 14	122,67 (115,12-130,22)	84,7	75,8	0,041**
• ≥ 14	111,67 (99,83-123,39)	80,4	58,9	

** Significación estadística ($p \leq 0,05$)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Por otro lado, se ha estudiado el tiempo transcurrido entre la edad de la menarquia y la menopausia, es decir, los años fértiles de la mujer o el tiempo de exposición a estrógenos endógenos, considerado como factor de riesgo de cáncer de mama, en relación con la supervivencia una vez diagnosticada la enfermedad. En nuestra población de estudio, si recordamos, la media de años fértiles fue de 34,33 años (DE 5,19; rango 20,91-45,09 años). No se ha observado ninguna relación entre el periodo fértil y una mayor o menor supervivencia global ($p=0,593$), al igual que tampoco se ha encontrado asociación al agrupar dicho periodo en dos grupos divididos por la mediana de años fértiles (35 años), con un valor $p=0,489$.

Menopausia (incluyendo ooforectomía)

Al igual que la menarquia, se considera como factor de riesgo de cáncer de mama tener la menopausia a una edad tardía, debido a que se amplía el tiempo de exposición a estrógenos endógenos.

En nuestra población de estudio, el diagnóstico de cáncer de mama una vez instaurada la menopausia, determina menor tiempo de supervivencia de manera estadísticamente significativa ($p=0,039$) (tabla 32). Sin embargo, al tener en cuenta únicamente a las mujeres con la menopausia instaurada, al realizar el análisis de regresión de Cox, no se observan diferencias estadísticamente significativas. También se ha observado que la extirpación quirúrgica de los ovarios puede jugar un papel protector para el desarrollo de cáncer de mama, sobre todo los de tipo hereditario. En nuestra serie no se ha podido establecer ningún tipo de relación en este subgrupo particular en términos de supervivencia global, aunque el número de mujeres con esta característica fue muy reducido.

TABLA 32. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y MENOPAUSIA

Menopausia	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• Sí	114,33 (105,61-123,05)	79,0	63,8	0,039**
• No	124,95 (115,95-133,95)	89,3	80,0	
Ooforectomía				
• No	119,08 (112,46-125,71)	83,6	70,2	0,623
• Sí	122,44 (98,49-146,39)	77,8	77,8	

** Significación estadística (p≤0,05)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Tratamientos hormonales: anticonceptivos hormonales (ACH) y terapia hormonal sustitutiva (THS)

Tanto la utilización de anticonceptivos hormonales como de terapia hormonal sustitutiva, aunque son considerados factores de riesgo de enfermedad, no parecen tener relación con la supervivencia global en nuestro estudio (tabla 33).

TABLA 33. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y TRATAMIENTOS HORMONALES

Tratamientos hormonales	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
ACH				
• No	118,17 (110,09-126,26)	80,8	71,2	0,992
• Sí	119,49(109,77-129,21)	89,1	69,1	
THS				
• No	118,44 (111,91-124,97)	83,0	70,2	0,640
• Sí	124,67 (96,57-152,77)	88,9	77,8	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Recordamos que el 29,6% de las mujeres refirieron haber utilizado anticoncepción hormonal a lo largo de su vida y únicamente el 4,5% terapia hormonal sustitutiva. Si consideramos el tiempo de uso o la edad de inicio de ambos tratamientos hormonales, tampoco se ha observado relación con supervivencia global.

Antecedentes familiares de cáncer de mama

En nuestra serie, tener antecedentes familiares de primer grado de cáncer de mama, lo que ocurre en el 10% de las pacientes del estudio, no determina mayor o menor supervivencia de forma estadísticamente significativa (tabla 34).

TABLA 34. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y ANTECEDENTES FAMILIARES DE CÁNCER DE MAMA				
Antecedentes familiares	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• No	111 (103,74-118,26)	77,3	64,5	0,385
• Sí	120 (99,84-140,16)	80,0	75,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

vi. Estilo de vida: consumo de tabaco y alcohol

El consumo de tabaco y alcohol está relacionado con un mayor riesgo de cáncer de mama. En el estudio caso-control en el que se basa este trabajo de Tesis Doctoral, las fumadoras y bebedoras activas tenían un mayor riesgo de cáncer de mama (OR 2,23, IC 95% 1,24-4,14; OR 1,99, IC 95% 1,16-3,43, respectivamente). Al estudiar la asociación de estas variables con el pronóstico de la enfermedad, no se ha observado relación entre el hábito tabáquico y el consumo de alcohol con el tiempo de supervivencia global de la serie (tabla 35). Si tenemos en cuenta únicamente a las fumadoras, el tiempo del hábito tampoco se ha visto que influya en la supervivencia global ($p=0,529$).

TABLA 35. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y ESTILO DE VIDA				
Estilo de vida	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Tabaco				
• No	119,93 (112,99-126,87)	83,9	70,5	0,991
• Sí	114,09 (98,09-130,103)	80,6	71,0	
Alcohol				
• No	117,53 (110,94-124,12)	82,6	70,1	0,584
• Sí	125,85 (104,81-146,88)	92,3	76,9	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

3.1.2. Características de la enfermedad

i. Características tumorales

Estadio tumoral

Dos de los mayores determinantes de supervivencia en cáncer de mama son el tamaño tumoral y el estadio, que incluye tamaño tumoral, adenopatías y metástasis. En la **tabla 36** se muestran los tiempos de supervivencia media para los estadios I, II, III y IV.

El 50% de las pacientes en estadio postquirúrgico III tienen una supervivencia de 7 años o menos (media de supervivencia). Al comparar la supervivencia global entre los diferentes estadios, se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

TABLA 36. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y ESTADIO POSTQUIRÚRGICO				
Estadio postquirúrgico	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• I	127,60 (116,49-138,70)	93,3	76,7	<0,001**
• II	127,56 (120,77-134,34)	88,5	77,9	
• III	93,12 (75,14-111,10)	63,9	50,0	
• IV	26,50 (0,00-64,72)	0,0	0,0	

** Significación estadística ($p \leq 0,05$); IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Al estudiar aisladamente el tamaño tumoral, considerando T1 a aquellos tumores de tamaño menor o igual a 20 mm, T2 entre 20 y 50 mm, T3 los mayores de 50 mm y T4 aquellos tumores de cualquier tamaño con extensión a pared pectoral y/o a piel, o los subtipos carcinomas inflamatorios (AJCC, 2010), se observan diferencias estadísticamente significativas para supervivencia global (**tabla 37**).

TABLA 37. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y TAMAÑO TUMORAL (T)				
Tamaño	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• T1	130,05 (121,23-138,86)	95,2	81,0	0,002**
• T2	119,46 (111,07-127,85)	82,7	70,2	
• T3	116,74 (99,09-134,38)	78,3	73,9	
• T4	77,58 (47,58-107,59)	58,3	33,3	

** Significación estadística ($p \leq 0,05$); IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Tipo histológico

El tipo histológico de presentación más habitual en cáncer de mama es el carcinoma ductal infiltrante (CDI), bastante menos frecuente es el carcinoma lobulillar infiltrante (CLI), lo que ocurre también en nuestra población de estudio. El reducido número de casos con CLI podría explicar que no se hayan encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo de supervivencia global en función de la variedad histológica del tumor, aunque las pacientes con carcinoma ductal infiltrante tienen un tiempo de supervivencia a los 10 años algo mayor (tabla 38).

TABLA 38. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y TIPO HISTOLÓGICO				
Tipo histológico	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• CDI	117,6 (110,72-124,48)	81,8	71,5	0,531
• CLI	98,53 (98,53-141,47)	83,3	83,3	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Grado histológico

Al comparar aisladamente los grados de diferenciación celular 1, 2 y 3 con el tiempo de supervivencia, se han encontrado diferencias significativas entre los grados 1 y 2 en comparación con el grado 3, tanto en supervivencia a los 5 como a los 10 años ($p=0,004$). Agrupando los grados 1 y 2, y comparándolos con el grupo con grado 3, el tiempo de supervivencia medio aumenta significativamente para el primer grupo ($p<0,001$) (tabla 39).

TABLA 39. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y GRADO HISTOLÓGICO				
Grado histológico	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• 1+2	130,37 (123,20-137,54)	91,4	84,0	<0,001**
• >2	95,18 (82,81-107,54)	64,4	50,7	

** Significación estadística ($p\leq 0,05$)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Ganglios linfáticos regionales

En la **tabla 40** se refleja la variación en el tiempo de supervivencia medio si, cuando se diagnostica el cáncer de mama, el tumor infiltra los ganglios linfáticos regionales. Se observa que, de forma significativa, tener los ganglios axilares afectados es un factor de mal pronóstico en cuanto a supervivencia global.

TABLA 40. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES				
Ganglios linfáticos	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• Negativos	130,72 (124,49-136,94)	91,9	82,8	<0,001**
• Positivos	106,43 (95,74-117,12)	74,1	58,8	

** Significación estadística ($p \leq 0,05$)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Receptores hormonales

La expresión de receptores hormonales (tanto de estrógenos -RE- como de progesterona -RP-) se asocia con tumores mejor diferenciados, y por tanto, de mejor pronóstico y que responden a terapia hormonal con antagonistas. En la **tabla 41** se muestran los tiempos de supervivencia medios para pacientes clasificadas de acuerdo a las cuatro categorías de receptores establecidas. Se observa mayor supervivencia en aquellas pacientes con RE positivos o RE y/o RP positivos, pero la diferencia no es estadísticamente significativa. El 50% de las pacientes con ambos receptores negativos sobreviven 60 meses o menos (mediana de supervivencia) tras el diagnóstico.

Si comparamos individualmente la supervivencia de las pacientes con fenotipo tumoral RE positivos respecto a las que no expresan en el tumor estos receptores, al igual que con RP, se observa menor supervivencia a los 10 años para el grupo fenotipo receptor negativo, pero estas diferencias no son estadísticamente significativas. Sí se observan mayores diferencias si se compara la supervivencia de aquellas pacientes con tumores que expresan alguno o ambos receptores hormonales frente al grupo de pacientes con ambos receptores negativos ($p=0,061$).

TABLA 41. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y RECEPTORES HORMONALES

Receptores hormonales	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
RE ^{a+} y RP ^{b+}	122,63 (110,21-135,05)	84,4	68,8	0,251
RE+ y RP-	112,37 (87,56-137,16)	81,8	81,8	
RE- y RP+	105,99 (91,54-120,46)	76,6	66,7	
RE- y RP-	101,89 (87,86-115,92)	69,8	54,7	
RE				
• Positivos	122,51 (110,89-134,12)	88,4	72,1	0,120
• Negativos	106,26 (95,47-117,06)	73,5	59,9	
RP				
• Positivos	118,45 (108,23-128,68)	85,5	67,7	0,244
• Negativos	105,37 (92,69-118,06)	71,9	59,6	
• Alguno positivo	119,02 (109,38-128,64)	84,9	69,9	0,061*
• RE- y RP-	101,89 (87,86-115,92)	69,8	54,7	

^a RE: Receptores de estrógeno

^b RP: Receptores de progesterona

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

* Significación estadística (p≤0,1)

La relación entre tumores bien diferenciados y la expresión de receptores hormonales se podría asociar a una mayor exposición a estrógenos y gestágenos, lo que imprimiría un ambiente hormonal. Por este motivo, se ha estudiado la relación entre TEXB α con la expresión de receptores hormonales. Al comparar la distribución de RE, de RP o de ambos receptores y establecer grupos clasificados en función del límite de detección (LD) para TEXB α (0,1 pM eqE/g lípido), no se aprecian diferencias estadísticamente significativas (p=0,800) (tabla 42). Tampoco se observa relación con la fracción beta -TEXB β - y la expresión de receptores hormonales (p=0,381).

Por otro lado, se ha querido conocer qué efecto tienen ambas variables, TEXB α y los receptores hormonales, en la supervivencia global de nuestra población de estudio. En la tabla 43 se detallan los resultados. Se observa que tener un TEXB α por encima del LD actúa como factor protector para supervivencia global, mientras que tener ambos receptores negativos supone un factor de mal pronóstico.

TABLA 42. TEXB α Y β (LD) Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES

	TEXB α ^a		TEXB β ^b	
	< 0,1 (%)	≥ 0,1 (%)	< 0,1 (%)	≥ 0,1 (%)
RE ^{c+} y RP ^{d+}	26,5	73,5	17,6	82,4
RE+ y RP-	18,2	81,8	27,3	72,7
RE- y RP+	16,7	83,3	10,0	90,0
RE- y RP-	20,8	79,2	24,5	75,5

^a pM eqE/g lípido. TEXB α -Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

^b pM eqE/g lípido. TEXB β -Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene estrógenos endógenos y naturales contenidos en muestras tejido adiposo humano, incluyendo compuestos de síntesis no organohalogenados como por ejemplo bisfenol A.

LD: límite de detección

^c RE: Receptores de estrógeno; ^d RP: Receptores de progesterona

TABLA 43. SUPERVIVENCIA GLOBAL Y TEXB α (LD) AJUSTADO POR RECEPTORES HORMONALES

	RR ^a	Valor p	IC 95% ^b
TEXB α (LD)^c			
• <0,1	1		
• ≥0,1	0,420	0,006**	0,255-0,784
Receptores hormonales			
• RE ^{d+} y RP ^{e+}	1		
• RE+ y RP-	0,622	0,540	0,136-2,841
• RE- y RP+	1,327	0,531	0,547-3,219
• RE- y RP-	1,904	0,089*	0,907-3,998

n=125, p=0,017**

^a RR: riesgo relativo; ^b IC 95%: intervalo de confianza al 95%

^c LD: límite de detección. TEXB α -Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

^d RE: Receptores de estrógeno; ^e RP: Receptores de progesterona

* Significación estadística (p≤0,1); ** Significación estadística (p≤0,05)

Cuando realizamos el mismo estudio con TEXB β , receptores hormonales y supervivencia global, no se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los riesgos para cada grupo de comparación. Sin embargo, si agrupamos el fenotipo receptor en sólo dos categorías, ambos receptores negativos frente al resto, sí observamos diferencias (tabla 44), con un mayor riesgo de menor tiempo de supervivencia para aquellas pacientes con fenotipo negativo y con TEXB β por debajo del LD.

TABLA 44. SUPERVIVENCIA GLOBAL Y TEXTB β (LD)
AJUSTADO POR RECEPTORES HORMONALES

	RR ^a	Valor p	IC 95% ^b
TEXTB β (LD)^c			
• <0,1	1		
• $\geq 0,1$	0,606	0,140	0,312-1,178
Receptores hormonales			
• Alguno positivo	1		
• RE- y RP-	1,668	0,086*	0,930-2,992

n=125, p=0,017**

^a RR: riesgo relativo; ^b IC 95%: intervalo de confianza al 95%^c LD: límite de detección. TEXTB β - Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene estrógenos endógenos y naturales contenidos en muestras tejido adiposo humano, incluyendo compuestos de síntesis no organohalogenados como por ejemplo bisfenol A.^d RE: Receptores de estrógeno; ^e RP: Receptores de progesterona* Significación estadística (p \leq 0,1)

ii. Evolución de la enfermedad

Recidiva y/o metástasis

Es conocido que, si a lo largo del seguimiento las pacientes desarrollan recidivas locales o a distancia (metástasis), la supervivencia disminuye, lo que se ha podido demostrar en nuestra población de estudio (tabla 45).

TABLA 45. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG)
SEGUN RECIDIVA Y METÁSTASIS

Recidiva y/o metástasis	Tiempo de SG medio (meses) (DE ^a)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
• No	126,2 (23,51)	95,2	88,8	<0,001**
• Sí	80,75 (44,06)	57,9	31,6	

^a DE: Desviación estándar** Significación estadística (p \leq 0,05)

De igual forma, al comparar aisladamente la supervivencia global de las pacientes que no desarrollan metástasis con las que sí, se observa bastante diferencia, con un 90,1% de supervivencia global para las primeras y un 21,3% para las segundas (p<0,001) (figura 18).

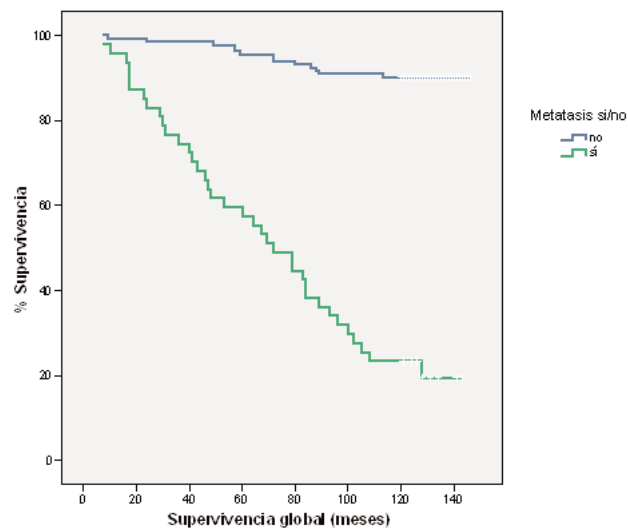


Figura 19. Supervivencia global y metástasis

Metástasis óseas

Se ha estudiado particularmente la supervivencia global de las pacientes que desarrollan metástasis óseas en comparación con el resto de localizaciones metastásicas. La supervivencia global para las primeras es del 28,6% al final del seguimiento y del 15,4% para las segundas. En nuestra serie, la supervivencia es baja, sin embargo, las pacientes con metástasis óseas presentan una supervivencia mayor, aunque no estadísticamente significativa ($p=0,370$).

3.1.3. Características de la exposición

i. Concentración de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo y supervivencia global

Al realizar el análisis de correlación de Pearson entre el tiempo de supervivencia de las pacientes y la carga para los pesticidas organoclorados que se hallaron en mayor concentración en la grasa peritumoral, no se ha observado asociación entre las dos variables (tabla 46).

TABLA 46. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y PESTICIDAS ORGANOCLORADOS		
	Correlación Pearson	Valor p
• DDE	-0,062	0,406
• Aldrín	-0,061	0,417
• Endosulfán éter	0,047	0,530
• Lindano	-0,090	0,230

ii. Carga estrogénica total efectiva: $\text{TEXB } \alpha$ y β $\text{TEXB } \alpha$

La carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC a - $\text{TEXB } \alpha$ -, que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica, que está libre de hormonas endógenas, se asoció en el estudio previo de casos y controles como factor de riesgo de cáncer de mama. El objetivo principal de este trabajo de Tesis Doctoral es investigar si, además, la carga xenobiótica acumulada determina modificaciones en el pronóstico de la enfermedad.

En el análisis de Regresión de Cox entre $\text{TEXB } \alpha$ y el tiempo de supervivencia global, no se ha observado relación significativa entre ambas variables ($p=0,399$). Al agrupar $\text{TEXB } \alpha$ en función de la mediana, en cuartiles, terciles o en función del límite de detección (0,1 pM eqE/ng lípido), se encuentran algunas asociaciones. Los resultados en supervivencia se muestran en la *tabla 47* y *figura 20*.

TABLA 47. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y $\text{TEXB } \alpha$

$\text{TEXB } \alpha^a$	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Mediana				
• ≤ 13	111,88 (102,06-121,69)	81,3	65,6	0,989
• > 13	111,99 (102,44-121,56)	77,1	65,6	
Cuartiles				Ver <i>tabla 48</i>
• $\leq 0,72$	100,34 (85,15-115,52)	70,2	53,2	
• 0,73-13,42	113,63 (103,18-124,08)	85,7	77,6	
• 13,43-50,20	104,26 (89,94-118,56)	70,8	56,3	
• $> 50,20$	110,75 (99,88-121,62)	83,3	75,0	
1º cuartil				0,035**
• $\leq 0,72$	100,34 (85,15-115,52)	70,2	53,2	
• $> 0,72$	115,69 (108,18-123,22)	80,0	69,7	
4º cuartil				0,133
• $\leq 50,20$	109,33 (101,22-117,46)	75,7	62,5	
• $> 50,20$	110,75 (99,88-121,62)	83,3	75,0	
LD^b				0,075*
• $< 0,1$	110,51 (95,20-125,82)	77,1	60,0	
• $\geq 0,1$	120,09 (113,21-126,97)	84,8	73,1	

^a pM eqE/g lípido* Significación estadística ($p \leq 0,1$); ** Significación estadística ($p \leq 0,05$)

$\text{TEXB } \alpha$: Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

^b LD: límite de detección

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Según los datos obtenidos, tener mayor carga estrogénica total efectiva, al mismo tiempo que se comporta como un factor de riesgo de cáncer de mama, parece determinar una enfermedad con mejor pronóstico en cuanto a supervivencia global. La probabilidad de supervivencia de las pacientes con $TEXB \alpha \leq 0,72$ es estadísticamente inferior a aquellas con valores mayores.

TABLA 48. COMPARACIÓN POR PARES: $TEXB \alpha^a$ Y SUPERVIVENCIA GLOBAL

TEXB α cuartiles	$\leq 0,72$	0,72-13,42	13,42-50,20	$>50,20$
• $\leq 0,72$		0,013**	0,727	0,029**
• 0,72-13,42	0,013**		0,029**	0,765
• 13,42-50,20	0,727	0,029**		0,064*
• $>50,20$	0,029**	0,765	0,064*	

^a pM eqE/g lípido

* Significación estadística ($p \leq 0,1$); ** Significación estadística ($p \leq 0,05$)

TEXB α : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

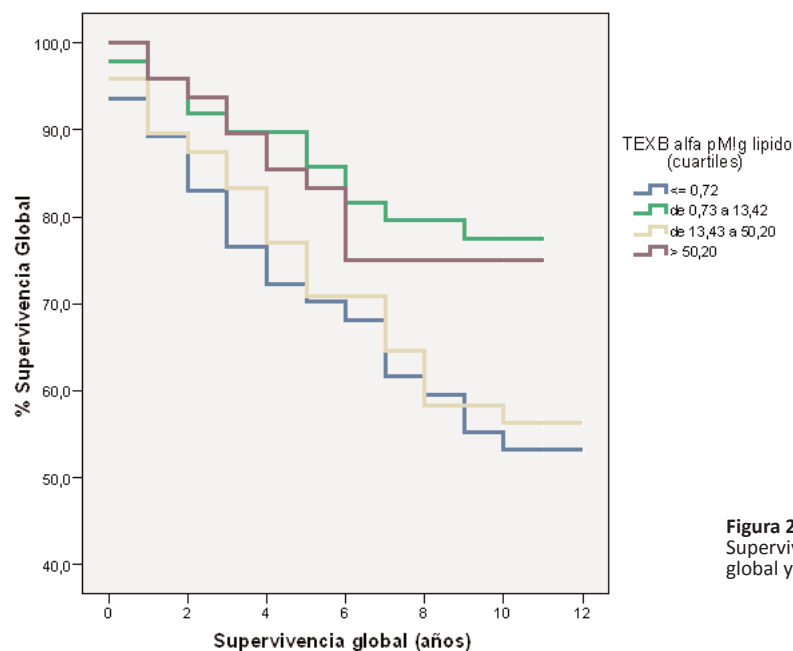


Figura 20. Supervivencia global y TEXB α

Al estratificar $TEXB \alpha$ por estatus menopáusico (tabla 49), se observa que, a mayor carga estrogénica de la fracción alfa, disminuye la supervivencia para aquellas pacientes con la menopausia instaurada. Al comparar cada estrato (tabla 50), se detectan diferencias estadísticamente significativas en:

- Menopausia:

a. Pacientes con un $\text{TEXB } \alpha$ entre 13,43-50,20 presentan menor supervivencia respecto a aquellas con $\text{TEXB } \alpha$ entre 0,73-13,42 ($p=0,050$).

- Premenopausia:

a. $\text{TEXB } \alpha > 50,20$ (pM eqE/g lípido) presenta mayor supervivencia respecto a valores $\leq 0,72$ ($p=0,002$).

b. $\text{TEXB } \alpha$ entre 0,73-13,42 presenta mayor supervivencia respecto a cargas $\leq 0,72$ ($p=0,060$).

TABLA 49. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y $\text{TEXB } \alpha$ ESTRATIFICADO POR ESTATUS MENOPAUSICO				
$\text{TEXB } \alpha^a$	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Menopausia				
• $\leq 0,72$	114,96 (98,45-131,48)	80,8	61,5	0,288
• 0,73-13,42	125,15 (112,00-138,29)	88,9	77,8	
• 13,43-50,20	102,87 (85,67-120,06)	73,3	53,3	
• $>50,20$	106,77 (87,29-126,25)	72,7	63,6	
Premenopausia				
• $\leq 0,72$	103,86 (80,04-127,68)	75,0	62,5	0,042**
• 0,73-13,42	128,40 (112,28-144,52)	90,0	85,0	
• 13,43-50,20	122,40 (102,62-142,18)	93,3	73,3	
• $>50,20$	135,08 (123,98-146,18)	95,8	91,7	

^a pM eqE/g lípido; ** Significación estadística ($p \leq 0,05$)

$\text{TEXB } \alpha$: Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Por otro lado, al incluir en el análisis de supervivencia global según $\text{TEXB } \alpha$ y estatus menopáusico, la expresión de receptores hormonales, $\text{TEXB } \alpha$ continúa comportándose como factor protector (tabla 51), y los receptores hormonales, sobre todo si son ambos negativos, continúan comportándose como factor de mal pronóstico, como se observa al realizar el estudio bivalente entre receptores hormonales y supervivencia global (ver tabla 43).

TABLA 50. SUPERVIVENCIA GLOBAL Y TEXB α^a ESTRATIFICADO POR MENOPAUSIA. COMPARACIÓN POR PARES

TEXB α cuartiles	$\leq 0,72$	0,72-13,42	13,42-50,20	>50,20
Menopausia				
• $\leq 0,72$		0,201	0,498	0,963
• 0,73-13,42	0,201		0,050**	0,120
• 13,43-50,20	0,498	0,050**		0,554
• > 50,20	0,963	0,227	0,554	
Premenopausia				
• $\leq 0,72$		0,060*	0,333	0,009**
• 0,73-13,42	0,060*		0,428	0,493
• 13,43-50,20	0,333	0,428		0,126
• > 50,20	0,009**	0,493	0,126	

^a pM eqE/g lípido; * Significación estadística ($p \leq 0,1$); ** Significación estadística ($p \leq 0,05$)

TEXB α : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene compuestos más polares, incluyendo estrógenos endógenos y compuestos de síntesis no organohalogenados, como por ejemplo bisfenol A.

TABLA 51. SUPERVIVENCIA GLOBAL Y TEXB α (LD) AJUSTADO POR RECEPTORES HORMONALES Y ESTATUS MENOPAUSICO

	RR ^a	Valor p	IC 95% ^b
Estatus menopáusico			
• Menopausia	1		
• Premenopausia	0,691	0,266	0,360-1,326
TEXB α (LD)^c			
• <0,1	1		
• $\geq 0,1$	0,462	0,016**	0,247-0,864
Receptores hormonales			
• Alguno positivo	1		
• RE ^d - y RP ^e -	1,752	0,059*	0,979-3,133

n=125, p=0,007**

^a RR: riesgo relativo; ^b IC 95%: intervalo de confianza al 95%
^c LD: límite de detección.

TEXB α -Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

^d RE: Receptores de estrógeno; ^e RP: Receptores de progesterona
* Significación estadística ($p \leq 0,1$); ** Significación estadística ($p \leq 0,05$)

TEXB β

TEXB β o carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene estrógenos endógenos como aquellos sintéticos más polares, incluyendo compuestos de síntesis no organohalogenados (como bisfenol A), contenidos en muestras de tejido adiposo humano, al estudiar aisladamente su relación con supervivencia global, no tiene ningún efecto en nuestra población de estudio ($p=0,719$). Sin embargo, cuando las pacientes se clasifican en función del estatus menopáusico, TEXB β manifiesta un comportamiento diferente. En la **tabla 52** se muestra la supervivencia para las pacientes según el estado de menopausia al diagnóstico de la enfermedad. Para las mujeres con menopausia instaurada, tener mayor TEXB β supone peor supervivencia, al contrario que para las mujeres en periodo fértil o no menopáusicas. El 50% de las mujeres en menopausia con valores TEXB β más elevados (>100 pM eqE/g lípido), sobreviven menos de 72 meses /6 años (mediana).

TABLA 52. SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG) Y TEXB β ESTRATIFICADO POR ESTATUS MENOPAUSICO				
TEXB β^a	Tiempo de SG medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Menopausia				
• $\leq 2,69$	105,94 (84,46-125,4)	72,4	62,1	0,497
• 2,70-20,84	117,53 (104,16-130,89)	85,3	64,7	
• 20,85-100	102,23 (87,37-117,07)	77,8	59,3	
• > 100	84,00 (63,00-105,00)	54,5	50	
Premenopausia				
• $\leq 2,69$	96,76 (70,45-123,08)	75,0	62,5	0,622
• 2,70-20,84	106,40 (83,47-129,32)	80,0	73,3	
• 20,85-100	111,65 (95,71-127,58)	78,3	78,3	
• > 100	127,38 (114,20-140,56)	92,3	76,9	

^a a pM eqE/g lípido

TEXB β : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene compuestos más polares, incluyendo estrógenos endógenos y compuestos de síntesis no organohalogenados, como por ejemplo bisfenol A.

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

No se observan diferencias estadísticamente significativas en supervivencia global y los niveles de TEXB β según el estatus menopáusico si se clasifica a las pacientes en función de la mediana (20,84), por cuartiles, la mediana o por el límite de detección ($<0,1$ pM eqE/g lípido), aunque el comportamiento es inverso (**figuras 21 y 22**).

Este comportamiento inverso de TEXB β según el estatus menopáusico de la mujer puede deberse a

diferencias en ambos grupos en la edad al diagnóstico, estadio de la enfermedad e IMC de las mismas, diferencias que se observan en la tabla 53. Las mujeres en menopausia tienen mayor IMC y edad al diagnóstico, y parece que son diagnosticadas en estadios de la enfermedad más avanzados.

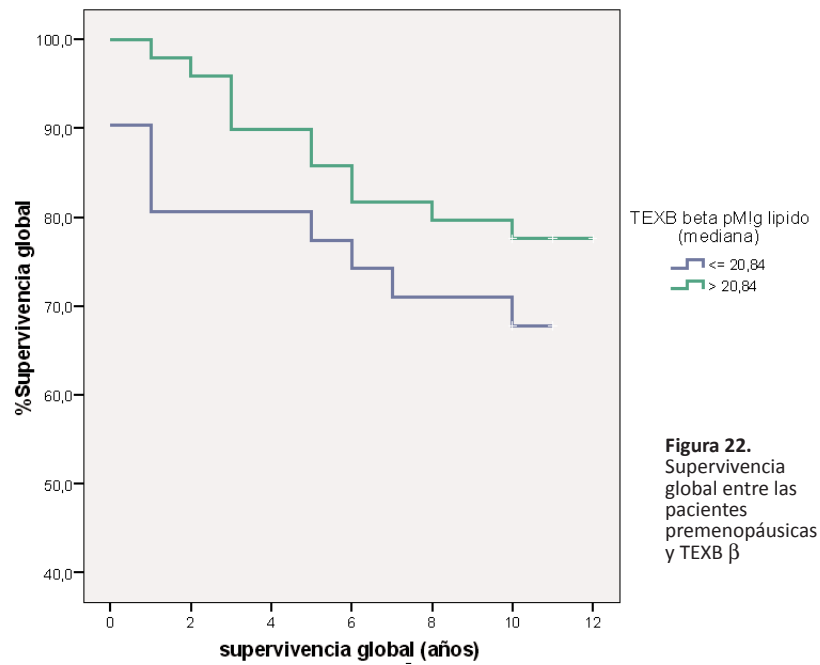
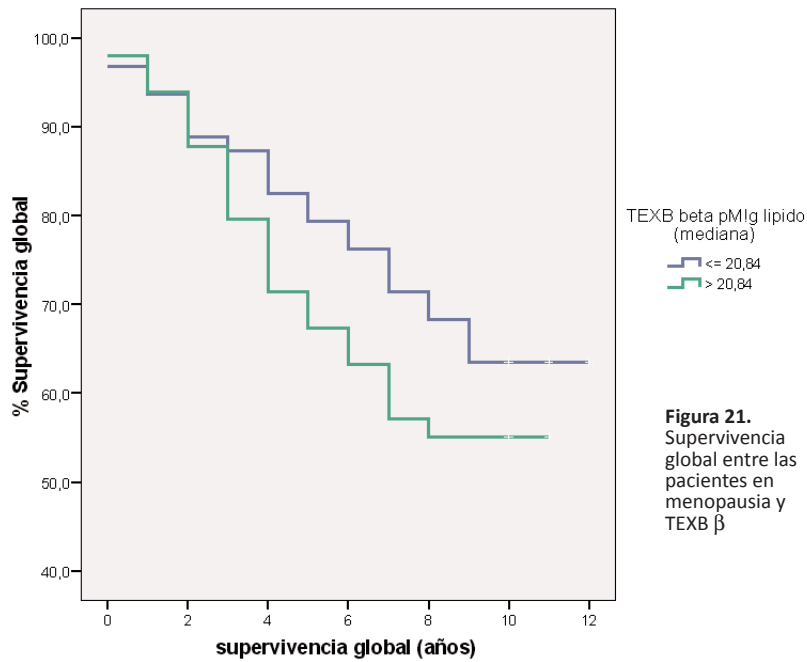


TABLA 53. CARACTERIZACIÓN DE LAS PACIENTES SEGÚN ESTATUS MENOPAUSICO POR EDAD, ESTADIO E IMC			
	Menopausia	Premenopausia	Valor p
IMC kg/m ² (MA y DE ^a)	28,47 (4,89)	26,62 (4,90)	0,010**
Edad (MA y DE)	61,04 (6,89)	44,89 (5,78)	<0,001**
Estadio (%)			0,068*
• I	60,0	40,0	
• II	54,6	45,4	
• III	73,7	26,3	
• IV	0,0	100,0	

^a MA: media aritmética; DE: desviación estándar

* Significación estadística (p≤0,1); ** Significación estadística (p≤0,05)

Al igual que se ha estudiado para $TEXB \alpha$ el efecto que puede tener sobre la supervivencia global si se ajusta por estatus menopáusico y la expresión de receptores hormonales, se ha realizado un análisis de regresión de Cox para $TEXB \beta$ categorizado por el límite de detección, el estatus menopáusico y los receptores hormonales (tabla 54). Los resultados de este análisis indican que tendrían mejor pronóstico aquellas pacientes menopáusicas, con menopausia instaurada, mayores valores de $TEXB \beta$ y alguno de los receptores hormonales positivos.

TABLA 54. SUPERVIVENCIA GLOBAL Y $TEXB \beta$ (LD) AJUSTADO POR RECEPTORES HORMONALES Y ESTATUS MENOPAUSICO			
	RR ^a	Valor p	IC 95% ^b
Estatus menopáusico			
• Menopausia	1		
• Premenopausia	0,656	0,206	0,341-1,261
$TEXB \beta$ (LD)^c			
• <0,1	1		
• ≥0,1	0,652	0,213	0,333-1,277
Receptores hormonales			
• Alguno positivo	1		
• RE ^d - y RP ^e -	1,616	0,108	0,900-2,902

n=125, p=0,054*

^a RR: riesgo relativo; ^b IC 95%: intervalo de confianza al 95%

^c LD: límite de detección.

$TEXB \beta$: Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene compuestos más polares, incluyendo estrógenos endógenos y compuestos de síntesis no organohalogenados, como por ejemplo bisfenol A.d
RE: Receptores de estrógeno; e RP: Receptores de progesterona

* Significación estadística (p≤0,1)

3.1.4. Modelo multivariante de SG

Las tablas 55 y 56 muestran el resultado del análisis de riesgos proporcionales de Cox para $\text{TEXB } \alpha$, estratificando a la población por encima y por debajo del LD. En el primer modelo se ha considerado de forma individual $\text{TEXB } \alpha$, mientras que en el segundo modelo se ha ajustado por las variables clínicas relacionadas con una mayor supervivencia, así como por aquellas que han resultado asociadas estadísticamente con la supervivencia global de las pacientes en el análisis bivalente: edad al diagnóstico, edad de la menarquia, estatus menopáusico, estadio de la enfermedad, grado de diferenciación celular, fenotipo tumoral para receptores hormonales, recaída a lo largo del seguimiento y $\text{TEXB } \alpha$.

TABLA 55. MODELO DE RIESGOS PROPORCIONALES DE COX. $\text{TEXB } \beta$ Y SUPERVIVENCIA GLOBAL			
$\text{TEXB } \alpha$ (LD) ^a	RR ^b	Valor p	IC 95% ^c
• < 0,1	1		
• $\geq 0,1$	0,538	0,021**	0,318-0,910

n=192, p=0,019**

$\text{TEXB } \alpha$ -Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

^a LD: límite de detección ^b RR: riesgo relativo; ^c IC 95%: Intervalo de confianza al 95%

** Significación estadística (p \leq 0,5)

Si consideramos la variable $\text{TEXB } \alpha$ de manera continua y construimos un nuevo modelo multivariante, no se producen modificaciones significativas en los riesgos para ninguna de las variables incluidas.

Aisladamente, tener mayor $\text{TEXB } \alpha$ parece actuar como factor protector en supervivencia global para el cáncer de mama, pero al ajustar por el resto de variables, disminuye esa asociación y adquieren una mayor importancia de mal pronóstico las características del tumor, esto es, estadio tumoral y grado histológico, junto con receptores hormonales y recidiva de la enfermedad, características conocidas tanto en la clínica como en la literatura científica.

TABLA 56. MODELO MULTIVARIANTE DE RIESGOS PROPORCIONALES DE COX. SUPERVIVENCIA GLOBAL

TEXB α (LD) ^a	RR ^b	Valor p	IC 95% ^c
• < 0,1	1		
• $\geq 0,1$	0,422	0,070*	0,166-1,074
Edad	0,954	0,173	0,891-1,051
Edad menarquia (años)			
• < 14	1		
• ≥ 14	1,372	0,532	0,509-3,699
Estatus menopáusico			
• Menopausia	1		
• Premenopausia	0,241	0,021**	0,058-0,793
Estadio postquirúrgico			
• I	1		
• II	0,807	0,739	0,230-2,836
• III	3,345	0,136	0,683-6,380
Grado			
• 1+2	1		
• 3	3,400	0,013**	1,301-8,886
Recaída			
• No	1		
• Sí	17,574	<0,001**	6,196-9,843
Receptores hormonales			
• Alguno positivo	1		
• Ambos negativos	2,465	0,058*	0,971-6,262

n=95, p<0,001**

^a LD: límite de detección ^b RR: riesgo relativo; ^c IC 95%: Intervalo de confianza al 95%TEXB α -Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.* Significación estadística (p \leq 0,1); ** Significación estadística (p \leq 0,05)

3.2. Factores pronósticos de supervivencia libre de enfermedad (SLE)

3.2.1. Variables epidemiológicas

i. Hospital

En la tabla siguiente (tabla 57), se detalla el tiempo medio libre de enfermedad para cada grupo de pacientes distribuidas por hospital de referencia. Se observa mayor tiempo libre de enfermedad en el H.U. San Cecilio, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa. Ya en el apartado anterior sobre supervivencia global en función del hospital de referencia se caracterizó a cada grupo de pacientes por hospital según la edad y estadio al diagnóstico de la enfermedad y se observaron diferencias, lo que puede justificar la variación en supervivencia libre de enfermedad para cada hospital.

TABLA 57. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) POR HOSPITALES				
	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE a 5 años (%)	SLE a 10 años (%)	Valor p
HUSC	135,93 (125,61-146,24)	93,9	93,9	0,125
CHT	120,53 (105,28-135,78)	85,1	72,6	
HUVN	121,10 (112,88-129,32)	83,6	77,7	

SLE: Supervivencia Libre de enfermedad
HUSC: Hospital Universitario San Cecilio (Granada)
HUVN: Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada)
CHT: Complejo Hospitalario Torrecárdenas (Almería)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

ii. Edad

Si agrupamos a las pacientes por cuartiles de edad, no se observan diferencias en el tiempo medio de supervivencia libre de enfermedad de las mujeres, ni a los 5 y 10 años de seguimiento (tabla 58).

TABLA 58. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y EDAD AL DIAGNÓSTICO				
Edad cuartiles (años)	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• ≤ 44	116,48 (102,63-130,33)	78,3	73,9	0,938
• 45-54	118,75 (105,28-132,22)	84,1	70,5	
• 55-63	117,76 (104,08-131,43)	80,0	68,9	
• ≥ 64	117,97 (104,72-131,23)	82,1	71,8	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Al clasificar a las pacientes en grupos de edad más pequeños (cada 5 años), sí se observan diferencias, con mayor SLE en el grupo de 45 a 49 años (tiempo de supervivencia medio de 132,04 meses, IC 95% 118,54-145,53) respecto al de mujeres con edades comprendidas entre 34 y 39 años (tiempo de supervivencia medio de 100,53 meses, IC 95% 73,44-127,62) ($p=0,071$).

iii. IMC

Al realizar el estudio de asociación entre el IMC de las pacientes y el tiempo de supervivencia libre de enfermedad, no se observa tampoco ninguna relación estadísticamente significativa entre ambas variables ($p=0,840$). Igual ocurre si estratificamos el IMC por cuartiles (tabla 59).

IMC cuartiles (kg/m ²)	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• ≤ 24,24	109,69 (94,43-94,43)	71,4	69,0	0,530
• 24,25-26,92	94,43 (106,05-133,9)	84,6	71,8	
• 26,93-31,18	129,49 (118,45-140,52)	92,7	80,5	
• > 31,18	115,12 (102,08-128,16)	81,4	67,4	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

iv. Variables sociodemográficas

Ruralidad

El tiempo de residencia de la paciente en el medio rural, no determina de manera significativa peor tiempo libre de enfermedad, aunque se observa menor SLE en las pacientes que nunca han vivido en este medio y en aquellas que han pasado la mayor parte de su vida en él (tabla 60).

% Tiempo residencia rural	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• 0	115,47 (105,06-125,87)	81,3	64,0	0,134
• 0-28,24	126,14 (97,37-154,92)	85,7	85,7	
• 28,25-93,84	128,16 (117,04-139,28)	88,6	84,1	
• >93,84	110,02 (94,84-125,20)	73,8	69,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Estado civil

El estado civil al diagnóstico del cáncer de mama no supone modificación en la SLE (tabla 61), tampoco si agrupamos casadas, viudas y separadas en comparación con solteras (p=0,761).

TABLA 61. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y ESTADO CIVIL

Estado civil	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• Soltera	116,75 (91,28-142,21)	75,0	66,7	0,890
• Casada	118,57 (110,93-126,21)	82,2	74,8	
• Viuda/separada	115,86 (95,83-135,89)	81,0	76,2	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Escolaridad

El nivel educativo de las pacientes con cáncer de mama no supone modificación en el tiempo medio de supervivencia libre de enfermedad (tabla 62).

TABLA 62. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y NIVEL EDUCATIVO

Nivel educativo	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• Bajo	117,98 (110,05-125,90)	83,2	70,5	0,489
• Medio	113,42 (91,89-134,96)	76,4	69,1	
• Alto	128,94 (111,55-146,33)	88,9	83,3	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Al estudiar la SLE agrupando aquellas mujeres con nivel educativo medio/alto, se observa mayor SLE en comparación con aquellas con bajo nivel educativo (SLE a 10 años 78,4% y 69,5% respectivamente), pero las diferencias no resultan estadísticamente significativas (p=0,324).

Ocupación

El trabajo que desempeña la paciente cuando le es diagnosticado el cáncer de mama, no ha supuesto en nuestra serie modificación significativa en el tiempo libre de enfermedad medio (tabla 63).

TABLA 63. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y OCUPACIÓN

Ocupación	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• Trabajadora	121,6 (109,47-133,74)	83,0	75,5	0,556
• Desempleada/parada	111,5 (82,24-140,76)	80,0	70,0	
• Pensionista/jubilada	108,83 (93,20-124,46)	76,7	60,0	
• Ama de casa	119,92 (109,46-130,38)	82,4	73,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Agricultura

El 43,3% de las pacientes de nuestra serie (88) había trabajado en agricultura con anterioridad al diagnóstico de la enfermedad. Por esta razón, y al igual que estudiamos para supervivencia global, quisimos conocer si el trabajo realizado en agricultura suponía una modificación en la SLE. De acuerdo con los datos de la tabla 64, no se observa ninguna relación.

TABLA 64. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y TRABAJO EN AGRICULTURA

Trabajo en agricultura	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• No	119,88 (110,73-129,03)	82,6	70,7	0,907
• Sí	117,54 (106,95-128,13)	80,3	72,4	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

v. Historia reproductiva y ginecológica

Número de hijos

Entre las 168 mujeres para las que se dispone de información sobre si tuvieron o no hijos y la evolución de su enfermedad, se observa una mayor supervivencia libre de enfermedad en aquellas que no tuvieron hijos, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0,597$). Para las 151 mujeres que tuvieron hijos, se ha calculado la SLE en función del número de hijos, clasificando a las pacientes según el valor de la mediana. Observamos que a menor número de hijos, mayor tiempo de SLE, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas ($p=0,587$) (tabla 65).

TABLA 65. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y NÚMERO DE HIJOS

Hijos	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
Hijos				
• No	125,35 (106,29-144,41)	82,4	76,5	0,597
• Sí	117,74 (110,37-125,11)	81,5	70,9	
Nº hijos (mediana)				
• ≤ 3	119,36 (110,62-128,11)	82,7	72,1	0,587
• > 3	112,11 (98,89-125-33)	78,7	68,1	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Edad al primer hijo

Como se ha comentado previamente, tener hijos a mayor edad puede suponer un mayor riesgo de cáncer de mama. También quisimos saber si la edad al primer hijo modificaba la SLE una vez desarrollada la enfermedad. Según los datos de este estudio, no parece modificar el tiempo libre de enfermedad (tabla 66).

TABLA 66. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y EDAD AL PRIMER HIJO

Edad madre 1º hijo (años)	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
Mediana				
• ≤ 26	105,2 (96,73-113,68)	76,7	68,9	0,812
• > 26	112,42 (99,55-125,29)	77,2	66,7	
Cuartiles				
• ≤ 22	119,93 (108,04-131,82)	86,4	75	0,838
• 23-26	115,42 (102,55-128,29)	82,0	72,0	
• 27-29	114,03 (98,07-129,99)	75,7	67,6	
• > 29	113,95 (94,49-133,41)	80,0	65,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Lactancia

Una de las vías de eliminación de compuestos orgánicos persistentes de naturaleza lipofílica es la lactancia materna, lo que podría influir en el riesgo de cáncer de mama y en la evolución de la enfermedad. En el análisis bivariante entre las mujeres que dieron pecho y las que no y, al tener en cuenta únicamente las que sí dieron lactancia materna, comparar los diferentes tiempos de lactancia acumulada (en cuartiles y por encima y por debajo del 3º cuartil, 24 meses acumulados), no parece modificar el tiempo libre de enfermedad de la serie (tabla 67).

TABLA 67. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y LACTANCIA MATERNA				
Lactancia	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
Lactancia				
• No	123,12 (110,27-135,97)	82,9	73,2	0,698
• Sí	117,16 (109,02-125,29)	81,1	70,9	
Meses lactancia (mediana)				
• ≤ 15	116,11 (104,45-127,76)	80,3	71,2	0,991
• > 15	116,88 (105,77-127,99)	82,0	70,5	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Menarquia

La influencia de la edad de la menarquia sobre el riesgo de recidiva y/o metástasis se muestra en la tabla 68. No se observan diferencias significativas para SLE en función de la edad de la menarquia.

TABLA 68. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y EDAD MENARQUIA (MEDIANA)				
Menarquia (años)	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
Mediana				
• < 13	117,78 (107,02-128,53)	80,6	69,4	0,640
• ≥ 13	119,45 (110,39-128,49)	82,3	72,9	
4º cuartil				
• < 14	120,43 (112,10-128,77)	82,6	73,0	0,532
• ≥ 14	115,68 (103,16-128,20)	79,2	67,9	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Menopausia (incluyendo ooforectomía)

Las pacientes a las que previamente se les habían extirpado los ovarios (9 de 168 de las que se tiene dicha información), sobrevivieron sin recaída a lo largo del seguimiento el 100%, en comparación con el 69,8% de las no intervenidas, aproximándose esta diferencia a la significación estadística ($p=0,072$). Estas diferencias no se observan al estudiar la SLE en función del estatus menopáusico (tabla 69).

TABLA 69. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y ESTATUS MENOPAUSICO

Menopausia	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• No	119,757 (109,43-130,08)	82,9	74,3	0,501
• Sí	117,65 (108,38-126,92)	80,6	69,4	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Como se ha comentado en el apartado de supervivencia global, se ha estudiado también el efecto del periodo fértil (años entre la edad de la menarquia y la menopausia) sobre la recaída de la enfermedad. No se han observado diferencias estadísticamente significativas ($p=0,991$), tampoco al agrupar en función de la mediana de años fértiles (35 años) ($p=0,462$).

Tratamientos hormonales: ACH Y THS

Anteriormente se ha comentado que el tratamiento previo con anticoncepción hormonal (ACH) y terapia hormonal sustitutiva (THS) parece determinar un mayor riesgo de padecer cáncer de mama; en el apartado anterior no se observó modificación de la SG, pero al estudiar la SLE se observa que el uso previo de ACH determina menos tiempo de supervivencia libre de enfermedad (tabla 70).

TABLA 70. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y TRATAMIENTOS HORMONALES

Tratamientos hormonales	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
ACH^a				
• No	123,70 (115,60-131,80)	84,2	77,2	0,022**
• Sí	107,17 (94,70-119,63)	75,9	59,3	
THS^b				
• No	113,04 (105,61-120,47)	81,1	71,1	0,701
• Sí	120 (89,75-150,25)	88,9	77,8	

^a ACH: anticoncepción hormonal; ^b THS: terapia hormonal sustitutiva

** Significación estadística ($p<0,05$)

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

En relación al tiempo de uso y la edad de inicio de anticonceptivos hormonales y de terapia hormonal sustitutiva, no se ha observado relación con la SLE ($p=0,538$ y $0,991$ respectivamente).

Antecedentes familiares de cáncer de mama

Tener antecedentes familiares de primer grado (madre o hermanas) de cáncer de mama, parece suponer menor tiempo libre de enfermedad, como se observa en la tabla 71, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa.

TABLA 71. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y ANTECEDENTES FAMILIARES DE CÁNCER DE MAMA				
Antecedentes Familiares	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• No	119,98 (112,67-127,29)	81,9	72,5	0,389
• Sí	111,37 (89,50-133,23)	78,9	63,2	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

vi. Estilo de vida: consumo de tabaco y alcohol

En la tabla 72 se muestran los tiempos de supervivencia libre de enfermedad y la SLE a 5 y 10 años en función de hábitos tóxicos. No se ha encontrado asociación entre los hábitos tóxicos y la SLE, al igual que si tenemos en cuenta los años fumando ($p=0,968$).

TABLA 72. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y HABITOS TOXICOS				
Estilo de vida	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
Tabaco				
• No	120,122 (112,68-127,56)	82,7	71,2	0,983
• Sí	111,59 (93,42-129,75)	75,9	72,4	
Alcohol				
• No	116,23 (109,06-123,46)	80,4	70,3	0,185
• Sí	142,60 (112,18-148,92)	90,0	90,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

3.2.2. Características de la enfermedad

i. Características tumorales

Estadio tumoral

Como se comentó al estudiar los factores pronósticos de supervivencia global, el tamaño tumoral y el estadio de la enfermedad son determinantes en la supervivencia global y libre de enfermedad.

Al comparar el tiempo de SLE entre el estadio III y I, se observan diferencias estadísticamente significativas ($p=0,027$), pero no se detectan modificaciones de SLE al comparar entre los demás estadios (tabla 73).

TABLA 73. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y ESTADIO POSTQUIRÚRGICO				
Estadio postquirúrgico	Tiempo SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• I	110,71 (96,61-124,81)	83,9	74,2	0,027**
• II	120 (111,88-128,12)	81,1	73,9	
• III	97,76 (78,37-117,17)	67,6	55,9	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%
** Significación estadística ($p \leq 0,05$)

En el estudio del tamaño tumoral como modificador de la SLE de forma independiente, no observamos diferencias estadísticamente significativas (tabla 74). Sin embargo, se observa una disminución en la supervivencia libre de enfermedad a largo plazo en aquellas pacientes con un tamaño tumoral T4, pero, probablemente el escaso número de pacientes en este grupo explique que las diferencias no sean estadísticamente significativas.

TABLA 74. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y TAMAÑO TUMORAL (T)				
Tamaño tumoral	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• T1	126,20 (114,74-137,67)	89,7	79,5	0,493
• T2	119,26 (110,21-128,32)	81,8	71,7	
• T3	105,45 (83,08-127,83)	68,2	68,2	
• T4	109,78 (84,47-135,09)	88,9	55,6	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Tipo histológico

El tipo histológico tumoral, al igual que se ha descrito para SG, no determina en nuestra serie modificación en la SLE, como se muestra en la tabla 75.

TABLA 75. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y TIPO HISTOLÓGICO				
Tipo histológico	Tiempo SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• CDI	118,11 (110,76-125,46)	80,9	70,7	0,724
• CLI	117,42 (95,59-139,24)	83,3	75,0	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Grado histológico

Un mayor grado de diferenciación celular, al igual que para supervivencia global, determina menor tiempo libre de enfermedad (tabla 76).

TABLA 76. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y GRADO HISTOLÓGICO				
Grado histológico	Tiempo SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• 1+2	120,3 (111,01-129,59)	82,5	72,5	0,058*
• >2	100,28 (86,95-113,63)	67,1	60,0	

* Significación estadística ($p \leq 0,1$)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Ganglios linfáticos regionales

Previamente se había comentado que si los ganglios axilares en el momento del diagnóstico de la enfermedad estaban afectados, suponía un mayor riesgo de recidiva y/o metástasis a lo largo del tiempo, lo que se comprueba en nuestra serie de pacientes (tabla 77).

TABLA 77. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y ESTADO DE GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES				
Ganglios axilares	Tiempo SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• Negativos	123,76 (115,56-131,96)	86,5	78,1	0,047**
• Positivos	112,18 (100,91-123,46)	76,3	64,5	

** Significación estadística ($p \leq 0,5$)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Receptores hormonales

Si tenemos en cuenta la positividad o negatividad de los receptores hormonales del tumor primario en cuanto a su influencia en la posibilidad de desarrollar una recidiva y/o metástasis, únicamente se observan diferencias con los RP. En nuestra serie, tienen mayor SLE de forma significativa aquellas pacientes con tumores con RP negativos respecto a los positivos, aunque estas diferencias pueden deberse al pequeño tamaño de las pacientes de las que tenemos esta información (tabla 78).

TABLA 78. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y RECEPTORES HORMONALES				
Receptores hormonales	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
RE ^a (+) y RP ^b (+)	114,19 (99,29-129,09)	77,4	61,3	0,395
RE(-) y RP(-) ó (+)	112,71 (106,66-129,09)	79,8	71,4	
RE				
• Positivos	120,90 (108,72-133,08)	82,5	70,0	0,705
• Negativos	113,44 (102,41-124,48)	77,3	68,0	
RP				
• Positivos	110,44 (98,39-122,48)	74,6	61,0	0,084*
• Negativos	121,93 (110,52-133,32)	83,9	76,8	

^a RE: Receptores de estrógeno ^b RP: Receptores de progesterona
IC 95%: intervalo de confianza al 95%
* Significación estadística (p≤0,1)

Se ha querido conocer qué efecto tienen las variables TEXB α y los receptores hormonales en la SLE, al igual que se estudió para supervivencia global. En la tabla 79 se detallan los resultados. Ninguna de las pacientes con RE+ y RP- (30) tuvo recidiva o metástasis a lo largo del seguimiento, por lo que el RR es 0.

Al realizar el mismo estudio con TEXB β , receptores hormonales y supervivencia libre de enfermedad, no se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los riesgos para cada estrato.

TABLA 79. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD Y TEXB α (LD) AJUSTADO POR RECEPTORES HORMONALES

	RR ^a	Valor p	IC 95% ^b
TEXB α (LD)^c			
• <0,1	1		
• $\geq 0,1$	0,536	0,101	0,254-1,131
Receptores hormonales			
• RE ^d + y RP ^e +	1		
• RE+ y RP-	0,0	0,972	0,0
• RE- y RP+	1,222	0,636	0,532-2,806
• RE- y RP-	0,724	0,434	0,322-1,626

n=114, p=0,085*

^a RR: riesgo relativo; ^b IC 95%: intervalo de confianza al 95%^c LD: límite de detección. TEXB α -Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.^d RE: Receptores de estrógeno; ^e RP: Receptores de progesterona* Significación estadística (p \leq 0,1); ** Significación estadística (p \leq 0,05)

ii. Evolución de la enfermedad

Se han encontrado diferencias en cuanto al tiempo de supervivencia libre de enfermedad entre aquellas pacientes que no desarrollan recidiva y/o metástasis (tabla 80). El 50% de las pacientes que desarrollan recidiva o metástasis, ésta la presentan antes de los 83 meses (6,9 años) desde el diagnóstico de la enfermedad (mediana).

Metástasis óseas

Al igual que comparábamos si el desarrollo de metástasis óseas respecto a metástasis de otra localización modificaba la SG, se ha observado que la SLE antes del diagnóstico de la metástasis es mayor para aquellas mujeres que desarrollan metástasis óseas (tabla 81), aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa. El 50% de las pacientes que desarrollan metástasis ósea lo hacen antes de los 4 años, respecto a los 2 años para el resto de localizaciones.

TABLA 80. TIEMPO DE SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) MEDIO EN RECIDIVAS Y/O METÁSTASIS

Recidiva y/o metástasis	Tiempo SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
• No	138,02 (133,42-142,61)	95,1	90,2	<0,001**
• Sí	84,21 (71,83-96,59)	63,2	33,3	

** Significación estadística (p \leq 0,5)

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

TABLA 81. TIEMPO DE SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) MEDIO EN METÁSTASIS ÓSEAS Y NO ÓSEAS

Metástasis	Tiempo SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	Mediana SLE (meses)	Valor p
• No ósea	42,46 (29,27-55,66)	23,1	12	0,326
• Ósea	53,15 (37,27-69,01)	33,3	24	

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

3.2.3. Características de la exposición

i. Concentración de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo y supervivencia libre de enfermedad (SLE)

En el apartado de factores pronósticos de supervivencia global se ha observado que, aisladamente, cada pesticida no parece modificarla. Respecto a SLE el comportamiento es el mismo (tablas 82).

TABLA 82. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y PESTICIDAS ORGANOCLORADOS (ng/g LÍPIDO)

	Correlación Pearson	Valor p
• p,p'-DDE	-0,122	0,116
• Aldrín	0,035	0,655
• Endosulfán éter	0,076	0,330
• Lindano	-0,071	0,360

ii. Carga estrogénica total efectiva: $TEXB \alpha$ y β

TEXB α

Se ha estudiado el efecto de la 'carga estrogénica total efectiva' -TEXB- debida a xenoestrógenos sobre la supervivencia libre de enfermedad. De forma similar a lo encontrado cuando la relacionamos con la supervivencia global de las pacientes de nuestro estudio, al establecer como punto de corte el primer cuartil de $TEXB \alpha$ y comparar la SLE de ambos grupos, o si agrupamos a las pacientes por el LD de $TEXB \alpha$, se observa menor tiempo libre de recurrencia de la enfermedad en el primer grupo (tabla 83), indicando que una mayor carga estrogénica total efectiva parece determinar una enfermedad menos agresiva, aunque diferencias estadísticas encontradas no son significativas.

Al estratificar $TEXB \alpha$ por estatus menopáusico (tabla 84), se observa que, a mayor carga estrogénica de la fracción alfa, aumenta la supervivencia para aquellas pacientes en premenopausia. Al comparar cada estrato (tabla 85), se detectan diferencias estadísticamente significativas en:

TABLA 83. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y TEXB α

TEXB α^a	Tiempo SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
Mediana				
• ≤ 13	118,67 (108,83-128,49)	79,8	70,2	0,778
• > 13	118,18 (108,49-127,87)	83,3	72,6	
Cuartiles				
• $\leq 0,72$	111,18 (95,65-126,72)	73,7	60,5	0,382
• 0,73-13,42	121,72 (109,89-133,54)	84,8	78,3	
• 13,43-50,20	119,42 (105,98-132,87)	85,0	72,5	
• $> 50,20$	116,32 (102,56-130,07)	81,8	72,7	
1º cuartil				
• $\leq 0,72$	111,18 (95,65- 126,72)	73,7	60,5	0,106
• $> 0,72$	119,98 (112,39- 127,57)	83,8	74,6	
4º cuartil				
• $\leq 50,20$	119,38 (111,38- 127,37)	81,5	71,0	0,898
• $> 50,20$	116,32 (102,56- 130,07)	81,8	72,7	
LD^b				
• $< 0,1$	112,37 (95,46-129-29)	75,0	62,5	0,233
• $\geq 0,1$	119,27 (111,81-126,74)	83,1	73,5	

^a pM eqE/g lípido

TEXB α : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

^b LD: límite de detección

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

- Premenopausia:

a. Las pacientes con TEXB α entre 0,73-13,42 (pM eqE/g lípido) presentan mayor SLE respecto a aquellas con cargas inferiores, $\leq 0,72$ ($p=0,026$).

b. Las pacientes con TEXB $\alpha >50,20$ presentan mayor SLE respecto a aquellas con valores menores, $\leq 0,72$ ($p=0,032$).

Por otro lado, al incluir en el análisis de supervivencia libre de enfermedad, según TEXB α (categori-

TABLA 84. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y TEXB α ESTRATIFICADO POR ESTATUS MENOPAUSICO

TEXB α^a	Tiempo de SLE medio (meses) (IC 95%)	SG 5 años (%)	SG 10 años (%)	Valor p
Menopausia				
• $\leq 0,72$	120,08 (102,98-137,19)	83,3	66,7	0,758
• 0,73-13,42	115,59 (98,113-133,07)	77,8	74,1	
• 13,43-50,20	121,27 (105,93-136,61)	88,5	73,1	
• $>50,20$	103,43 (81,31-126,92)	71,4	61,9	
Premenopausia				
• $\leq 0,72$	93,43 (66,05-120,81)	57,1	50,0	0,069*
• 0,73-13,42	130,42 (117,15-143,69)	94,7	84,2	
• 13,43-50,20	114,64 (89,38-139,09)	78,6	71,4	
• $>50,20$	126,96 (111,77-142,14)	91,3	82,6	

^a pM eqE/g lípido

TEXB α : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

* Significación estadística ($p \leq 0,1$)
IC 95%: intervalo de confianza al 95%

TABLA 85. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD Y TEXB α^a ESTRATIFICADO POR MENOPAUSIA. COMPARACION POR PARES

TEXB α cuartiles	$\leq 0,72$	0,72-13,42	13,42-50,20	$>50,20$
Menopausia				
• $\leq 0,72$		0,667	0,672	0,605
• 0,73-13,42	0,667		0,978	0,374
• 13,43-50,20	0,672	0,978		0,362
• $> 50,20$	0,605	0,374	0,362	
Premenopausia				
• $\leq 0,72$		0,026**	0,277	0,032**
• 0,73-13,42	0,026**		0,343	0,860
• 13,43-50,20	0,277	0,343		0,412
• $> 50,20$	0,032**	0,860	0,412	

^a pM eqE/g lípido

TEXB β : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene compuestos más polares, incluyendo estrógenos endógenos y compuestos de síntesis no organohalogenados, como por ejemplo bisfenol A.

** Significación estadística ($p \leq 0,05$)

zado por el LD), el estatus menopáusico, y la expresión de receptores hormonales y realizar un análisis de regresión de Cox, no se observa ninguna asociación estadísticamente significativa.

TEXB β

Al estudiar aisladamente la relación de TEXB β con la SLE, no se observan diferencias estadísticamente significativas ($p=0,534$). Debido a su asociación con los estrógenos endógenos, al igual que para SG, se ha estratificado por menopausia. En general, no se observan diferencias estadísticamente significativas, pero vuelve a observarse un comportamiento opuesto de TEXB β en función del estatus menopáusico (tabla 86), suponiendo menor SLE en menopáusicas con menor carga y viceversa.

TABLA 86. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE) Y TEXB β ESTRATIFICADO POR ESTATUS MENOPAUSICO				
TEXB β (cuartiles) ^a	Tiempo SLE medio (meses) (IC 95%)	SLE 5 años (%)	SLE 10 años (%)	Valor p
Menopausia				
• $\leq 2,69$	117,52 (99,55- 135,49)	82,6	65,2	0,785
• 2,70-20,84	122,42 (107,39- 137,44)	83,9	74,2	
• 20,85-100	117,46 (100,09- 134,82)	83,3	70,8	
• > 100	100,63 (76,72- 124,54)	68,4	63,2	
Premenopausia				
• $\leq 2,69$	103 (76,59- 129,40)	69,2	53,8	0,174
• 2,70-20,84	126,46 (105,89- 147,03)	92,3	84,6	
• 20,85-100	127,81 (111,75- 143,87)	85,7	85,7	
• > 100	115,43 (96,73- 134,13)	82,6	69,6	

^a pM eqE/g lípido

TEXB β : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC β , que contiene compuestos más polares, incluyendo estrógenos endógenos y compuestos de síntesis no organohalogenados, como por ejemplo bisfenol A.

IC 95%: intervalo de confianza al 95%

Al igual que se ha estudiado para la carga estrogénica correspondiente a la fracción cromatográfica alfa-TEXB α , el efecto que puede tener sobre la supervivencia libre de enfermedad si se ajusta por estatus menopáusico y la expresión de receptores hormonales, se ha realizado un análisis de regresión de Cox para TEXB β categorizado por el LD, el estatus menopáusico y los receptores hormonales, sin que se observen diferencias estadísticamente significativas.

d. Modelo multivariante de SLE

A continuación se muestran los resultados correspondientes al análisis de riesgos proporcionales de Cox para $TEXB \alpha$, estratificando la población por encima y por debajo del LD y SLE. No se observan diferencias estadísticamente significativas (tabla 87); sin embargo, al agrupar a las pacientes por $TEXB \alpha$ en cuartiles, el 2º cuartil se comporta como factor protector de recurrencia de la enfermedad de forma estadísticamente significativa, al igual que el último cuartil, cuyo valor p se acerca a la significación (tabla 88).

TABLA 87. MODELO DE RIESGOS PROPORCIONALES DE COX. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD Y $TEXB \alpha$

$TEXB \alpha$ (LD) ^a	RR ^b	Valor p	IC 95% ^c
• < 0,1	1		
• ≥ 0,1	0,661	0,170	0,366-1,194

n=178, p=0,167

^a LD: límite de detección ^b RR: riesgo relativo; ^c IC 95%: Intervalo de confianza al 95%

** Significación estadística (p≤0,5)

TABLA 88. MODELO MULTIVARIANTE DE RIESGOS PROPORCIONALES DE COX. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD Y $TEXB \alpha$ (CUARTILES)

$TEXB \alpha$ ^a (cuartiles)	RR ^b	Valor p	IC 95%
• ≤0,72	1		
• 0,72-13,42	0,448	0,050**	0,201-0,998
• 13,42-50,20	0,694	0,306	0,344-1,397
• >50,20	0,519	0,089*	0,244-1,106

n=179, p=0,176

^a pM eqE/g lípido

$TEXB \alpha$: Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.

^b RR: Riesgo relativo

* Significación estadística (p≤0,1); ** Significación estadística (p≤0,05)

En un tercer modelo de análisis de riesgos proporcionales de Cox para $TEXB \alpha$, estratificando la población por encima y por debajo el LD, se ha ajustado por las variables clínicas relacionadas con una mayor supervivencia, así como por aquellas que han resultado asociadas estadísticamente con la SLE de las pacientes en el análisis bivariante: edad, estatus menopáusico, uso previo de anticonceptivos hormonales, estadio de la enfermedad al diagnóstico, grado histológico, fenotipo de receptores hormonales, Este modelo no es estadísticamente significativo (p=0,632). Al excluir las variables que en el análisis bivarian-

TABLA 89. MODELO MULTIVARIANTE DE RIESGOS PROPORCIONALES DE COX. SLE

TEXB α (LD) ^a	RR ^b	Valor p	IC 95% ^c
• < 0,1	1		
• \geq 0,1	0,849	0,655	0,417-1,739
Edad	1,012	0,443	0,981-1,044
ACH^d			
• No	1		
• Sí	1,870	0,053 *	0,991-3,528
Estadio postquirúrgico			
• I	1		
• II	0,860	0,728	0,369-2,012
• III	1,432	0,455	0,558-3,676
• IV	74,967	<0,001 **	8,632-651,107
Grado			
• 1+2	1		
• 3	1,660	0,093 *	0,919-2,999

n=146, p<0,001**

^a LD: límite de detección ^b RR: riesgo relativo; ^c IC 95%: Intervalo de confianza al 95%^d ACH: anticoncepción hormonal.TEXB α : Carga estrogénica total efectiva correspondiente a la fracción HPLC α , que contiene xenobióticos lipofílicos, específicamente compuestos organohalogenados con actividad estrogénica.* Significación estadística (p \leq 0,1); ** Significación estadística (p \leq 0,5)

te no se relacionan estadísticamente con SLE (estatus menopáusico y el fenotipo tumoral para receptores hormonales), mejora el modelo (tabla 89).

Al construir un nuevo modelo considerando la variable TEXB α de manera continua, no se producen modificaciones significativas en los riesgos para ninguna de las variables incluidas.

En este último modelo, en el que se incluyen edad, uso previo de anticonceptivos hormonales, estadio postquirúrgico y grado histológico, se pierde la asociación protectora de TEXB α encontrada con anterioridad. Por otro lado, la edad no parece influir en la SLE, pero sí el haber sido usuaria de anticonceptivos hormonales, el presentar al diagnóstico un mayor grado histológico y, de manera más evidente, un estadio avanzado al diagnóstico (estadio IV).

DISCUSIÓN

Supervivencia global
observada y
supervivencia libre de
enfermedad

[página 160](#)

Factores de riesgo de
enfermedad. Factores
pronósticos

[página 165](#)

Este trabajo de Tesis doctoral se ha llevado a cabo con objeto de estudiar la evolución de la enfermedad en el tiempo y la supervivencia de un grupo de enfermas diagnosticadas y tratadas de cáncer de mama que fueron reclutadas en el momento del diagnóstico, hace ahora más de quince años, en tres hospitales del sistema público de Andalucía, dos en Granada -Hospitales Universitarios San Cecilio y Virgen de las Nieves- y uno en Almería -Hospital Torrecárdenas-, e incluidas en un estudio epidemiológico tipo caso-control. Si bien es cierto que han ocurrido cambios significativos de orden diagnóstico y terapéutico en este largo periodo de tiempo, los cuales presumiblemente dificultarán la comparación con protocolos de decisión terapéutica más actuales, también es cierto que la información obtenida en el seguimiento de las pacientes puede ilustrar la historia natural de la enfermedad y el éxito de las medidas terapéuticas implementadas. Además, servirá para establecer una comparación con series de pacientes diagnosticadas y tratadas en esos mismos años.

La supervivencia global observada en las pacientes incluidas en nuestro estudio es similar a la supervivencia descrita en Europa, en Estados Unidos y en España, aunque se sitúa en el extremo superior del rango. Así, la supervivencia global y relativa, tanto a los 5 años (83,9% y 86,8%) como a los 10 años (71% y 73,3%), son comparables a las descritas en el estudio EUROCORE, que estimó una supervivencia media para cáncer de mama a los 5 años del diagnóstico del 76,1% entre los años 1983-1994 (*Sant et al, 2003*), pero que ascendió al 82,2% para el periodo 1994-2003 (*Verdecchia et al, 2007*), periodo de tiempo en el que se enmarca el diagnóstico de enfermedad de nuestra serie. Específicamente, para los casos de cáncer de mama incidentes en el periodo 1995-1999, en el estudio EUROCORE-4 (*Sant et al, 2009*) se estimó una supervivencia observada a los 5 años del 76% y relativa del 82% para la población española. Los resultados de nuestra serie también son comparables a los establecidos por la base de datos GLOBOCAN 2000 (*Parkin et al, 2001 y 2005*), que incluye los descritos en EUROCORE y SEER, y que considera una supervivencia media en Estados Unidos del 81% a los 5 años.

Por otra parte, si comparamos los resultados obtenidos en nuestra población de estudio para supervivencia global, con la descrita en España, específicamente en el estudio epidemiológico del grupo GEI-CAM sobre el cáncer de mama, 'Proyecto El Álamo', llevado a cabo entre los años 1990-1997 (*Martin et al, 2004 y 2006*), que refiere un tiempo medio de supervivencia global de 8,68 años/104,16 meses (IC 95%: 8,50/96,6- 8,85/106,2), de nuevo los datos son ligeramente inferiores a los 9,99 años/119,91 meses (IC

95%: 113,65-126,17) encontrados en este trabajo. Es interesante recordar a este respecto que, entre los 32 hospitales incluidos en el estudio de referencia, no se encuentran las provincias de Granada y Almería, por lo que la información aquí recogida bien podría ayudar a componer el mapa de supervivencia en España.

Por otra parte, si contrastamos la supervivencia relativa de nuestra serie a los 5 años (86,8%), con la referida por el *Registro de Cáncer de Granada*, del 78% para el periodo 1995-1999 para la totalidad de las mujeres con cáncer de mama de la provincia (*Registro de Cáncer de Granada*), de nuevo nuestros datos son levemente superiores.

Como se detalla más adelante, nuestro trabajo ha considerado los factores de supervivencia habituales en cualquier serie de pacientes de cáncer de mama, añadiendo un aspecto especialmente novedoso, esto es, el análisis de la relación existente entre la actividad hormonal atribuida a los disruptores endocrinos-DE de carácter estrogénico contenidos en tejido adiposo mamario -carga estrogénica total efectiva -TEXB-, cuantificada en el momento del diagnóstico, y la supervivencia del grupo de pacientes; dando así respuesta al tercer objetivo planteado en esta Tesis Doctoral. Esta es la novedad principal de este trabajo, la utilización de un biomarcador de estrogenicidad que tiene en consideración el efecto combinado de mezclas de compuestos químicos, bioacumulados en el tejido mamario, testados en el bioensayo E-Screen. La incorporación del biomarcador de actividad hormonal, que integra la respuesta estrogénica de un amplio conjunto de sustancias químicas extraídas del tejido mamario, supuso una visión innovadora de la medida de la exposición en el estudio de casos y controles iniciado en 1996, que estudiaba los factores de riesgo de cáncer de mama. Su empleo en un estudio de supervivencia no está exento de controversia, pero puede ayudar a entender el papel de los DE en el pronóstico de esta enfermedad.

El estudio previo de casos-contrroles realizado por nuestro grupo de investigación había demostrado la existencia de asociación entre la exposición a determinados compuestos orgánicos persistentes, tales como aldrín, lindano y endosulfán, reconocidos mimetizadores hormonales, y el riesgo de enfermedad (cáncer de mama). De igual forma, la medida de carga hormonal exógena, expresada como TEXB de la fracción del extracto tisular que contiene los compuestos bioacumulables, persistentes por su lipofiliidad y difícil metabolismo, también se comportaba como un factor de riesgo para cáncer de mama. La hipótesis subyacente es que el estímulo estrogénico debido a los xenoestrógenos no solo sería un factor

de riesgo para cáncer de mama, sino que esa actividad hormonal puede influir en la evolución posterior de la enfermedad, de forma similar o no, a como lo hizo aumentando el riesgo de enfermedad.

Los hallazgos principales de este estudio sugieren que la expresión del efecto hormonal del conjunto de xenoestrógenos extraídos, en términos de carga estrogénica total efectiva de la fracción alfa (TEXB α), parecen condicionar la evolución de la enfermedad. Así por ejemplo, en el grupo de pacientes premenopáusicas, los valores de TEXB α superiores a la mediana se asocian con una mejor evolución de las pacientes, que presentan tanto mayor supervivencia global como menor probabilidad de recidivas y/o metástasis. Se trata, pues, de un factor protector, aparentemente paradójico, que sin embargo viene a confirmar algunas presunciones patogénicas que previamente habíamos efectuado. Recuérdese que el valor predictivo de TEXB α en cuanto a riesgo de cáncer se ponía de manifiesto tan solo en el grupo de pacientes menopáusicas, para las cuales interpretábamos que la actividad continuada de los xenoestrógenos en el tejido mamario podría haber supuesto un estímulo mitogénico no balanceado que conduciría a la aparición del tumor clínico. Este efecto desaparecía cuando se consideraba la totalidad de la serie de pacientes o se realizaba el análisis de solo el grupo de enfermas premenopáusicas. Ahora, el descubrimiento de una asociación positiva entre carga estrogénica y mayor supervivencia en pacientes premenopáusicas no hace sino reforzar nuestra creencia del papel anti-estrogénico de la carga estrogénica debida a estrógenos ambientales débiles cuando el individuo -la paciente premenopáusica- tiene estrógenos ováricos circulantes. No se trata de una observación nueva. Nuestra propia experiencia y la de otros (*Muñoz de Toro et al, 2006*) nos anima a sugerir una hipótesis patogénica referente a la actividad combinada de xenoestrógenos y estrógenos endógenos según la cual, en la paciente menopáusica, TEXB es un estimulador franco del crecimiento celular, mientras que en la paciente premenopáusica los xenoestrógenos contribuyen a disminuir la actividad estrogénica de los estrógenos endógenos.

En los últimos diez años se han intentado definir los grupos de mujeres que tienen un buen pronóstico, para evitar en la medida de lo posible tratamientos agresivos con quimioterapia adyuvante, mediante la incorporación de diferentes marcadores moleculares. Además, el uso de la tecnología de microarrays y la secuenciación del genoma humano han dado la oportunidad de entender los perfiles moleculares de diferentes tipos de cáncer. La utilización de los receptores hormonales de estrógenos y de progesterona, usados desde mediados de 1970 en el manejo clínico del cáncer de mama, como indicadores

de la sensibilidad a terapia endocrina y como factor pronóstico de recurrencia precoz de la enfermedad, ha sido muy discutida durante los últimos años (*Bardoy et al, 2003*). Sin embargo, en la actualidad se conoce con certeza que los tumores con receptores negativos tienen un peor pronóstico (*EBCTCG, 2005*), aunque sus resultados mejoran con quimioterapia adyuvante, aproximando sus efectos a los obtenidos para tumores con receptores positivos (*Berry et al, 2006*). La determinación en el tumor de la presencia de receptores de estrógenos resulta indispensable, no solamente por su valor pronóstico, sino por su indiscutible valor predictivo de respuesta a la terapia oncoespecífica, mantenida a través del tiempo. No ha ocurrido lo mismo para los receptores de progesterona-RP, que perdieron su carácter de factor predictivo independiente en la década del 90 (*Bezwoda et al, 1991; EBCTCG, 1992*). Desde entonces, diversos estudios han relacionado la pérdida de la expresión del RP con un aumento en la señalización de los factores de crecimiento y de la agresividad del tumor (*Baum et al, 2002; Baum & Buzdar, 2003; Bardou et al, 2003; Cui X et al, 2003 y 2005*). En nuestros días, se ha restablecido la importancia del RP, redefiniéndose como un marcador predictivo de la actividad del RE, de los factores de crecimiento y además, como un marcador indispensable para realizar la indicación de hormonoterapia en las pacientes con cáncer de mama (*Konecny et al, 2003; Ponzzone et al, 2006*).

En este trabajo de Tesis Doctoral los receptores hormonales también han mostrado un papel en el pronóstico de la enfermedad, observándose que tumores con ambos receptores negativos, determinan una disminución en el tiempo de supervivencia global. Aisladamente, la expresión de receptores de progesterona parece asociarse con menor tiempo libre de enfermedad. Por otro lado, y puesto que se disponía de toda la información de exposición a pesticidas organoclorados-disruptores endocrinos en el momento del diagnóstico de los casos, se ha investigado si existe relación entre esta exposición y la expresión de receptores hormonales en el tumor. En general, se observa una mayor concentración de dichos compuestos y de carga hormonal para ambas fracciones cromatográficas -TEXB α y β - en pacientes con tumores que no expresan ninguno de los dos receptores, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas. Al ajustar la expresión de receptores hormonales por TEXB α y estatus menopáusico, tener mayor carga se comporta como factor protector (RR 0,462, IC 95% 0,247-0,864), mientras que no expresar los receptores hormonales (ambos receptores negativos), como factor de mal pronóstico de la enfermedad (RR 1,752, IC 95% 0,979-3,133).

Supervivencia global observada y Supervivencia Libre de Enfermedad

Como se ha comentado a lo largo de esta Tesis Doctoral, el cáncer de mama es el tumor más frecuente en las mujeres occidentales, estimándose que en los países de la Unión Europea, la probabilidad de desarrollar un cáncer de mama antes de los 75 años es del 8% (*Cabanes et al, 2009*). Los datos de los registros del cáncer españoles, indican también que el cáncer de mama es el tumor más frecuente diagnosticado en mujeres, responsable de más del 25% de los casos de cáncer, seguido del cáncer de colon y de cuerpo del útero. La tasa de incidencia, ajustada por edad para el año 2006 fue de 94 por 100.000, una de las más bajas de la UE; aunque, al igual que en otros países occidentales, ha sufrido un considerable aumento, más marcado entre las décadas del 70 al 90 (*López-Abente et al, 2000; Lacey et al, 2002*). Se estima que actualmente en España existen unas 70.000 mujeres diagnosticadas de cáncer de mama en los últimos 5 años.

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, con una amplia gama de presentaciones clínicas y tipos histológicos. Estas razones hacen que el pronóstico individual de las pacientes, al momento del diagnóstico, requiera de un estudio minucioso de todos los parámetros clínicos y anatomopatológicos a los que se pueda acceder. Además, la supervivencia del cáncer de mama en la mujer está estrechamente relacionada tanto con las características del tumor, como con la eficacia de las medidas terapéuticas que se establezcan para cada paciente. Todo esfuerzo realizado en hacer un buen diagnóstico precoz del cáncer de mama redundará en el aumento de la supervivencia y en la mejoría de la calidad de vida de la mujer.

Como ya se ha comentado previamente, las mujeres incluidas en nuestro estudio presentan características similares en supervivencia a las descritas previamente en España, Europa y Estados Unidos. En general, la supervivencia en mujeres con cáncer de mama en España ha mejorado ostensiblemente en las últimas décadas, pasando de un 64% a los 5 años del diagnóstico entre 1980-1985, a un 78% en el periodo 1990-1994 (*Verdecchia et al, 2007; Sant et al 2003*). Pero además, si comparamos los resultados de supervivencia obtenidos en nuestra serie con dos estudios anteriores realizados en la misma área geográfica en los años 80 y 90, es posible identificar una mejora en la precocidad del diagnóstico y en la supervivencia en sí misma. En el primero de los trabajos locales referidos (*Moral et al, 1989*) se describe una edad media al diagnóstico de 56 años, similar a la de nuestro estudio, pero una distribución diferente en

cuanto a subtipos histológicos y estadio. Así, la mitad de los tumores fueron carcinoma ductal infiltrante y en un 50% de los mismos el diagnóstico se efectuó en fases de la enfermedad localmente avanzada y/o distal, presentando un 49% de casos ganglios axilares positivos. La supervivencia global descrita a los 3 años de seguimiento fue del 82% y la supervivencia libre de enfermedad del 63%. Por otra parte, el estudio defendido por Pérez Cabrera en 1996 (*Pérez Cabrera, 1996*), incluía un seguimiento más prolongado, y observaba una supervivencia global a los 10 años del 60% y una supervivencia libre de enfermedad del 22%.

El riesgo de recurrencia (local, locorregional o contralateral) o el desarrollo de metástasis a distancia tras el diagnóstico de cáncer de mama y sus factores predictivos han sido documentados en la literatura (*Touboul et al, 1999; Huston et al, 2005; de Bock et al, 2006; Komoike et al, 2006; Mellekjaer et al, 2006*). Entre ellos, determinadas características de las pacientes y del tumor, que se presentan en el momento del diagnóstico del cáncer de mama y que afectan al riesgo de recidiva locorregional o a distancia. El uso predictivo de variables individualmente no es sencillo debido a interacciones entre las características propias de las pacientes, del tumor y del tratamiento de la enfermedad. Un mayor tamaño tumoral, la presencia de adenopatías regionales, la multifocalidad del tumor primario, márgenes positivos del tumor tras la cirugía, la terapia adyuvante, la historia familiar de cáncer de mama y la asociación con mutaciones genéticas, entre otros factores, se han asociado con el riesgo de recidiva local o a distancia pero con diferente importancia en el pronóstico de la enfermedad (*Clemons et al, 2001*). En nuestra serie, son factores de riesgo de recidiva local o a distancia, el rango de edad 34-39 años respecto a pacientes diagnosticadas de cáncer de mama a mayor edad, el uso previo de anticonceptivos hormonales y, respecto a las características de la enfermedad, un mayor estadio al diagnóstico, un mayor grado histológico, la infiltración de ganglios regionales y la expresión del fenotipo receptor RP positivo. En nuestra serie, aparecen como factores protectores de recidiva local o a distancia el tener antecedente de ooforectomía y un valor de TEXB α por encima del 1º cuartil en el grupo de mujeres premenopáusicas.

Engel y colaboradores (*Engel et al, 2003*), a partir del *Registro Poblacional de Munich*, publicaron que, tras un periodo de seguimiento con una mediana para las pacientes vivas de 8 años, la incidencia de recidivas locorregionales fue del 5,6% y a distancia del 21%. Por su parte, Elder y colaboradores (*Elder et al, 2006*) publicaron una incidencia del 5% a nivel local y del 13% a distancia, incluyendo pacientes tratadas

con cirugía conservadora más radioterapia y aquellas con mastectomía. En nuestra serie, el 28,71% de las pacientes sufren recaída a lo largo del seguimiento, el 9,4% a nivel locorregional y el 23,2% a distancia, con un tiempo medio a recidiva local de 52,84 meses (DE 29,4) y tiempo medio a metástasis de 53,24 meses (DE 37,28). Estos hallazgos indican incidencias de recidivas muy similares a los descritos en estudios poblacionales, pero superiores a los referidos en series clínicas, lo que podría deberse al hecho de tratarse de mujeres con seguimientos activos, mayor detección de la recidiva locorregional o a mujeres perdidas en las series hospitalarias (*Sarasqueta et al, 2009*).

Los factores pronósticos en cáncer de mama, tanto de supervivencia como de recurrencia de la enfermedad, son por tanto indicadores que reflejan las características individuales del tumor y de la paciente. Su análisis y evaluación juegan un papel fundamental en la selección de terapias onco-específicas más efectivas, lo que a su vez minimiza los efectos tóxicos innecesarios producidos por esquemas de tratamientos no adecuados. Además, permiten predecir el pronóstico de la enfermedad, contribuyendo de manera directa al incremento de la supervivencia de las mujeres diagnosticadas con cáncer de mama e incidiendo en la mortalidad por este cáncer (*Willems et al, 2005; Joensuu et al, 2006; Kurebayashi et al, 2007*).

Uno de los principales factores en la mejora de supervivencia en cáncer de mama, referida en la literatura, es el efecto del cribado del cáncer de mama mediante mamografía, que permite diagnosticar estadios más precoces de la enfermedad, aunque su eficacia sigue siendo controvertida (*Mc Tiernan, 2002; Nystrom et al, 2002; García Rodríguez et al, 2010*). Por otro lado, el control de la enfermedad podría deberse también a la mejora en los tratamientos adyuvantes a la cirugía (*Rosso et al, 2010*). Sin embargo, el peso relativo de cada uno de estos factores está aún por dilucidar (*Rosso et al, 2010*).

En España, los programas de cribado poblacionales para mujeres entre 50 y 65 años fueron implementados en todo el territorio español de manera escalonada a partir de 1990 (*Izquierdo et al, 2008*), aunque en Andalucía, según datos del estudio DESCRIC, esta campaña no se inició hasta 1995, siendo su implantación incompleta e irregular (*Castells et al, 2007*). Aunque carecemos de información sobre cómo se produjo el diagnóstico de la enfermedad en las mujeres incluidas en nuestro estudio, podemos intuir que no fue mediante el programa de cribado, ya que el reclutamiento se produjo entre mayo del 1996 y septiembre del 1998.

Algunos autores sugieren que los programas de cribado han tenido un impacto en el aumento de la

incidencia de cáncer de mama en nuestro país hasta llegar a un punto máximo en el año 2001 (*Pollan et al, 2010*). Aunque existe un amplio consenso sobre el beneficio sobre la mortalidad que aportan los programas poblacionales de detección precoz de cáncer de mama (*Nystrom et al., 2002*), parecen existir distintos criterios respecto a los grupos de edad que deben participar en esta práctica de prevención secundaria. Así, las recomendaciones del *US Preventive Task Force* incluyen el grupo de 50 a 74 años, excluyendo el grupo de 40 a 49 años y no se posicionan respecto al grupo de mujeres mayores de 74 años. Por el contrario, *The Society of Breast Imaging* y *el American Collage of Radiology* recomiendan la realización anual de mamografías desde los 40 años (en mujeres con riesgo promedio de desarrollar cáncer de mama), estableciendo el límite superior de edad en función de la esperanza de vida individual (*Lee et al, 2010*). En la comparación de datos de supervivencia entre diferentes series nos encontramos con las dificultades derivadas tanto de la forma de presentación de los resultados, como por ejemplo, el uso de supervivencia observada o relativa (*Parkin et al, 2001*), como por las características mismas de la población de estudio, que pueden variar fuertemente en rangos de edad y estadios diagnósticos.

Afortunadamente, las características generales de nuestra población son similares a las referidas en otros estudios realizados en España durante las dos últimas décadas, lo que nos permite la comparación de resultados. Así, el proyecto 'El Álamo' describe una edad media al diagnóstico de 56,72 años, lo que se corresponde con los 54,27 años descritos en nuestra serie. De igual manera, en el estudio 'El Álamo', aproximadamente un tercio de los casos son diagnosticados en mujeres menores de 50 años, porcentaje similar a los datos observados en nuestra serie (35,15%). En cuanto a las características histológicas de nuestra serie, también hallamos equivalencia con las descritas en otros estudios, con una mayor presencia del tipo histológico ductal (*Soerjomataram et al, 2008*). El 81,7% de las mujeres incluidas en el proyecto 'El Álamo' presentó carcinoma ductal frente al 74,25% en nuestra población, mientras que el tipo lobulillar supuso aproximadamente el 7% en ambos estudios.

Otra información de interés es la distribución por estadio, ya que constituye un indicador de la calidad del diagnóstico en la enfermedad. Cerca del 20% de las pacientes en el estudio 'El Álamo' presentó tumores localmente avanzados (IIIA y IIIB). En nuestro estudio fueron diagnosticados en estadios avanzados sólo el 13,4% de los casos. Estas cifras parecen excesivas para un país europeo, sin embargo podrían ser consecuencia, según los autores de 'El Álamo', del desconocimiento y/o miedo de la población femenina

española frente a esta patología, especialmente en épocas más anteriores a las actuales. Es por tanto necesario incidir en la necesidad de continuar llevando a cabo, entre otras cosas, campañas de divulgación e información sobre esta enfermedad en nuestro país. Por otra parte, el 48% de las mujeres en el estudio 'El Álamo' no tenía afectación de los ganglios axilares, porcentaje algo menor al descrito en nuestra población de estudio, con un 58% de los casos con ganglios negativos. Esta característica de nuestra serie podría constituir un elemento diferenciador, ya que la no afectación ganglionar es determinante para la supervivencia de las pacientes (Flores-Luna et al, 2008) y justificaría que la supervivencia global de nuestro estudio sea ligeramente superior a la descrita en 'El Álamo', situada en 104,16 meses, frente a los 119,91 meses de nuestra serie.

En la mayoría de los trabajos revisados el grado histológico más frecuente es el grado 2, constituyendo aproximadamente el 60% de los casos diagnosticados (Martin et al, 2004). Sin embargo, nuestra población presentó una distribución equivalente entre los grados 2 y 3, 41,29% y 47,1%, respectivamente. Un mayor grado histológico se ha asociado consistentemente con una disminución de la supervivencia a largo plazo (Flores-Luna et al, 2008), hecho que se confirma en nuestra población de estudio donde la supervivencia a 5 y 10 años en las pacientes con grado 1 de diferenciación, fue del 93,8%, mientras que se reduce al 68,5% y al 50,7%, a los 5 y 10 años, respectivamente, para las pacientes diagnosticadas con grado 3. Los programas de detección precoz, junto con los avances diagnósticos y terapéuticos, se han traducido en un incremento de la supervivencia, que se sitúa por encima del 80% a los cinco años del diagnóstico (Cabanes et al, 2009). Por ello, la mortalidad ha perdido validez a la hora de estudiar la frecuencia de aparición de estos tumores, aunque sigue siendo el único indicador disponible para estudiar la variabilidad geográfica dentro y fuera de nuestro país. A nivel internacional, las grandes diferencias observadas hace medio siglo en la mortalidad por este tumor, tienden a desaparecer, proporcionando un patrón mucho más homogéneo. En España, no existe un patrón geográfico claro, destacando solamente la provincia de Gran Canaria como área geográfica de mayor mortalidad.

En general, la mortalidad por cáncer de mama ha disminuido en todo el mundo desarrollado. En España, la mortalidad por cáncer de mama comienza a descender en el año 1992, a un ritmo del 2% anual. Este descenso se observa en todos los grupos de edad, aunque en el grupo de mujeres menores de 45 años se detecta antes y es superior en magnitud (Cabanes et al, 2009). Sin duda, un factor determinante

en esta mejora ha sido la inclusión de nuevos tratamientos adyuvantes tras la cirugía en tumores primarios. Un descenso similar aparece en mujeres entre 45 y 64 años, que además se habrían beneficiado de la detección temprana de tumores palpables. El menor descenso se observa en mujeres mayores de 65 años, lo que podría estar reflejando no ya una menor reducción de la mortalidad en este grupo, sino una mayor supervivencia de los grupos de edad más jóvenes.

Este patrón de disminución afecta a todas las Comunidades Autónomas, aunque el inicio del descenso se produce en diferente momento, al igual que la instauración del programa poblacional de cribado. El descenso de mortalidad más acusado se da en las Islas Baleares, Navarra y La Rioja. Navarra fue la primera Comunidad Autónoma que implantó un programa de diagnóstico precoz, en 1990.

Factores de riesgo de enfermedad. Factores pronósticos

El análisis detallado de los resultados de este trabajo de Tesis Doctoral nos señala que algunas de las variables evaluadas, tanto de carácter sociodemográfico, reproductivo o inherentes a las características de la enfermedad-cáncer de mama, podrían determinar una modificación en el pronóstico de la enfermedad. Así, se ha observado que las variables que determinan menor tiempo de supervivencia global son la edad de la paciente y el estatus menopáusico en el momento del diagnóstico, un mayor estadio tumoral (que incluye tamaño tumoral), un mayor grado de diferenciación celular, la infiltración de ganglios linfáticos regionales y el desarrollo de recidiva y metástasis en el transcurso de la enfermedad. Por el contrario, entre las variables estudiadas que podrían determinar una mayor supervivencia global de las pacientes se encuentran la presentación temprana de la menarquia y una mayor actividad hormonal atribuida a disruptores endocrinos de carácter estrogénico contenidos en tejido mamario y extraídos en la fracción cromatográfica alfa-TEXB α .

Además del pronóstico global de la enfermedad, nos ha interesado estudiar aquellos factores que pudieran modificar el periodo libre de enfermedad o recurrencia, tanto de recidiva como de metástasis. Se ha puesto en evidencia un mayor riesgo de recidiva con el uso previo de anticonceptivos hormonales, un mayor estadio tumoral al diagnóstico de la enfermedad, mayor grado de diferenciación celular, infiltración de los ganglios linfáticos regionales y positividad para los receptores de progesterona. Por el contrario, aquellas pacientes con antecedente de ooforectomía tienen un menor riesgo de recidiva. De nue-

vo, el estímulo estrogénico exógeno -anticonceptivos hormonales- y endógeno, parecen influir en el devenir de la enfermedad una vez instaurada.

Diversos estudios epidemiológicos han identificado varios factores de riesgo de cáncer de mama, todos asociados a un incremento en el tiempo de exposición a estrógenos, endógenos y exógenos: menarquia temprana y menopausia tardía, nuliparidad, edad al primer hijo, lactancia, anticonceptivos orales y terapia hormonal sustitutiva, obesidad especialmente en la postmenopausia, que favorece la conversión de andrógenos a estrógenos en la grasa periférica, y consumo de alcohol, que estimula los niveles totales de estrógenos y la cantidad biodisponible de estradiol. Sin embargo, la asociación entre la mayoría de esos factores y la supervivencia tras el diagnóstico de cáncer de mama es ambigua y pocos trabajos de investigación se han diseñado para estudiarla (*Høyer et al, 2000*).

En este trabajo de Tesis Doctoral nos interesaba conocer si las variables epidemiológicas que en el estudio previo de casos y controles se asociaron a un mayor riesgo de cáncer de mama, como menor IMC (índice de masa corporal), residencia urbana, estudios universitarios, trabajo cualificado, menor número de hijos, mayor edad al primer hijo a término y menor duración de la lactancia, antecedentes familiares de cáncer de mama y consumo de alcohol, se comportarían también como factores pronósticos en las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama. Sin embargo, los resultados encontrados no han podido confirmar esta hipótesis de trabajo.

A este respecto es interesante recordar que trabajos previos de nuestro grupo (*Fernández et al, 2007*) ya establecieron una asociación entre $TEXB \alpha$ y algunos factores de riesgo de cáncer de mama. Así, se observó que $TEXB \alpha$ disminuía de forma lineal con la edad, era mayor en las mujeres premenopáusicas y en aquellas que tenían antecedentes familiares de cáncer de mama o eran fumadoras o exfumadoras. La explicación plausible para estas asociaciones, así como para aquellas para las que no fue posible detectar relación alguna, como con el número de hijos o la lactancia materna, variables tradicionalmente consideradas vías de excreción de compuestos organoclorados, resultó y resulta aún complicada por la falta de estudios sobre el tema con los que poder comparar. Aún así, continuamos apoyando la utilización de biomarcadores de exposición, que deberían ser tenidos en cuenta a la hora de elaborar hipótesis de trabajo en cánceres hormonodependientes, lo que permitiría elaborar mejores conclusiones derivadas de los estudios epidemiológicos y sugerir nuevas investigaciones.

Resulta interesante señalar algunas de las asociaciones observadas entre carga estrogénica de las fracciones alfa y beta y los factores de riesgo para cáncer de mama más frecuentemente referidos como estadísticamente significativos (*Fernández et al, 2007*). Así, se asocia de forma estadísticamente significativa la caída de los valores de carga hormonal (TEXB) y el establecimiento de la menopausia, hecho que no es de sorprender para la estrogenicidad de la fracción beta, que expresa fielmente la actividad hormonal de producción endógena. No obstante, la explicación es menos sencilla para el caso de la estrogenicidad debida a los xenoestrógenos, la cual también decrece con la edad de las pacientes a pesar de que algunos de los pesticidas organoclorados medidos evolucionan en sentido contrario, es decir, las pacientes de mayor edad tienen mayores niveles de DDE. La explicación a esta caída de carga hormonal exógena pudiera venir dada por algunas otras circunstancias que se dan en las pacientes de nuestra serie, como el hallazgo de una pérdida importante de la estrogenicidad acumulada por la lactancia y los embarazos. Este proceso de limpieza de xenobióticos, frecuentemente denunciado, que ocurre en esos periodos explicaría la caída de la actividad hormonal y vendría a señalar a la madre como una de las fuentes de exposición más importantes para el feto y el lactante. A este respecto, la exposición familiar, ya sea relacionada con el ambiente común en el que se desenvuelve la vida de madres, hijas y hermanas, o las idénticas habilidades para detoxificar xenobióticos bioacumulados, determina un idéntico grado de exposición cuando ésta se estima mediante la medida de la carga estrogénica total efectiva de la fracción alfa. Esta asociación entre un factor de riesgo tan potente y el marcador de exposición, no hacen sino añadir interés al estudio del significado biológico de éste último.

Como se expuso en la introducción de este trabajo de Tesis Doctoral, se han realizado, desde los años 80 hasta la actualidad, algunos estudios que relacionan los plaguicidas con actividad xenoestrogénica y el riesgo de cáncer de mama, y desde mediados de los años 90 se han ido introduciendo biomarcadores de exposición, lo que ha supuesto una visión más próxima en la hipótesis de causalidad a la realidad biológica que subyace en un proceso tumoral ligado a este tipo de hormonas. A pesar de la atención prestada al efecto de los xenoestrógenos en la génesis del cáncer de mama, existen pocos estudios que evalúen el efecto y/o modificación de sus niveles a lo largo de la enfermedad y que modifiquen el pronóstico de la misma. Algunos trabajos sugieren que, tanto los cambios ponderales de los enfermos en el curso de la enfermedad (*Nissen et al, 2011*), que pueden determinar la movilización de los depósitos de xeno-

estrógenos durante la movilización grasa (*Schildkraut et al, 1999; Pelletier et al, 2002*), como los tratamientos sistémicos instaurados (*Gammon et al, 1996; Strucinski et al, 2004*) pudieran afectar a los niveles de algunos compuestos organoclorados bioacumulables, de interés en la caracterización de la exposición, que no de ser tenidos en cuenta, podrían falsear los resultados del muestreo biológico y desembocaría en una clasificación inadecuada de las pacientes.

A este respecto es interesante comentar los resultados de un estudio de nuestro grupo de investigación efectuado en un grupo particular de pacientes de cáncer de mama donde se investigó la evolución en el tiempo, durante el curso del tratamiento antineoplásico, de los niveles de exposición a xenoestrógenos así como los valores de la TEXB (*Araque, 2005*). El protocolo incluyó la toma de muestras de sangre y tejido adiposo en cinco etapas: periodo 1 (entre el primer y quinto mes tras la intervención), periodo 2 (entre el noveno y undécimo mes tras la intervención), periodo 3 (entre el mes 12 al 17) y periodo 4 (entre el mes 18 al 22). En cada periodo se realizó una entrevista personalizada junto con la revisión de las correspondientes historias clínicas. Las medidas repetidas de los niveles de residuos de xenoestrógenos bioacumulables en tejido adiposo mamario y abdominal y en sangre periférica han permitido definir un patrón común a la mayor parte de los pesticidas investigados. A partir de los tres meses de instaurado el tratamiento se produce una caída en los niveles de compuestos que tienen un fiel reflejo en el descenso concomitante de los niveles circulantes del mismo residuo. En el caso particular del p,p'-DDE, organoclorado más abundante en las muestras biológicas, las pacientes de menor edad, de hábitat urbano, con nivel de escolaridad alto, que han estado embarazadas y que han recibido quimioterapia con anterioridad y tras el tratamiento quirúrgico, muestran una disminución significativa de los valores medios de p,p'-DDE, que pasan desde una media geométrica de 291,3 ng/g de grasa en tejido adiposo mamario al tiempo de la intervención, a 136,1 a los 18 meses de seguimiento (grasa abdominal periférica).

Además, los valores medios de estrogénicidad de las fracciones cromatográficas alfa y beta fueron TEXB = 335 y 331,9 pM eqE/g lípido (equivalentes de estradiol por gramo de grasa), con un porcentaje de positividad del 72,2 y 94,4%, respectivamente. El tratamiento antitumoral al que son sometidas las pacientes parece ejercer ciertas modificaciones sobre la estrogénicidad del tejido adiposo, de tal manera que las medidas de TEXB para las fracciones alfa y beta, estimadas al tiempo de la intervención quirúrgica se transforman en 148,88, 158,86 y 80,82 eqE/g de lípido para las fracciones alfa y 174,71, 241,72 y 126,21 pM

eqE/g de lípido para las fracciones beta ($p < 0.001$) a los 6, 12 y 18 meses de iniciado el tratamiento anti-neoplásico.

En las pacientes incluidas en el trabajo que recibieron quimioterapia previa a la intervención quirúrgica, momento éste en que se reclutaron para el estudio, los niveles de pesticidas organoclorados al tiempo del reclutamiento fueron significativamente más bajos que en el resto de la serie, lo que sugiere cierto efecto del tratamiento sistémico sobre la carga de xenoestrógenos. Por otra parte, estas pacientes evolucionaron durante los 18 meses de seguimiento de forma particular, produciéndose una mayor caída de los niveles de organoclorados que en el resto de la serie de estudio. En las pacientes que fueron tratadas con quimioterapia postoperatoria y radioterapia, se produjo una caída importante, y estadísticamente significativa, de las concentraciones medias de los pesticidas del grupo del DDT. La caída de los niveles tisulares del pesticida se correlacionan con la presentación sérica del mismo, de tal manera que el cociente entre la concentración de p,p'-DDE en tejido adiposo y en sangre periférica, estimado durante el seguimiento, oscila entre el valor 3,22/3,90 (quimioterapia/radioterapia) en el momento de la intervención y 2,64/3,39 a los 18 meses de seguimiento. En ambas situaciones (quimioterapia/radioterapia), se presenta un punto mínimo (2,16/2,37) a los tres meses de iniciado el tratamiento, que refleja el incremento relativo de los valores del pesticida circulante en los primeros meses de instaurada la terapia antitumoral y sugiere la movilización precoz de los depósitos grasos.

En resumen, nuestros propios resultados sugieren que la exposición a xenoestrógenos, cuantificada tanto como medida individual de DEs, como dosis interna de xenoestrógenos bioacumulados en tejido mamario, cuantificada mediante la aplicación del biomarcador de exposición TEXB, no es constante, sino que factores de índole reproductiva (embarazos o lactancia) o de orden terapéutico con carácter sistémico (quimioterapia) favorecen cambios temporales en la estrogénicidad interna. Las consecuencias de la exposición química (cuantificación cromatográfica del residuo) o biológica (bioensayo de estrogénicidad) a los xenoestrógenos no habían sido investigadas en su relación con la evolución de la enfermedad tumoral y por tanto no era posible asignar un papel pronóstico de la exposición hormonal exógena ni tampoco diseñar medidas terapéuticas complementarias que la contrarresten.

Como se comentó en la introducción de este trabajo de Tesis Doctoral, son pocos los estudios que han evaluado el papel de los pesticidas xenoestrógenos en el pronóstico de la enfermedad y los resultados

son desiguales. Por ejemplo, niveles elevados de dieldrín en mujeres diagnosticadas de cáncer de mama determinan un efecto adverso en el pronóstico de la enfermedad, con un incremento del riesgo de recurrencia de la misma y de tumores RE (receptores de estrógenos) negativos, de acuerdo a los resultados publicados por Hoyer y colaboradores (*Høyer et al, 2000 y 2001*). Por su parte, Demers y colaboradores encontraron que niveles elevados en sangre de p,p'-DDE se relacionaban con mayor afectación ganglionar (*Demers et al, 2000*). También se ha demostrado que una mayor exposición a compuestos organoclorados genera un microambiente estrogénico en tejido adiposo mamario, relacionado con un aumento de la proliferación tumoral a través de la activación de los receptores estrogénicos α (*Muñoz de Toro et al, 2006*). No hemos podido encontrar en la literatura científica ningún estudio que relacione biomarcadores de exposición y su efecto sobre factores pronósticos del cáncer de mama, o específicamente en la supervivencia de la enfermedad. Sin embargo, en este trabajo de Tesis Doctoral, hemos querido estudiar la relación entre la concentración de los compuestos organoclorados, mayoritariamente cuantificados en el tejido adiposo mamario de las pacientes con cáncer de mama en el momento del diagnóstico, y los factores pronósticos conocidos. Los resultados indican que, en general, tienen mayor concentración de plaguicidas aquellas pacientes con características de mejor pronóstico, es decir, aquellas con menor estadio al diagnóstico, negatividad en los ganglios linfáticos axilares, grados 1 y 2 de diferenciación celular y no recurrencia de la enfermedad. Son estadísticamente significativas las diferencias en las concentraciones en grasa peritumoral para los compuestos endosulfán-éter y estadio de la enfermedad y grado, y las diferencias entre concentración de lindano y estadio tumoral.

Como se comentó con anterioridad, el cáncer de mama muestra una gran influencia a una mayor exposición de la glándula mamaria a los estrógenos circulantes. En este sentido, diferentes estudios han encontrado que la terapia hormonal posmenopáusica incrementa ligeramente el riesgo (*Armstrong et al, 2000; Verkasalo & Banks, 2001; Beral et al, 2011*).

Otras exposiciones de riesgo investigadas en la literatura incluyen el sedentarismo, la exposición precoz a altas dosis de radiaciones ionizantes, el consumo de alcohol, el alto consumo de grasa, el menor consumo de folatos, el tabaco y los campos electromagnéticos de muy baja frecuencia. La distribución de estos factores en relación al nivel socioeconómico podría explicar la mayor incidencia observada en las mujeres de clase social más elevada (*Cabanes et al, 2009*). Determinadas profesiones -profesoras, far-

macéuticas, trabajadoras sanitarias, empleadas de la industria química, trabajadoras de telefonía y radio y peluqueras- muestran también una incidencia mayor, aunque es difícil deslindar la influencia de factores específicamente ocupacionales (*Pollán, 2001*).

Entre los factores de riesgo de cáncer previamente definidos que se han estudiado en relación con la supervivencia en la serie de cáncer de mama de este trabajo de Tesis Doctoral, se ha hallado una asociación estadísticamente significativa entre las variables edad, el estatus menopáusico, la edad de la menarquia, el antecedente de extirpación quirúrgica de los ovarios y el uso previo de anticonceptivos hormonales y la supervivencia global de las pacientes, lo que sugiere un papel de los estrógenos no solo en la génesis de la enfermedad sino también en su evolución. No se ha observado relación estadísticamente significativa entre el resto de variables sociodemográficas, reproductivas y de estilos de vida con la supervivencia de las pacientes de la serie.

Por otro lado, los antecedentes familiares de cáncer de mama, que suponen un considerable aumento del riesgo, no parecen tener un peso importante sobre la evolución de la enfermedad, al menos en nuestra población de estudio. Las mujeres con alteraciones en alguno de los dos principales genes de susceptibilidad, BRCA1 y BRCA2, tienen una probabilidad entre el 60% y el 80% de desarrollar cáncer de mama a lo largo de la vida (*Armstrong et al, 2000*), lo que explica una pequeña proporción de los casos familiares. Las pacientes con antecedentes familiares de cáncer de mama de nuestra serie, que no fueron tipificadas genéticamente para la mutación de alguno de los genes mencionados, no presentaron un pronóstico de su enfermedad distinto de aquellas pacientes sin antecedentes.

La representatividad poblacional de la serie de casos de cáncer de mama recogidos para este trabajo de Tesis Doctoral podría condicionar la extrapolación de los resultados encontrados y descritos a la totalidad de la población. A este respecto, es interesante señalar que los casos se reclutaron en los centros hospitalarios terciarios, que es donde se realizaba entre 1996 y 1998 la cirugía oncológica de mama en Granada y Almería y, por tanto, al margen de la edad límite señalada en la definición de caso, deben considerarse representativos de la población de pacientes con nuevo diagnóstico de cáncer de mama de la región. Otra característica destacable de este estudio es que la muestra biológica elegida para la determinación de la concentración de organoclorados y la carga estrogénica, es el tejido adiposo en lugar de la sangre. Tradicionalmente se ha considerado que la determinación de organoclorados en tejido adipo-

so representa más fielmente la exposición acumulada a este tipo de sustancias, entre otras razones debido a su alta liposolubilidad y a que los datos de concentración obtenidos en sangre-suero requieren ser ajustados por el contenido lipídico de la muestra y recogidos en situaciones de ayuno para poder ser comparables.

Varios factores han sido estudiados con la finalidad de establecer criterios para una validación objetiva del pronóstico de las pacientes con cáncer de mama. Las diferencias en supervivencia son observadas en relación con la edad al diagnóstico de la enfermedad, teniendo, en general, un pronóstico más favorable las mujeres de mayor edad, aunque algunos estudios ofrecen controversias en relación al efecto de la edad en el pronóstico de la enfermedad. En realidad son muchos los factores pronósticos identificados en el seguimiento de las pacientes con cáncer de mama, aunque no todos han sido validados y reconocidos como tales en las diferentes series de pacientes.

Nuestro trabajo confirma el valor pronóstico de algunos de ellos (estadio al diagnóstico, que incluye la afectación de ganglios axilares y presencia de metástasis, y el grado histológico) y fracasa a la hora de poner de manifiesto la significación de otros. Las limitaciones inherentes a las características de nuestra muestra, entre ellas que es una cohorte de base hospitalaria con criterios de selección definidos a priori y con un reducido tamaño muestral, junto con la validez de calidad de los registros utilizados, que por ejemplo impide evaluar de forma estratificada la edad y los datos desconocidos fundamentalmente referidos al tratamiento, deben ser tenidas en cuenta a la hora de establecer conclusiones de orden general. Aunque hemos ajustado por potenciales confusores, no se puede excluir la influencia de otros factores que no se han tenido en cuenta, como los tipos de tratamiento, la actividad física, entre otros, o aquellos que no se han recogido o que están incompletos.

A pesar de los buenos resultados generales obtenidos, aún en una fracción de cerca del 30% de las pacientes, los protocolos terapéuticos no son eficaces para controlar la progresión de la enfermedad tumoral, de tal manera que las muertes atribuibles al proceso tumoral suponen un 20% del total de la población. Entendemos que los progresos terapéuticos efectuados en los últimos años han ayudado a disminuir el número de muertes atribuibles al cáncer de mama, pero queremos recomendar también la necesidad de incorporar la medida de la exposición interna a xenoestrógenos en series más amplias de pacientes, que permitan efectuar un análisis más preciso de su papel en la génesis y la evolución de la enfermedad.

Por su importancia, la investigación, el diagnóstico y el tratamiento del cáncer de mama deben ser aspectos considerados como prioritarios dentro de las políticas sanitarias, tanto nacionales como autonómicas. Desde el punto de vista de la prevención primaria es necesario continuar insistiendo en la disminución de la exposición a contaminantes ambientales-DE aun no teniendo la certeza de que contribuyen a la génesis y al pronóstico de la enfermedad. Además, desde el punto de vista de la prevención secundaria es importante continuar con los programas de diagnóstico precoz, evitar los retrasos diagnósticos y asegurar a las pacientes la mejor estrategia terapéutica. Por otra parte, la investigación etiológica debe continuar, ya que los factores establecidos explican aún menos del 50% de los casos observados (*Johnson-Thompson & Guthrie, 2000*).

CONCLUSIONES

El análisis de los resultados del presente estudio y su comparación con los datos publicados al respecto en la literatura científica permiten, a nuestro juicio, formular las siguientes conclusiones:

1. La supervivencia global (observada y relativa) de las enfermas de cáncer de mama incluidas en nuestra serie, se sitúa en torno al 80% a los 5 años y al 70% a los 10 años. Estos resultados son comparables a los descritos en estudios realizados durante el mismo periodo en otras regiones de España, de Europa y de E.E.U.U. Puesto que las pacientes que constituyen nuestra serie fueron reclutadas siguiendo criterios nada restrictivos en cuanto a características clínicas, biológicas y anatomo-patológicas, los resultados de supervivencia podrían ser extrapolables a la totalidad de la población de procedencia.

2. El 28,71% de las pacientes sufren **recidiva local o a distancia** a lo largo del seguimiento. Estos porcentajes son superiores en comparación con los descritos en otros registros poblacionales. El resto de variables referidas a las características de la enfermedad y la edad de las pacientes en el momento del diagnóstico son similares a datos publicados en otros estudios, lo que permite la comparación de nuestros resultados con otras series. Son factores de riesgo de recidiva local o a distancia (SLE), el grupo de edad entre 34 y 39 años, el uso previo de anticonceptivos hormonales, un mayor estadio al diagnóstico, un mayor grado histológico, la infiltración de ganglios regionales y la expresión del fenotipo receptor RP positivo.

3. Los factores determinantes de supervivencia global en la nuestra serie son coincidentes con los descritos en la literatura científica; esto es: i) edad de las pacientes, que se asocia significativamente con el estadio al diagnóstico, ii) estatus post-menopáusico, que a su vez se asocia a un mayor índice de masa corporal, mayor edad y estadio más avanzado al diagnóstico, iii) estadio, que engloba tanto tamaño tumoral como la existencia y número de adenopatías, y iv) el desarrollo de recidiva locorregional y/o metástasis a distancia a lo largo del seguimiento, que ensombrece el pronóstico.

4. No parecen ser determinantes de la supervivencia, tanto global como libre de enfermedad, los factores de riesgo de enfermedad estudiados en el estudio previo de casos y controles y que se asociaron con el riesgo de enfermedad. Así, tanto el índice de masa corporal al diagnóstico como las variables socio-demográficas, de estilo de vida, los tratamientos hormonales previos, el tener antecedentes familiares de cáncer de mama y la historia reproductiva, no mostraron una asociación significativa con el riesgo de muerte. Tan solo, una presentación tardía de la menarquia se comporta como factor de mal pronóstico de la enfermedad.

5. **La hormonodependencia tumoral**, caracterizada por la presencia de receptores intracelulares para los estrógenos y progestágenos, es de nuevo un elemento crucial para predecir la evolución de la enfermedad, tanto en lo que respecta al pronóstico como a la respuesta a las hormonas endógenas y exógenas. Así pues, un fenotipo receptor negativo para ambos receptores (RE y RP) se asocia con una disminución en el tiempo de supervivencia global de nuestra serie.

6. De importancia particular es el comportamiento de la enfermedad en **pacientes con una mayor exposición ambiental a contaminantes estrogénicos**, identificadas mediante la estimación de la carga estrogénica total efectiva en el tejido mamario, en el momento del diagnóstico de la enfermedad. Así, mayor **carga estrogénica total efectiva de la fracción cromatográfica alfa -TEXB α** se comporta como un factor protector, asociándose a una mejor evolución de la enfermedad lo que resulta en una mayor supervivencia global y mayor supervivencia libre de enfermedad. Interesante es el hecho de que la ooforectomía sea también un factor protector, por lo que podemos sugerir que el estímulo mitogénico de los xenoestrógenos es distinto según se trate de enfermas premenopáusicas o con la menopausia instaurada. En la primera de las situaciones, un mayor valor de TEXB α , que representa la estrogenicidad de estrógenos débiles, frecuentemente antagonistas de los estrógenos endógenos, supondría un bloqueo del estímulo mitogénico endógeno. Este efecto protector desaparece en las pacientes menopáusicas donde tan solo el estímulo estrogénico débil de los xenoestrógenos está presente.

7. A pesar de los buenos resultados generales obtenidos, aún en una fracción de cerca del 30% de las pacientes los protocolos terapéuticos no son eficaces para controlar la progresión de la enfermedad tumoral, de tal manera que las muertes atribuibles al proceso tumoral suponen un 20% del total de la población. Entendemos que los progresos terapéuticos efectuados en los últimos años han ayudado a disminuir el número de muertes atribuibles al cáncer de mama, pero queremos recomendar también la necesidad de incorporar la medida de la exposición interna a xenoestrógenos en series más amplias de pacientes, que permitan efectuar un análisis más preciso de su papel en la génesis y la evolución de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

A

- ⊙ Abner AL, Collins L, Peiro G, et al. Correlation of tumor size and axillary lymph node involvement with prognosis in patients with T1 breast carcinoma. *Cancer* 1998;83:2502-8.
- ⊙ Ahlborg UG, Lipworth L, Titus-Ernstoff L, et al. Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer, and endometriosis: an assessment of the biological and epidemiological evidence. *Crit Rev Toxicol* 1995;25(6):463-531. Review.
- ⊙ Albrektsen G, Heuch I, Thoresen SØ. Histological type and grade of breast cancer tumors by parity, age at birth, and time since birth: a register-based study in Norway. *BMC Cancer* 2010;10:226.
- ⊙ Althuis MD, Brogan DD, Coates RJ, et al. Breast cancers among very young premenopausal women (United States). *Cancer Causes Control* 2003;14(2):151-60.
- ⊙ Althuis MD, Dozier JD, Anderson WF, et al. Global trends in breast cancer incidence and mortality 1973-1997. *Int J Epidemiol* 2005;34:405-12.
- ⊙ American Joint Committee on Cancer. *AJCC cancer staging manual*, 6th ed. New York:Springer, 2002.
- ⊙ Anbazhagan R, Gusterson BA. Prenatal factors may influence predisposition to breast cancer. *Eur J Cancer* 1994;30A(1):1-3.
- ⊙ Anders CK, Johnson R, Litton J, et al. Breast cancer before age 40 years. *Semin Oncol* 2009;36(3):237-49.
- ⊙ Araque P. Evolución de la exposición a xenoestrógenos en pacientes afectas de cáncer de mama durante el curso del tratamiento antineoplásico. Tesis Doctoral. Universidad de Granada (2005).
- ⊙ Armstrong K, Eisen A, Weber B. Assessing the risk of breast cancer. *New Engl J Med* 2000;342:564-71.
- ⊙ Armstrong K, Moye E, Williams S, et al. Screening mammography in women 40 to 49 years of age: a systematic review for the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2007;146(7):516-26.
- ⊙ Aronson KJ, Miller AB, Woolcott CG, et al. Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(1):55-63.
- ⊙ Arroyo M, Molina R, López JL, et al. Cáncer de mama (I). *Medicine* 2009;10(24):1575-82.
- ⊙ Autier P, Boniol M, La Vecchia C, et al. Disparities in breast cancer mortality trends between 30 European countries: retrospective trend analysis of WHO mortality database. *BMJ* 2010;341:c3620.

⊙ Axelsson CK, Mouridsen HT, Zedeler K. Axillary dissection of level I and II lymph nodes is important in breast cancer classification. The Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). *Eur J Cancer* 1992;28A:1415-18.

B

⊙ Baak JP, Gudlaugsson E, Skaland I, et al. Proliferation is the strongest prognosticator in node-negative breast cancer: significance, error sources, alternatives and comparison with molecular prognostic markers. *Breast Cancer Res Treat* 2009;115(2):241-54.

⊙ Badia-Vila M, Ociepa M, Mateo R, et al. Comparison of residue levels of persistent organochlorine compounds in butter from Spain and from other European countries. *J Environ Sci Health B* 2000;35(2):201-10.

⊙ Baquet CR, Commiskey P. Socioeconomic factors and breast carcinoma in multicultural women. *Cancer* 2000;88(5 Suppl):1256-64.

⊙ Bardou VJ, Arpino G, Ellege RM. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol* 2003;21:1973-9.

⊙ Baum M, Buzdar A. The current status of aromatase inhibitors in the management of Breast cancer. *Sur Clin North Am* 2003;83:973-94.

⊙ Baum M, Budzar AU, Cuzick J, et al; ATAC Trialists' Group. Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: First results of the ATAC randomized trial. *Lancet* 2002; 359: 2131-39.

⊙ Becker S, Kaaks R. Exogenous and endogenous hormones, mammographic density and breast cancer risk: can mammographic density be considered an intermediate marker of risk? *Recent Results Cancer Res* 2009;181:135-57. Review.

⊙ Beral V, Reeves G, Bull D, et al; Million Women Study Collaborators. Breast cancer risk in relation to the interval between menopause and starting hormone therapy. *J Natl Cancer Inst* 2011;103(4):296-305.

⊙ Berry DA, Cirincione C, Henderson IC. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA* 2006;295:1658.

⊙ Bezwoda WR, Esser JD, Dansey R, et al. The value of estrogen and progesterone receptor determina-

tions in advanced breast cancer. Estrogen receptor level but not progesterone receptor level correlates with response to tamoxifen. *Cancer* 1991;68:867-72.

- ◉ Bloom HJG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 1957;11:359-77.
- de Bock GH, van der Hage JA, Putter H, et al. Isolated Loco-Regional Recurrence of Breast Cancer Is More Common in Young Patients and Following Breast Conserving Therapy: Long-Term Results of European Organization for Research and Treatment of Cancer Studies. *Eur J Cancer* 2006;42:351-56.
- ◉ Botella B, Crespo J, Rivas A, et al. Exposure of women to organochlorine pesticides in Southern Spain. *Environ Res* 2004;96(1):34-40.
- ◉ Boyle P, Autier P, Bartelink H, et al. European Code Against Cancer and scientific justification: third version (2003). *Ann Oncol* 2003;14(7):973-1005.
- ◉ Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248-54.
- ◉ van den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun SS, et al. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 2000;152(6):514-27.
- ◉ Breast. In: Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al, eds: *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed New York, NY: Springer, 2010, pp 347-76.
- ◉ Burnet NG, Jefferies SJ, Benson RJ, et al. Years of life lost (YLL) from cancer is an important measure of population burden--and should be considered when allocating research funds. *Br J Cancer* 2005;92(2):241-5.

C

- ◉ Cabanes A, Pérez-Gómez B, Aragonés N, et al. *La situación del cáncer en España, 1975-2006*. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, 2009.
- ◉ Cabanes A, Vidal E, Pérez-Gómez B, et al. Age-specific breast, uterine and ovarian cancer mortality trends in Spain: changes from 1980 to 2006. *Cancer Epidemiol* 2009;33(3-4):169-75.
- ◉ Caldarella A, Crocetti E, Bianchi S, et al. Female Breast Cancer Status According to ER, PR and HER2 Expression: A Population Based Analysis. *Pathol Oncol Res* 2011 (in press).
- ◉ Campoy C, Jiménez M, Olea-Serrano MF, et al. Analysis of organochlorine pesticides in human milk:

preliminary results. *Early Hum Dev* 2001;65 Suppl:S183-90.

- ⊙ Canfell K, Banks E, Moa AM, et al. Decrease in breast cancer incidence following a rapid fall in use of hormone replacement therapy in Australia. *Med J Aust* 2008;188:641-44.
- ⊙ Carreño J, Rivas A, Granada A, et al. Exposure of young men to organochlorine pesticides in Southern Spain. *Environ Res* 2007;103(1):55-61.
- ⊙ Carson R. *Silent Spring*. New York 1962: Houghton Mifflin Company.
- ⊙ Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181-87.
- ⊙ Casey PM, Cerhan JR, Pruthi S. Oral contraceptive use and risk of breast cancer. *Mayo Clin Proc* 2008;83(1):86-90;quiz 90-1.
- ⊙ Castells S, Sala M, Ascunce N, et al; coordinadores. Proyecto DESCRIC. Madrid: Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad y Consumo. Agència d'Avaluació de Tecnologia i Recerca Mèdiques de Catalunya, 2007. Informes de Evaluació de Tecnologies sanitàries, AATRM núm. 2006/0.
- ⊙ CDC (Center of Disease Control and Prevention). National Center for Environmental Health. National Report on Human exposure to Environmental Chemicals. NCEH Pub 2001; No 01-0379. Atlanta, USA.
- ⊙ Centers for Disease Control. Premature mortality in the United States: public health issues in the use of years of potential life lost. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep* 1986;35,1S-11S.
- ⊙ Cerrillo I, Granada A, López-Espinosa MJ, et al. Endosulfan and its metabolites in fertile women, placenta, cord blood and human milk. *Environ Res* 2005;98(2):233-39.
- ⊙ Cerrillo I, Olea-Serrano MF, Ibarluzea J, et al. Environmental and lifestyle factors for organochlorine exposure among women living in Southern Spain. *Chemosphere* 2006;62(11):1917-24.
- ⊙ Chirlaque MD, Salmerón D, Ardanaz E, et al. Cancer survival in Spain: estimate for nine major cancers. *Ann Oncol* 2010;21 Suppl 3:iii21-9.
- ⊙ Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist* 2004;9(6):606-16.
- ⊙ Clark GM. Do we really need prognostic factors for breast cancer? *Breast Cancer Res Treat* 1994;30:117-26.
- ⊙ Clemons M, Danson S, Hamilton T, et al. Locoregionally recurrent breast cancer: incidence, risk factors and survival. *Cancer Treat Rev* 2001;27(2):67-82.

- ⊙ Colborn T, Clement C. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/Human connection. Princeton, 1992; NJ: Princeton Scientific Publishing.
- ⊙ Colborn T, Clement C. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/Human connection. Princeton 1993, NJ: Princeton Scientific Publishing.
- ⊙ Colditz GA, Sellers TA, Trapido E. Epidemiology-identifying the causes and preventability of cancer? Nat Rev 2006;6:75-83.
- ⊙ Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer (CGHFBC). Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. Br J Cancer 2002;87(11):1234-45.
- ⊙ Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. Lancet 2002;360(9328):187-95.
- ⊙ COM706. Comisión de las Comunidades Europeas. Estrategia comunitaria en materia de alteradores endocrinos (Sustancias de las que se sospecha interfieren en los sistemas hormonales de seres humanos y animales). Bruselas. 1999.
- ⊙ Consejería De Salud. Plan Integral de Oncología de Andalucía 2002-2006. Disponible en www.junta-deandalucia.es.
- ⊙ Corvalán A. Perfiles de expresión génica en decisiones terapéuticas en cáncer de mama. Rev Méd Chile 2007;135:257-63.
- ⊙ Cronin KA, Ravdin PM, Edwards BK. Sustained lower rates of breast cancer in the United States. Breast Cancer Res Treat 2009;117:223-4.
- ⊙ Cui X, Schiff R, Arpino G, et al. Biology of progesterone receptor loss in Breast Cancer and its implications for endocrine therapy. J Clin Oncol 2005;23:7721-35.
- ⊙ Cui X, Zhang P, Deng W, et al. Insuline like growth factor-1 inhibits progesterone receptor expression in breast cancer cells via the phosphatidylinositol 3 kinase/AKT/mammalian target of rapemycin pathway:
- ⊙ Progesterone receptor as a potential indicator of growth factor activity in breast cancer. Mol Endocrinol 2003;17:575-88.

D

- ⊙ Danaei G, Vander Hoorn S, Lopez AD, et al; Comparative Risk Assessment collaborating group (Cancers). Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *Lancet* 2005;366(9499):1784-93.
- ⊙ Davis DL, Bradlow HL, Wolff M, et al. Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. *Environ Health Perspect* 1993;101(5):372-7. Review.
- ⊙ Demers A, Ayotte P, Brisson J, et al. Risk and aggressiveness of breast cancer in relation to plasma organochlorine concentrations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(2):161-6.
- ⊙ Dewailly E, Ayotte P, Brisson J, et al. Breast cancer and organochlorines. *Lancet* 1994;344(8938):1707-8.
- ⊙ Díez MC, Ortega P, Villanueva R, et al. Características epidemiológicas relacionadas con el cáncer de mama en mujeres pre y postmenopáusicas. *Med Clin (Barc)* 2000;115:281-6.
- ⊙ Dolk H, Vrijheid M. The impact of environmental pollution on congenital anomalies. *British Medical Bull* 2003;68:25-45.
- ⊙ Domínguez MA, Marcos M, Meiriño R, et al. Prognostic and predictive factors in early breast cancer. *ANALES Sis San Navarra* 2001;24 (Supl 1):99-110.
- ⊙ Dorgan JF, Stanczyk FZ, Kahle LL, et al. Prospective case-control study of premenopausal serum estradiol and testosterone levels and breast cancer risk. *Breast Cancer Res* 2010;12(6):R98.

E

- ⊙ Early Breast Cancer Trialist Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. *Lancet* 2005;365:1687.
- ⊙ Early Breast Cancer Trialist Collaborative Group (EBCTCG). Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy: 133 randomized trials involving 31 recurrences and 24 000 deaths among 75 000 women. *Lancet* 1992;339:75-81.

- ⊙ Elandt-Johnson RC, Johnson NL. Survival models and data analysis. New York 1980: John Wiley and Sons, 480p.
- ⊙ Elder EE, Kennedy CW, Gluch L, et al. Patterns of breast cancer relapse. Eur J Surg Oncol 2006;32(9):922-7.
- ⊙ Engel J, Eckel R, Aydemir U, et al. Determinants and prognoses of locoregional and distant progression in breast cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2003;55:1186-95.
- ⊙ European Workshops on Endocrine Disrupters. European Commission, Environment DG. 2001.

F

- ⊙ Falck F Jr, Ricci A Jr, Wolff MS, et al. Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. Arch Environ Health 1992;47(2):143-6.
- ⊙ Ferlay J, Autier P, Boniol M, et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. Ann Oncol 2007;18(3):581-92.
- ⊙ Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. Eur J Cancer 2010;46(4):765-81.
- ⊙ Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 2010;127(12):2893-917. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>.
- ⊙ Fernandez MF, Araque P, Kiviranta H, et al. PBDEs and PBBs in the adipose tissue of women from Spain. Chemosphere 2007;66(2):377-83.
- ⊙ Fernandez MF, Aguilar-Garduño C, Molina-Molina JM, et al. The total effective xenoestrogen burden, a biomarker of exposure to xenoestrogen mixtures, is predicted by the (anti)estrogenicity of its components. Reprod Toxicol 2008;26(1):8-12.
- ⊙ Fernández MF, Arrebola JP, Taoufiki J, et al. Bisphenol A and chlorinated derivatives in adipose tissue of women. Reprod Toxicol 2007;24:259-64.
- ⊙ Fernández MF, Pedraza V, Olea N. Estrogens in the environment: is there a breast cancer connection? Cancer J 1998;11:11-7.
- ⊙ Fernández MF, Rivas A, Olea-Serrano F, et al. Assessment of total effective xenoestrogen burden in adipose tissue and identification of chemicals responsible for the combined estrogenic effect. Anal Bioanal

Chem 2004;379(1):163-70.

- ⊙ Fernandez MF, Santa-Marina L, Ibarluzea JM, et al. Analysis of population characteristics related to the total effective xenoestrogen burden: a biomarker of xenoestrogen exposure in breast cancer. *Eur J Cancer* 2007;43(8):1290-9.
- ⊙ Fisher ER, Anderson S, Redmond C, et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project Protocol B-06: 10 year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer* 1993; 71:2507-14.
- ⊙ Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologist Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:966-78.
- ⊙ Flores-Luna L, Salazar-Martínez E, Duarte-Torres RM, et al. Factores pronósticos relacionados con la supervivencia del cáncer de mama. *Salud Publica Mex* 2008;50:119-25.

G

- ⊙ Gammon MD, Wolff MS, Neugut AI, et al. Treatment for breast cancer and blood levels of chlorinated hydrocarbons. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5(6):467-71.
 - ⊙ García AM, Fletcher T, Benavides FG, et al. Parental agricultural work and selected congenital malformations. *Am J Epidemiol* 1999;149(1):64-74.
 - ⊙ García Rodríguez J, García Colmenero C, Clèries Soler R, et al. Five years survival of women diagnosed with breast cancer during the period 1997-1999 in Toledo-Centro and Mancha Area, Spain. *Rev Esp Salud Publica* 2010;84(6):843-50.
 - ⊙ Gentil-Brevet J, Colonna M, Danzon A, et al. The influence of socio-economic and surveillance characteristics on breast cancer survival: a French population-based study. *Br J Cancer* 2008;98(1):217-24.
 - ⊙ Giordano S.H. Update on locally advanced breast cancer. *Oncologist* 2003;8,521-30.
- Gipponi M, Bassetti C, Canavese G, et al. Sentinel lymph node as a new marker for therapeutic planning in breast cancer patients. *J Surg Onco* 2004; 85(3):102-11.
- ⊙ Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, et al. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90(21):1601-8.
 - ⊙ Goldman LR. Preventing pollution? US toxic chemicals and pesticides policies and sustainable deve-

lopment. Inform Environmental Law Report News & Analysis; 32. Washington DC (EEUU): Instituto de Ley Medioambiental; 2002.

⊙ Green FL, Page DL, Fleming ID, et al; editors. AJCC Cancer staging manual, 6th edition. New York: Springer; 2002.

⊙ Greenland S. Modeling and variable selection in epidemiologic analysis. Am J Public Health 1989;79:340-9.

⊙ Güttes S, Failing K, Neumann K, et al. Chlororganic pesticides and polychlorinated biphenyls in breast tissue of women with benign and malignant breast disease. Arch Environ Contam Toxicol 1998;35(1):140-7.

H

⊙ Hall JM, Lee MK, Newman B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. Science 1990;250:1684-9.

⊙ Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. J Clin Oncol 2010;28(16):2784-95.

⊙ Hansen LG. Stepping backward to improve assessment of PCB congener toxicity. Environ Health Perspect 1998;106(Suppl 1):171-89.

⊙ Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Huang HY, et al. Serum concentrations of organochlorine compounds and the subsequent development of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999;8(6):525-32.

Henson DE, Ries L. Relationship among outcome, stage of disease and histologic grade in 22,616 cases of breast cancer. Cancer 1991;68:2142-9.

⊙ Hernández F, Pitarch E, Serrano R, et al. Multiresidue determination of endosulfan and metabolic derivatives in human adipose tissue using automated liquid chromatographic cleanup and gas chromatographic analysis. J Anal Toxicol 2002;26(2):94-103.

⊙ Hershcopf RJ, Bradlow HL. Obesity, diet, endogenous estrogens, and the risk of hormone-sensitive cancer. Am J Clin Nutr 1987;45(1 Suppl):283-9.

⊙ Hilsenbeck SG, Ravdin PM, de Moor CA, et al. Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer. Breast Cancer Res Treat 1998;52:227-37.

- ⊙ Horwitz KB, Koseki Y, Maguire WL. Estrogen control of progesterone receptor in human breast cancer: role of estradiol and antiestrogen. *Endocrinol* 1978;103:1742-51.
- ⊙ Høyer AP, Grandjean P, Jørgensen T, et al. Organochlorine exposure and risk of breast cancer. *Lancet* 1998;352(9143):1816-20.
- ⊙ Høyer AP, Jørgensen T, Brock JW, et al. Organochlorine exposure and breast cancer survival. *J Clin Epidemiol* 2000;53(3):323-30.
- ⊙ Høyer AP, Jørgensen T, Grandjean P, et al. Repeated measurements of organochlorine exposure and breast cancer risk (Denmark). *Cancer Causes Control* 2000;11(2):177-84.
- ⊙ Høyer AP, Jørgensen T, Rank F, et al. Organochlorine exposures influence on breast cancer risk and survival according to estrogen receptor status: a Danish cohort-nested case-control study. *BMC Cancer* 2001;1:8.
- ⊙ Hunter DJ, Hankinson SE, Laden F, et al. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1997;337(18):1253-8.
- ⊙ Huston TL, Simmons RM. Locally Recurrent Breast Cancer after Conservation Therapy. *Am J Surg* 2005;189:229-35.

I

- ⊙ Ibarluzea Jm J, Fernández MF, Santa-Marina L, et al. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes Control* 2004;15(6):591-600.
- ⊙ Ibarluzea JM. Disruptores endocrinos y cáncer de mama. Estudio de casos y controles: Granada y Almería. [Tesis Doctoral]. Universidad del País Vasco (2003).
- ⊙ Izquierdo A, Gispert R, Saladie F, et al. Análisis de la incidencia, la supervivencia y la mortalidad según las principales localizaciones tumorales, 1985-2019: cáncer de mama. *Med Clin (Barc)* 2008;131(Supl 1):50-2.

J

- ⊙ Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61(2):69-90.
- ⊙ Joensuu H, Kellokumpu-Lehtinen PL, Bono P, et al; FinHer Study Investigators. Adjuvant docetaxel or

vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *N Engl J Med* 2006;354(8):809-20.

⊙ Johnson-Thompson, Guthrie J. Ongoing research to identify environmental risk factors in breast cancer. *Cancer* 2000;88:1224-9.

K

⊙ Kelsey JL, Gammon MD. The epidemiology of breast cancer. *CA Cancer J Clin* 1991;41(3):146-65. Review.
Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15(1):36-47. Review.

⊙ Kelsey JL, Horn-Ross PL. Breast cancer: magnitude of the problem and descriptive epidemiology. *Epidemiol Rev* 1993;15(1):7-16.

⊙ Key T, Appleby P, Barnes I, et al; Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(8):606-16.

⊙ Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001;2(3):133-40. Review.

⊙ Kollias J, Elston CW, Ellis IO, et al. Early-onset breast cancer: histopathological and prognostic considerations. *Br J Cancer* 1997;75:1318-23.

⊙ Komoike Y, Akiyama F, Iino Y, et al. Ipsilateral Breast Tumor Recurrence (Ibtr) after Breast-Conserving Treatment for Early Breast Cancer: Risk Factors and Impact on Distant Metastases. *Cancer* 2006;106:35-41.

⊙ Konecny G, Pauletti G, Pegram M, et al. Quantitative association between HER2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:142-53.

⊙ Kortenkamp A. Breast cancer, oestrogens and environmental pollutants: a re-evaluation from a mixture perspective. *Int J Androl* 2006;29(1):193-8.

⊙ Kortenkamp A, Altenburger R. Synergisms with mixtures of xenoestrogens: a reevaluation using the method of isoboles. *Sci Total Environ* 1998;221(1):59-73.

⊙ Krag D, Weaver D, Ashikaga T, et al. The sentinel node in breast cancer: a multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998;339:941-6.

⊙ Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA, et al. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study

among white, black, and Asian women. *J Natl Cancer Inst* 1994;86(8):589-99.

⊙ Kropp S, Chang-Claude J. Active and passive smoking and risk of breast cancer by age 50 years among German women. *Am J Epidemiol* 2002;156(7):616-26.

⊙ Kurahashi N, Kasai S, Shibata T, et al. Parental and neonatal risk factors for cryptorchidism. *Med Sci Monit* 2005;11:274-83.

⊙ Kurebayashi J, Moriya T, Ishida T, et al. The prevalence of intrinsic subtypes and prognosis in breast cancer patients of different races. *Breast* 2007;16 Suppl 2:S72-7.

L

⊙ Lacey JV Jr, Devesa SS, Brinton LA. Recent trends in breast cancer incidence and mortality. *Environ Mol Mutagen* 2002;39(2-3):82-8. Review.

⊙ Lacey JV Jr, Kreimer AR, Buys SS, et al; Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial Project Team. Breast cancer epidemiology according to recognized breast cancer risk factors in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial Cohort. *BMC Cancer* 2009;9:84.

⊙ Laden F, Hankinson SE, Wolff MS, et al. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer: an extended follow-up in the Nurses' Health Study. *Int J Cancer* 2001;91(4):568-74.

⊙ Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, et al. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2004;111(5):762-71.

⊙ Lannin DR, Mathews HF, Mitchell J, et al. Impacting cultural attitudes in African-American women to decrease breast cancer mortality. *Am J Surg* 2002;184(5):418-23.

⊙ Lázaro R, Herrera A, Conchello MP, et al. Levels of selected polychlorinated biphenyl congeners in total diet samples from Aragón, Spain. *J Food Prot* 1999;62(9):1054-8.

⊙ Le DC, Pham TM, Fujino Y, et al. The decrease in average years of life lost due to breast cancer in Japan during the period from 1995 to 2006. *Tohoku J Exp Med* 2010;221(3):187-90.

⊙ Lee CH, Dershaw DD, Kopans D, et al. Breast cancer screening with imaging: recommendations from the Society of Breast Imaging and the ACR on the use of mammography, breast MRI, breast ultrasound, and other technologies for the detection of clinically occult breast cancer. *J Am Coll Radiol* 2010;7(1):18-27.

- ⊙ Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, et al. Predictor of recurrences for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b N0 M0). *Cancer* 1995;76:2266-74.
- ⊙ Leung BS, Manauha LC, Wood DC. Estradiol receptors in benign and malignant disease of the breast. *Clin Chim Acta* 1973;46(1):69-76.
- ⊙ Li CI, Malone KE, Daling JR, et al. Timing of menarche and first full-term birth in relation to breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 2008;167(2):230-9.
- ⊙ Lippman ME, Huff KK, Jakesz R, et al. Estrogens regulate production of specific growth factors in hormone-dependent human breast cancer. *Ann N Y Acad Sci* 1986;464:11-6.
- ⊙ Lonning PE, Knappskog S, Staalesen V, et al. Breast cancer prognostication and prediction in the post-genomic era. *Ann Oncol* 2007; 18:1293-306.
- ⊙ López CF, Martínez JM, Anes del Amo Y, et al. Mortalidad y frecuencia hospitalaria de tumor maligno de mama en Extremadura (2002-2004). *Enferm Clin* 2008;18(6):296-301.
- ⊙ López-Abente G, Pollán M, Aragonés B, et al. Situación del cáncer en España: incidencia. *An Sist Sanit Navar* 2004;27(2):165-73.
- ⊙ López-Abente G, Pollán M, Vergara A, et al. Time trends in cancer incidence in Navarra and Zaragoza, Spain. *Gac Sanit* 2000;14(2):100-9.
- ⊙ López-Carrillo L, Blair A, López-Cervantes M, et al. Dichlorodiphenyltrichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case-control study from Mexico. *Cancer Res* 1997;57(17):3728-32.
- ⊙ López-Espinosa MJ, Arrebola JP, Navea N, et al. Nonylphenol and octylphenol in adipose tissue of women in Southern Spain. *Chemosphere* 2009;76(6):847-52.
- ⊙ López-Espinosa MJ, Granada A, Araque P, et al. Oestrogenicity of paper and cardboard extracts used as food containers. *Food Addit Contam* 2007;24:95-102.
- ⊙ Lopez-Espinosa MJ, Granada A, Carreno J, et al. Organochlorine pesticides in placentas from Southern Spain and some related factors. *Placenta* 2007;28(7):631-8.
- ⊙ López-Espinosa MJ, Kiviranta H, Araque P, et al. Dioxins in adipose tissue of women in Southern Spain. *Chemosphere* 2008b;73(6):967-71.

M

- ⊙ Martín M, Llombart-Cussac A, Lluch A, et al; Grupo GEICAM. Epidemiological study of the GEICAM group about breast cancer in Spain (1990-1993): El Alamo project. *Med Clin (Barc)* 2004;122(1):12-7.
- ⊙ Martín M, Mahillo E, Llombart-Cussac A, et al. The "El Alamo" project (1990-1997): two consecutive hospital-based studies of breast cancer outcomes in Spain. *Clin Transl Oncol* 2006;8(7):508-18.
- ⊙ Martínez Vidal JL, Moreno Frías M, Garrido Frenich A, et al. Trace determination of alpha- and beta-endosulfan and three metabolites in human serum by gas chromatography electron capture detection and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2000;14(11):939-46.
- ⊙ McTiernan A. Recent controversies in mammography screening for breast cancer. *Medscape Womens Health* 2002;7(2):3.
- ⊙ Mellekjaer L, Friis S, Olsen JH, et al. Risk of Second Cancer among Women with Breast Cancer. *Int J Cancer* 2006;118:2285-92.
- ⊙ Mendonça GA, Eluf-Neto J, Andrada-Serpa MJ, et al. Organochlorines and breast cancer: a case-control study in Brazil. *Int J Cancer* 1999;83(5):596-600.
- ⊙ Mersin H, Yildirim E, Bulut H, et al. The prognostic significance of total lymph node number in patients with axillary lymph node-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2003;29(2):132-8.
- ⊙ McLachlan JA. Functional toxicology: a new approach to detect biologically active xenobiotics. *Environ Health Perspect* 1993;101:386-7.
- ⊙ McPherson K, Steel CM, Dixon JM. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics *BMJ* 2000;321(7261):624-8.
- ⊙ Miki I, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994;266:66-71.
- ⊙ Miller WR, Sharpe RM. Environmental estrogens and human reproductive cancers. *Endocrine-related Cancer* 1998;5:69-96.
- ⊙ Millikan R, DeVoto E, Duell EJ, et al. Dichlorodiphenyldichloroethene, polychlorinated biphenyls, and breast cancer among African-American and white women in North Carolina. *Cancer Epidemiol Biomar-*

kers Prev 2000;9(11):1233-40.

- ⊙ Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003;362:419-27.
- ⊙ del Moral R, Ruíz de Almodóvar JM, Villalba J, et al. Supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en cáncer de mama. Factores de influencia. *Oncología (Barc)* 1989;12(2):83-92.
- ⊙ Morris GJ. Breastfeeding, parity, and reduction of breast cancer risk. *Breast J* 2009;15(5):562-3.
- ⊙ Moysich KB, Menezes RJ, Baker JA, et al. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls and breast cancer risk. *Rev Environ Health* 2002;17(4):263-77.
- ⊙ Muñoz-de-Toro M, Durando M, Beldoménico PM, et al. Estrogenic microenvironment generated by organochlorine residues in adipose mammary tissue modulates biomarker expression in ERalpha-positive breast carcinomas. *Breast Cancer Res* 2006;8(4):R47.
- ⊙ Muscat JE, Britton JA, Djordjevic MV, et al. Adipose concentrations of organochlorine compounds and breast cancer recurrence in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12(12):1474-8.

N

- ⊙ Narod SA. Modifiers of risk of hereditary breast cancer. *Oncogene* 2006;25(43):5832-6.
- ⊙ Nissen MJ, Shapiro A, Swenson KK. Changes in weight and body composition in women receiving chemotherapy for breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2011;11(1):52-60.
- ⊙ Nyström L, Andersson I, Bjurstam N, et al. Long-term effects of mammography screening: updated overview of the Swedish randomised trials. *Lancet* 2002;359(9310):909-19. Review.

O

- ⊙ Ohi G. Endocrine disrupting chemicals and carcinogenicity. *Gan To Kagaku Ryoho* 1999;26:263-8.
- ⊙ Okond'Ahoka O, Lavaur E, Le Sech J, et al. Etude de l'impregnation humaine par les pesticides organohalogenes au Zaïre. *Ann Fals. Exp Chim* 1984;77:531-40.
- ⊙ Olaya-Contreras P, Rodríguez-Villamil J, Posso-Valencia HJ, et al. Organochlorine exposure and breast

cancer risk in Colombian women. *Cad Saude Publica* 1998;14 Suppl 3:125-32.

- ⊙ Olea N, Fernández MF, Araque P, et al. Perspectives on endocrine disruption. *Gac Sanit* 2002;16(3):250-6. Review.
- ⊙ Olea N, Olea-Serrano MF. Oestrogens and the environment. *Eur J Cancer Prev* 1996;5(6):491-6. Review.
- ⊙ Olea N, Pazos P, Expósito J. Inadvertent exposure to xenoestrogens. *European J Cancer Prevention* 1998;7 Suppl:S17-S23.
- ⊙ Olea N, Pulgar R, Perez P, et al. Estrogenicity of resin based composites and sealants used in dentistry. *Environ Health Perspect* 1996;104(3):298-305.

P

- ⊙ Page DL, Dupont WD. Premalignant conditions and markers of elevated risk in the breast and their management. *Surg Clin North Am* 1990;70:831-51.
- ⊙ Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:2817-26.
- ⊙ Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:3726-34.
- ⊙ Pan SY, DesMeules M. Energy intake, physical activity, energy balance, and cancer: epidemiologic evidence. *Methods Mol Biol* 2009;472:191-215.
- ⊙ Parkin DM. Is the recent fall in incidence of post-menopausal breast cancer in UK related to changes in use of hormone replacement therapy? *Eur J Cancer* 2009;45:1649-53.
- ⊙ Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Estimating the world cancer burden: GLOBOCAN 2000. *Int J Cancer* 2001;94(2):153-6.
- ⊙ Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55(2):74-108.
- ⊙ Parkin DM, Swihelan SC, Ferlay J, et al; Eds IARC. *Cancer Incidence in Five Continents Vol VIII*, pag 36. 2008.
- ⊙ Payne J, Scholze M, Kortenkamp A. Mixtures of four organochlorines enhance human breast cancer cell proliferation. *Environ Health Perspect* 2001;109(4):391-7.
- ⊙ Pazos P, Olea-Serrano MF, Zuluaga A, et al. Endocrine disrupting chemicals: xenoestrogens. *Med Biol*

Environ Int J 1998;26:41-7.

⊙ Pazos P, Pérez P, Rivas A, et al. Development of a marker of estrogenic exposure in breast cancer patients.

Adv Exp Med Biol 1998;444:29-40.

⊙ Pelletier C, Doucet E, Imbeault P, et al. Associations between weight loss-induced changes in plasma organochlorine concentrations, serum T(3) concentration, and resting metabolic rate. Toxicol Sci 2002;67(1):46-51.

Pereira H, Pinder SE, Sibbering DM, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. IV: Should you be a typer o a grader? A comparative study of two histological prognostic features in operable breast carcinoma. Histopathology 1995;27:219-26.

⊙ Pérez Cabrera B. Factores pronósticos en el cáncer de mama y evaluación de los receptores hormonales: estudio sobre 241 casos. [Tesis Doctoral]. Granada: Universidad de Granada; 1996.

⊙ Perez P, Pulgar R, Olea-Serrano F, et al. The estrogenicity of bisphenol A-related diphenylalkanes with various substituents at the central carbon and the hydroxy groups. Environ Health Perspect 1998;106(3):167-74.

⊙ Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumors. Nature 2000;406:747-52.

⊙ Peto J. Cancer epidemiology in the last century and the next decade. Nature 2001;411(6835):390-5. Review.

⊙ Pham TM, Fujino Y, Ide R, et al. Years of life lost due to cancer in a cohort study in Japan. Eur J Public Health 2009;19,189-92.

⊙ Pham TM, Fujino Y, Matsuda S, et al. Premature mortality due to cancer in Japan, 1995 and 2005. Int J Cancer 2010;127(1):190-4.

⊙ Pike MC, Spicer DV, Dahmouch L, et al. Estrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. Epidemiol Rev 1993;15(1):17-35. Review.

⊙ Pohar M, Stare J. Relative survival analysis in R. Comp Meth Prog Biomed 2006;82:272-8.

⊙ Pollán M. Breast cancer in women and occupation. A review of the evidence. Gac Sanit 2001;15 Suppl 4:3-22.

⊙ Pollán M, Michelena MJ, Ardanaz E, et al; Breast Cancer Working Group. Breast cancer incidence in Spain before, during and after the implementation of screening programmes. Ann Oncol 2010;21 Suppl 3:iii97-102.

⊙ Pollán M, Pastor-Barriuso R, Ardanaz E, et al. Recent changes in breast cancer incidence in Spain, 1980-2004. Natl Cancer Inst 2009;101(22):1584-91.

- ⊙ Pollán M, Ramis R, Aragonés N, et al. Municipal distribution of breast cancer mortality among women in Spain. *BMC Cancer* 2007;7:78.
- ⊙ Ponzzone R, Montemurro F, Maggiorotto F, et al. Clinical outcome of adjuvant endocrine treatment according to RP and HER2 status in early breast cancer. *Ann Oncol* 2006;17:1631-6.
- ⊙ Porta M, Ballester F, Ribas-Fitó N, et al. Concentraciones de compuestos tóxicos persistentes en la población general española. Criterios para un diagnóstico de la situación actual. *Gac Sanit* 2006;20:233-8.
- ⊙ Porta M, Gasull M, López T, et al. Distribution of blood concentrations of persistent organic pollutants in representative samples of the general population. *CP/RAC Annual Technical Publication* 2010;9:24-31.
- ⊙ Porta M, Kogevinas M, Zumeta E, et al; y el Grupo de Trabajo sobre Compuestos Tóxicos Persistentes y Salud del IMIM. Concentraciones de compuestos tóxicos persistentes en la población española: el rompecabezas sin piezas y la protección de la salud pública. *Gac Sanit* 2002, 16(3):257-66.
- ⊙ Porta M, Puigdomènech E, Ballester F, et al. Studies conducted in Spain on concentrations in humans of persistent toxic compounds. *Gac Sanit* 2008;22(3):248-66.
- ⊙ Prüss-Ustün A, Corvalán C. How much disease burden can be prevented by environmental interventions? *Epidemiology* 2007;18(1):167-78.

R

- ⊙ Reglamento REACH (CE) nº 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006 (the European Community Regulation on chemicals and their safe use -EC 1907/2006).
- ⊙ Registro de Cáncer de Granada, Escuela Andaluza de Salud Pública, Consejería de Salud. Disponible en: <http://www.cancergranada.es>.
- ⊙ Registro del Cáncer de Tarragona [consultado en Abril de 2011]. Disponible en: <http://www.funca.cat/registre.php>.
- ⊙ Rivas A, Fernandez MF, Cerrillo I, et al. Human exposure to endocrine disrupters: standardisation of a marker of estrogenic exposure in adipose tissue. *APMIS* 2001;109(3):185-97.
- ⊙ Rivas A, Lacroix M, Olea-Serrano F, et al. Estrogenic effect of a series of bisphenol analogues on gene and protein expression in MCF-7 breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002;82(1):45-53.

- ⊙ Rivas A, Olea N, Olea-Serrano MF. Human exposure to endocrine-disrupting chemicals: assessing the total estrogenic xenobiotic burden. *Trends Analytical Res* 1997;16:613-9.
- ⊙ Rockhill B, Weinberg CR, Newman B. Population attributable fraction estimation for established breast cancer risk factors: considering the issues of high prevalence and unmodifiability. *Am J Epidemiol* 1998;147(9):826-33.
- ⊙ Romieu I, Hernandez-Avila M, Lazcano-Ponce E, et al. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am J Epidemiol* 2000;152(4):363-70.
- ⊙ Rosso S, Gondos A, Zanetti R, et al; EUNICE Survival Working Group. Up-to-date estimates of breast cancer survival for the years 2000-2004 in 11 European countries: the role of screening and a comparison with data from the United States. *Eur J Cancer* 2010;46(18):3351-7.
- ⊙ Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al; Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288(3):321-33.
- ⊙ Ruiz Ramos M, Expósito J. Tendencia de la mortalidad por cáncer en Andalucía entre 1975 y 2003. *Med Clin (Barc)* 2007;128(12):448-52.
- ⊙ Ruíz M, Viciano F. Tendencia y distribución geográfica de la mortalidad por cáncer de mama en Andalucía (1976-1995). *Aten Primaria* 1997;299-304.
- ⊙ Russo IH, Russo J. Role of hormones in mammary cancer initiation and progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1998;3(1):49-61. Review.

S

- ⊙ vom Saal FS, Nagel SC, Palanza P, et al. Estrogenic pesticides: binding relative to estradiol in MCF-7 cells and effects of exposure during fetal life on subsequent territorial behaviour in male mice. *Toxicol Lett* 1995;77(1-3):343-50.
- ⊙ SACO 100EN. Endocrine disrupting chemicals: A challenge for the EU? European Parliament, Public Health and Consumer Protection Series, 1998. Strasbourg.
- ⊙ Sant M, Allemani C, Berrino F, et al; European Concerted Action on Survival and Care of Cancer Patients

(EUROCORE) Working Group. Breast carcinoma survival in Europe and the United States. *Cancer* 2004;100(4):715-22.

- ⊙ Sant M, Allemani C, Capocaccia R, et al; EUROCORE Working Group. Stage at diagnosis is a key explanation of differences in breast cancer survival across Europe. *Int J Cancer* 2003;106(3):416-22.
- ⊙ Sant M, Allemani C, Santaquilani M, et al; EUROCORE Working Group. EUROCORE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary. *Eur J Cancer* 2009;45(6):931-91.
- ⊙ Sant M, Francisci S, Capocaccia R, et al. Time trends of breast cancer survival in Europe in relation to incidence and mortality. *Int J Cancer* 2006;119(10):2417-22.
- ⊙ Sarasqueta C, Martínez-Cambor P, Mendiola A, et al. Breast cancer relative survival after the first recurrence and related prognostic factors. *Med Clin (Barc)* 2009;133(13):489-95.
- ⊙ Sarcinelli PN, Pereira AC, Mesquita SA, et al. Dietary and reproductive determinants of plasma organochlorine levels in pregnant women in Rio de Janeiro *Environ Res* 2003;91(3):143-50.
- ⊙ Sasco AJ. Epidemiology of breast cancer: an environmental disease? *APMIS* 2001;109(5):321-32. Review.
- ⊙ Schildkraut JM, Demark-Wahnefried W, DeVoto E, et al. Environmental contaminants and body fat distribution. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 1999;8(2):179-83.
- ⊙ Schütze M, Boeing H, Pischon T, et al. Alcohol attributable burden of incidence of cancer in eight European countries based on results from prospective cohort study. *BMJ* 2011;342:d1584.
- ⊙ Schwartz GF, Giuliano AE, Veronesi U; Consensus Conference Committee. Proceedings of the consensus conference on the role of sentinel lymph node biopsy in carcinoma of the breast. *Cancer* 2002;94:2542-51.
- ⊙ Seradour B, Allemand H, Weill A, et al. Changes by age in breast cancer incidence, mammography screening and hormone therapy use in France from 2000 to 2006. *Bull Cancer* 2009;96:E1-E6.
- ⊙ Sidoni A, Bellezza G, Cavaliere A, et al. Prognostic indexes in breast cancer: comparison of the Nottingham and Adelaide indexes. *Breast* 2004;13(1):23-7.
- ⊙ Sieri S, Krogh V, Ferrari P, et al. Dietary fat and breast cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr* 2008;88(5):1304-12.
- ⊙ Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987;235:177-82.
- ⊙ Slamon DJ, Godolphin W, Jones L, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and

ovarian cancer. *Science* 1989;244:707-12.

- ⊙ Smigal C, Jemal A, Ward E, et al. Trends in breast cancer by race and ethnicity: update 2006. *CA Cancer J Clin* 2006;56(3):168-83.
- ⊙ Smith KR, Corvalán CF, Kjellström T. How much global ill health is attributable to environmental factors? *Epidemiology* 1999;10(5):573-84.
- ⊙ Snedeker SM. Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ Health Perspect* 2001;109 Suppl 1:35-47.
- ⊙ Sobin LH, Wittekind Ch. *TNM classification of Malignant Tumours*, 5th edition. Geneva: Union Internationale Contre le Cancer; 1997.
- ⊙ Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, et al. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008;107:309-30.
- ⊙ Sonnenschein C, Soto AM, Fernández MF, et al. Development of a marker of estrogenic exposure in human serum. *Clin Chem* 1995;41(12 Pt 2):1888-95.
- ⊙ Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10869-74.
- ⊙ Soto AM, Fernandez MF, Luizzi MF, et al. Developing a marker of exposure to xenoestrogen mixtures in human serum. *Environ Health Perspect* 1997;105 Suppl 3:647-54.
- ⊙ Soto AM, Lin TM, Justicia H, et al. An in culture bioassay to assess the estrogenicity of xenobióticos. En: *Chemically Induced Alterations in Sexual Development: The Wildkife/Human Connention*. T. Colborn, ⊙ Clement CR, eds. Princeton Scientific Publishing, Princeton, 1992;295-309.
- ⊙ Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, et al. The E-SCREEN assay as tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ Health Perspect* 1995;103:113-22.
- ⊙ Soule HD, Vazquez J, Long A, et al. A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1973;51:1400-13.
- ⊙ Stellman SD, Djordjevic MV, Muscat JE, et al. Relative abundance of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in adipose tissue and serum of women in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7(6):489-96.
- ⊙ Stokstad E. Pollution gets personal. *Science* 2004;304:1892-4.

- ⊙ Strucinski P, Wojtyniak B, Goralczyk K, et al. Do we have to consider chemotherapy in the analysis of association between Ocs in breast adipose tissue and the risk of female breast cancer? *Organohalogen compounds* 2004;66:2573-8.
- ⊙ Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER Cáncer Statistics Review. 1975-2006. [Citado 1 Abril 2001]. Disponible en: <http://seer.cancer.gov/>.
- ⊙ Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER Cancer Statistics Review 1975-2006. [Citado 29 Mayo, 2009]. Disponible en: <http://seer.cancer.gov/>.
- ⊙ Swan SH. Intrauterine exposure to diethylstilbestrol: long-term effects in humans. *APMIS* 2000;108:793-804.

T

- ⊙ Titus-Ernstoff L, Egan KM, Newcomb PA, et al. Early life factors in relation to breast cancer risk in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11(2):207-10.
- ⊙ Toniolo PG, Levitz M, Zeleniuch-Jacquotte A, et al. A prospective study of endogenous estrogens and breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(3):190-7.
- ⊙ Touboul E, Buffat L, Belkacemi Y, et al. Local Recurrences and Distant Metastases after Breast-Conserving Surgery and Radiation Therapy for Early Breast Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;43:25-38.
- ⊙ Travis RC, Allen NE, Peeters PH, et al. Reproducibility over 5 years of measurements of 6-sulphatoxymelatonin in urine samples from postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12(8):806-8.
- ⊙ Trock BJ, Yamauchi H, Brotzman M, et al. C-erbB-2 as a prognostic factor in breast cancer (BC): A meta-analysis. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000;19:97a.

V

- ⊙ Valerón PF, Pestano JJ, Luzardo OP, et al. Differential effects exerted on human mammary epithelial cells by environmentally relevant organochlorine pesticides either individually or in combination. *Chem Biol Interact* 2009;180(3):485-91.
- ⊙ del Valle et al, 1993; *Medicina Preventiva y Salud Pública*, 10ª Edición. Masson, 2002. Capítulo 3: Demo-

grafía dinámica (I): natalidad, fecundidad y mortalidad.

- ⊙ del Valle MO, López ML, Arcos PI, et al. Análisis de los años potenciales de vida perdidos por cáncer en Asturias y España. *Rev San Hig Púb* 1993;67:129-44.
- ⊙ van't Veer P, Lobbezoo IE, Martín-Moreno JM, et al. DDT (dicophane) and postmenopausal breast cancer in Europe: case-control study. *BMJ* 1997;315(7100):81-5.
- ⊙ Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, et al; EURO CARE-4 Working Group. Recent cancer survival in Europe: a 2000-02 period analysis of EURO CARE-4 data. *Lancet Oncol* 2007;8(9):784-96;8.
- ⊙ Verkasalo KTJ, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001;2:133-40.
- ⊙ Veronesi A, de Giacomi C, Magri MD, et al. Familiar breast cancer: characteristics and outcome of BRCA 1-2 positive and negative cases. *BMC Cancer* 2005;5:70.
- ⊙ Veronesi U, Cascinelli N, Greco M, et al. Prognosis of breast cancer patients after mastectomy and dissection of internal mammary nodes. *Ann Surg* 1985;202:702-7.
- ⊙ Veronesi U, Galimberti V, Zurrada S, et al. Prognostic significance of number and level of axillary nodal metastasis in breast cancer. *Breast* 1993;2:224-8.
- ⊙ Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph nodes. *Lancet* 1997;349:1864-7.
- ⊙ Vidaeff AC, Sever LE. In utero exposure to environmental estrogens and male reproductive health: a systematic review of biological and epidemiological evidence. *Reprod Toxicol* 2005;20:5-20.
- ⊙ Viehl CT, Langer I, Guller U, et al. Prognostic impact and therapeutic implications of sentinel lymph node micro-metastases in early-stage breast cancer patients. *J Surg Oncol* 2011;103(6):531-3.
- ⊙ van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1999-2009.
- ⊙ Villalobos M, Olea N, Brotons JA, et al. The E-screen assay: a comparison of different MCF-7 cell stocks. *Environ Health Perspect* 1995;103(9):844-50.
- ⊙ Vogel VG. Epidemiology, genetics, and risk evaluation of postmenopausal women at risk of breast cancer. *Menopause* 2008;15(4 Suppl):782-9.

W

- ⊙ Ward E, Jemal A, Cokkinides V, et al. Cancer disparities by race/ethnicity and socioeconomic status. *CA Cancer J Clin* 2004;54(2):78-93.
- ⊙ Ward EM, Schulte P, Grajewski B, Singh GK, Cardinez C, Ghafoor A, Thun M. Serum organochlorine levels and breast cancer: a nested case-control study of Norwegian women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(12):1357-67.
- ⊙ Weaver DL, Krag DN, Ashikaga T, Singh GK, Cardinez C, Ghafoor A, Thun M. Pathologic analysis of sentinel and non-sentinel lymph nodes in breast carcinoma: a multicenter study. *Cancer* 2000;88:1099-107.
- ⊙ Weinhold B. Body of evidence. *Environ Health Perspect* 2003;111:394A-399A.
- ⊙ Willems A, Gauger K, Henrichs C, et al. Antibody therapy for breast cancer. *Anticancer Res* 2005;25(3A):1483-9. Review.
- ⊙ Wolff MS, Berkowitz GS, Brower S, et al. Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York City women. *Environ Res* 2000;84(2):151-61.
- ⊙ Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, et al. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85(8):648-52.
- ⊙ Wolff MS, Zeleniuch-Jacquotte A, Dubin N, et al. Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(3):271-7.
- ⊙ Woolcott CG, Aronson KJ, Hanna WM, et al. Organochlorines and breast cancer risk by receptor status, tumor size, and grade (Canada). *Cancer Causes Control* 2001;12(5):395-404.
- ⊙ Wooster R, Bognell G, Lancaster J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995;378:789-92.
- ⊙ World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. WCRF/AICR, 2007.
- ⊙ World Health Organization (WHO). International Classification of Diseases, 1975 Revision. Geneva: World Health Organization; 1977.
- ⊙ World Health Organization (WHO). International Classification of Diseases for Oncology, second Edition. Geneva: World Health Organization; 1990.

⊙ World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization, 2000. WHO Technical Report Series, No. 894.

World Health Organization. The Global Burden of Disease: 2004 Update. Geneva: World Health Organization; 2008.

⊙ World Health Organization. The world health report 2002- Reducing risks, promoting healthy life. Geneva: World Health Organization, 2002.

X

⊙ Xu X, Dailey AB, Talbott EO, et al. Associations of serum concentrations of organochlorine pesticides with breast cancer and prostate cancer in U.S. adults. Environ Health Perspect 2010;118(1):60-6.

Z

⊙ Zhang SM, Lee IM, Manson JE, et al. Alcohol consumption and breast cancer risk in the Women's Health Study. Am J Epidemiol 2007;165(6):667-76.

⊙ Zheng T, Holford TR, Mayne ST, et al. Environmental exposure to hexachlorobenzene (HCB) and risk of female breast cancer in Connecticut. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999;8(5):407-11.

⊙ Zumbado M, Goethals M, Alvarez-León EE, et al. Inadvertent exposure to organochlorine pesticides DDT and derivatives in people from the Canary Islands (Spain). Sci Total Environ 2005;339(1-3):49-62.

ANEXO

ORIGINAL

SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA TRAS 10 AÑOS DE SEGUIMIENTO
EN LAS PROVINCIAS DE GRANADA Y ALMERÍA

Olga Ocón Hernández (1,2), Mariana F. Fernández Cabrera (2,3,4), Sabina Pérez Vicente (5),
Cristina Dávila Arias (6), José Expósito Hernández (7) y Nicolás Olea Serrano (2,3,4)

- (1) UGC de Ginecología y Obstetricia. Hospital Universitario San Cecilio, Granada.
 (2) Laboratorio de Investigaciones Médicas, Hospital Universitario San Cecilio, Granada.
 (3) Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada, Granada.
 (4) CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), España.
 (5) Unidad de Apoyo a la Investigación. Empresa Pública Hospital Costa del Sol, Málaga.
 (6) Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Universitario San Cecilio, Granada.
 (7) Servicio de Radioterapia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada.

RESUMEN

Fundamento: Describir la supervivencia global y libre de enfermedad a los cinco y diez años del diagnóstico de cáncer de mama en mujeres participantes en estudio caso control previo, y establecer las variables pronóstico relacionadas.

Métodos: Se realizó el seguimiento de 202 mujeres diagnosticadas en tres hospitales públicos de Granada y Almería entre 1996-1998. La supervivencia se evaluó mediante el método de Kaplan-Meier, y la identificación de factores relacionados mediante el análisis de regresión de Cox.

Resultados: La edad media al diagnóstico fue de 54,27±10,4 años. La supervivencia global a los 5 años fue del 83,9% (IC 95%: 78,13-89,66) y a los 10 años del 71% (IC 95%: 63,25-78,74) con un tiempo medio de seguimiento de 119,91 meses (IC 95% 113,65-126,17). La supervivencia libre de enfermedad a los 5 años fue del 81% (IC 95%: 74,52-87,47) y a los 10 años del 71,3% (IC 95%: 63,33-79,26) con un tiempo medio de seguimiento de 118,75 meses (IC 95% 111,86-125,65). La mortalidad de la serie fue del 33,17%.

Conclusiones: Las características de la enfermedad en las mujeres de la muestra estudiada son similares a las de otras regiones de España y Europa, con una supervivencia global superior a la descrita en Europa y comparable a la de España ambas referidas para el mismo periodo.

Palabras clave: Cáncer de mama. Análisis de supervivencia. factores pronóstico.

ABSTRACT

Breast Cancer Survival After 10 Years
of Follow up, in Granada and Almeria
Spanish Provinces

Background: To describe the overall and disease-free survival at five and ten years after breast cancer diagnosis in women from a previous case-control study, and establish related prognostic factors.

Methods: We followed up 202 patients diagnosed between 1996 and 1998 in three public hospitals in Granada and Almeria provinces in Spain. Survival rates were calculated using the Kaplan and Meier method, and the Cox proportional hazards model was applied to identify the most significant variables contributing to survival.

Results: Mean age at diagnosis was 54.27±10.4 years. Mean follow-up for overall survival was 119.91 months (95%CI 113.65-126.17); the five-year survival rate was 83.9% (95%CI: 78.13-89.66) and the ten-year rate was 71% (95%CI: 63.25-78.74). Mean follow-up for disease-free survival was 118.75 months (95%CI 111.86-125.65); the five-year disease-free survival rate was 81% (95%CI: 74.52-87.47) and the ten-year rate was 71.3% (95%CI: 63.33-79.26). The mortality rate of the study population was 33.17%.

Conclusions: Disease characteristics are similar in our population to those in other Spanish and European regions, while the overall survival is higher than the mean rate during the same period in Europe (5-yr rate of 79%) and similar to that in Spain (83%).

Key words: Breast cancer. Survival rates. Prognosis.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por proyectos de investigación de la Comisión Europea (7th. Frame Work, CONTAMED N.º: 212502) y de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (SAS-0133/2007). OOH y SPV disfrutaban de contratos de investigación «Rio Hortega» y «Técnico de Apoyo», respectivamente, financiados por el Instituto de Salud Carlos III. Por su parte MFF es receptora de un contrato Ramón y Cajal financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación.

Correspondencia:
Mariana F. Fernández Cabrera
Laboratorio de Investigaciones Médicas.
Hospital Universitario San Cecilio
Granada
marieta@ugr.es

Olga Ocón Hernández et al.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es el tumor maligno de mayor incidencia y mortalidad entre las mujeres europeas, constituyendo un importante problema de salud pública en los países desarrollados. Programas como *Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER)* de Estados Unidos¹ han analizado los cambios en los patrones de incidencia, mortalidad y supervivencia en cáncer, confirmando que, específicamente, el cáncer de mama es la causa más frecuente de muerte en mujeres entre 40 y 55 años, y que si la tendencia no cambia una de cada ocho mujeres desarrollará cáncer de mama a lo largo de su vida. El impacto sanitario, social y económico es, por tanto, realmente importante, teniendo en cuenta que afecta fundamentalmente a mujeres en edades tempranas y que en un tercio de los casos se convierte en una enfermedad crónica e insidiosa².

Las diferencias regionales en incidencia en cáncer de mama otorgan un papel causal a las características geográficas, sociales y medioambientales de cada población^{3,4}. Así, por ejemplo, España presenta una tasa de incidencia menor a la media de Europa, ocupando una posición intermedia entre los países occidentales y del este de Europa, aunque también se trata del tumor maligno más frecuente entre la población femenina³. Anualmente en nuestro país se diagnostican cerca de 16.000 casos nuevos, lo que supone casi el 30% de los tumores descritos entre las mujeres. Según la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC)³, la tasa de incidencia estandarizada estimada para España fue de 93,6 casos por 100.000 mujeres-año en 2006, frente a los 110 casos por cada 100.000 mujeres en Europa.

Aunque la información disponible en las diferentes regiones de España es insuficiente, los datos demuestran un incremento progresivo en la incidencia de esta patología en las dos últimas décadas (2-3% anual) en todos los grupos de edad, confirmándose,

además, como la primera causa de muerte por cáncer en las mujeres españolas (mortalidad estandarizada de 18,6 por 100.000 mujeres-año)^{3,5,6}. La supervivencia global a los 5 años era del 75% entre los años 1990-1994, cercana a la referida en Europa que se situó en torno al 80%, pero sensiblemente inferior a la descrita en Estados Unidos que alcanzó el 90% entre 1996 y 1998^{1,7,8}. No obstante, las campañas de diagnóstico precoz y los avances terapéuticos han contribuido favorablemente al descenso paulatino en mortalidad de cerca del 2,4% anual desde 1993³.

El cáncer de mama constituye un importante problema de salud también en Andalucía, donde es el tumor maligno más frecuente en las mujeres, con una incidencia en el año 2002 de 2.500 nuevos casos (67 casos por cada 100.000 mujeres)⁹. Es, a su vez, la primera causa de muerte por cáncer en el colectivo femenino, con una tasa bruta de mortalidad de 24,1 por cada 100.000 habitantes en 1999⁹. Al igual que ocurre en otras regiones de España, se ha observado un descenso en la mortalidad a partir de 1993, lo que podría atribuirse, entre otras cosas, al mayor conocimiento de la enfermedad, a la mejora del tratamiento, y/o al diagnóstico en fases más tempranas, aunque no parece estar relacionado con el programa de detección precoz, ya que en Andalucía se inició a mediados de los años noventa¹⁰ y es pronto para ver sus efectos sobre mortalidad.

Mientras que existe un consenso a la hora de establecer los principales factores de riesgo para esta patología (características reproductivas –menarquía, menopausia, paridad–, obesidad, estatus socioeconómico, susceptibilidad genética, y de manera menos consistente, dieta)³, los factores pronósticos y predictivos se han ido definiendo a lo largo de los últimos años, paralelamente a los avances en las ciencias básicas, el desarrollo de nuevas técnicas de investigación y el conocimiento de los procesos moleculares implicados en la patogenia de la enferme-

SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA TRAS 10 AÑOS DE SEGUIMIENTO EN LAS PROVINCIAS DE GRANADA Y ALMERÍA

dad¹¹. Así, se admiten como factores pronósticos tanto las características de la enfermedad (tamaño tumoral, tipo y grado histológico e invasión vascular y estado de los ganglios axilares) y de las mujeres afectadas¹²(edad, estilo de vida, características reproductivas), como algunos biomarcadores (receptores de hormonas esteroideas RE-RP, sobreexpresión de c-erbB-2, p53), aunque algunos de ellos parecen no tener un papel claramente consensuado, especialmente a la hora de establecer su influencia en la supervivencia¹³.

Con objeto de investigar los factores de riesgo en cáncer de mama se diseñó un estudio caso-control, reclutando entre 1996-1998 a 202 mujeres recién diagnosticadas de esta patología en tres hospitales públicos de las provincias de Granada y Almería¹³. Las estimaciones de riesgo de cáncer de mama fueron estadísticamente significativas para las variables estado civil, nivel educativo, ocupación y clase económico-social, así como número de embarazos, paridad, meses acumulados de lactancia, antecedentes familiares de cáncer de mama y consumo de alcohol y tabaco. Transcurridos diez años desde el reclutamiento de las mujeres, se planteó conocer su estado vital y estudiar la influencia de las variables epidemiológicas de riesgo.

El objetivo de este trabajo es describir la supervivencia global y libre de enfermedad a los cinco y diez años en este grupo de mujeres y definir las variables pronóstico relacionadas con su supervivencia.

SUJETOS Y MÉTODOS

Entre 1996-1998 en los hospitales Universitario San Cecilio y Virgen de las Nieves de Granada, y Torrecárdenas de Almería, 202 mujeres diagnosticadas e intervenidas por cáncer de mama que cumplían los criterios de inclusión establecidos, fueron apareadas por edad y hospital con otras 260 muje-

res intervenidas de patología no oncológica, ni ginecológica ni endocrina. Toda la información del estudio caso-control de cáncer de mama se detalla en el trabajo original de Ibarlucea y cols. 2004¹³. El rango de edad de las participantes fue de 35 a 76 años. Las fuentes de información del estudio fueron la historia clínica, un cuestionario epidemiológico personal estructurado y diseñado *ad hoc.*, y muestras biológicas obtenidas durante la cirugía. Transcurridos diez años desde el inicio del estudio se ha recogido la información sobre la evolución clínica de la enfermedad y el estado vital de las pacientes, cotejándolo con los datos disponibles en el Registro del Cáncer de Granada y en el Registro Nacional de Defunciones. Se han seguido los protocolos establecidos por los centros sanitarios implicados para acceder a los datos de las historias clínicas.

En base a la información obtenida en el trabajo inicial y la revisión del estado vital de las mujeres a los 10 años, las variables supervivencia global y libre de enfermedad a los cinco y diez años se construyeron en función del tiempo transcurrido desde el momento del diagnóstico hasta la ocurrencia de un evento (recidiva, metástasis o éxitus) o fecha de último contacto, estableciendo como límite de seguimiento el mes de abril de 2008. Las variables recogidas en la revisión de las historias clínicas fueron: estadio clínico y postquirúrgico, tipo y grado histológico, recidiva y metástasis (tiempo y localización) y fecha de éxitus. Se siguieron los criterios del *American Joint Commission on Cancer (AJCC)*¹⁴ para la clasificación del estadio y se definió como recaída de la enfermedad la presentación de recidiva local o de metástasis a distancia.

Análisis estadístico. En el análisis descriptivo se incluye el valor de la mediana, media, rango y desviación estándar para las variables cuantitativas y las medidas de frecuencia en el caso de variables categóricas. La estimación de la función de supervivencia se ha realizado mediante el método de

Olga Ocón Hernández et al.

Kaplan-Meier, calculando la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad para cada una de las características de la enfermedad. Para el análisis de aquellos factores que potencialmente podrían modificar la supervivencia se ha empleado la regresión de Cox. Se consideró un valor de $p < 0,05$ como diferencia estadísticamente significativa. Para la creación de la base de datos y el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SPSS 15.0.

RESULTADOS

La edad media de las mujeres en el momento del diagnóstico fue de 54,27 años (tabla 1). Los 202 casos de cáncer de mama incluidos en el estudio se clasificaron atendiendo a las características de la enfermedad (tipo y grado histológico y localización de las metástasis) (tabla 2). El 74,25% de los casos correspondieron a carcinoma ductal, incluyendo 3 casos de carcinoma ductal *in situ* (1,48%). El porcentaje de carcinoma lobulillar fue del 6,93% y el 11,40% restante correspondió a otros tipos histológicos. El grado histológico más frecuentemente descrito entre las pacientes fue el 3 (47,1%), seguido del 2 (41,29%) y, por último, el grado 1 (10,32%) de los casos. Se demostró invasión ganglionar en 84 (41,58%) mujeres.

La tabla 3 muestra la distribución de los casos por estadio antes de la cirugía o estadio

clínico, atendiendo a los criterios establecidos por la AJCC. Las mujeres se volvieron a clasificar tras la cirugía, lo que permitió establecer la concordancia entre la clasificación pre- y post-quirúrgica. En el diagnóstico de estadios más precoces (IA y IIA) la concordancia fue del 71,9% y para estadios avanzados (IIIA y IIIB) del 84,3%, mucho mayor respecto a los estadios intermedios cuya concordancia entre el diagnóstico pre y postquirúrgico fue del 18,3%.

El tiempo medio de seguimiento de las 202 mujeres incluidas fue de $92,32 \pm 33,38$ meses, con un rango de 6 a 135 meses. Al final de dicho periodo se habían producido un total de 67 defunciones (33,17%) con una edad media a la defunción de $60,33 \pm 11,632$ años, con 37 años la más joven y 82 la de mayor edad. A lo largo del seguimiento 58 (28,71%) mujeres presentaron algún tipo de recaída, evidenciándose recidivas en 18 (8,91%), tanto locales, contralaterales, como en la piel de la mama afectada, así como 36 (17,82%) metástasis, cuya localización se detalla en la tabla 4.

El análisis de supervivencia en las 186 (92,08%) mujeres para las que se dispuso de información completa al final del seguimiento, muestra una supervivencia global a los 5 años del 83,9% (IC 95% 78,13-89,66) y a los 10 años del 71% (IC 95% 63,25-78,74), con un tiempo medio de supervivencia de 119,91 meses (IC 95% 113,65-126,17)

Tabla 1

Edad al diagnóstico en cáncer de mama

Edad (años)	n	%
<45	42	20,79
45-54	55	27,23
55-64	53	26,24
>64	36	17,82
No disponible	16	7,92
Total	202	100

SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA TRAS 10 AÑOS DE SEGUIMIENTO EN LAS PROVINCIAS DE GRANADA Y ALMERÍA

Tabla 2

Características de la enfermedad en las 202 mujeres diagnosticadas de cáncer de mama

	n	%
Variedades histológicas (n=202)		
– Carcinoma <i>In situ</i>	3	1,48
– Carcinoma infiltrante Ductal		
– Forma clásica	147	72,77
– Comédoco	6	2,97
– Inflamatorio	3	1,48
– Inflamatorio+comédoco	1	0,49
– Medular	2	0,99
– Mucinoso/mucoide	6	2,97
– Papilar	2	0,99
– Epidermoide	1	0,49
– Paget+ductal infiltrante	1	0,49
– Carcinoma infiltrante Lobulillar		
– Forma clásica	14	6,93
– Ambos (Ductal y Lobulillar)	1	0,49
– No disponible	15	7,43
Grado histológico (n=202)		
– Grado 0	1	0,5
– Grado 1	16	7,8
– Grado 2	65	31,9
– Grado 3	74	36,3
– Grado 4	1	0,5
– No disponible	47	
Localización metástasis (n=36)		
– Pulmonares	5	13,88
– Óseas	7	19,44
– Hepáticas	5	13,88
– Cerebrales	1	2,77
– Supraclaviculares	2	5,55
– Cuero cabelludo	1	2,77
– Múltiples	17	47,22

(figura 1). El análisis de la supervivencia libre de enfermedad se realizó con datos disponibles para 174 mujeres (86,14%), observándose una supervivencia libre de enfermedad a los cinco años del 81% (IC 95% 74,52-87,47) y del 71% a los 10 años (IC 95% 63,33-79,26), con un tiempo medio libre de

enfermedad de 118,75 meses (IC 95% 111,86-125,65) (figura 2).

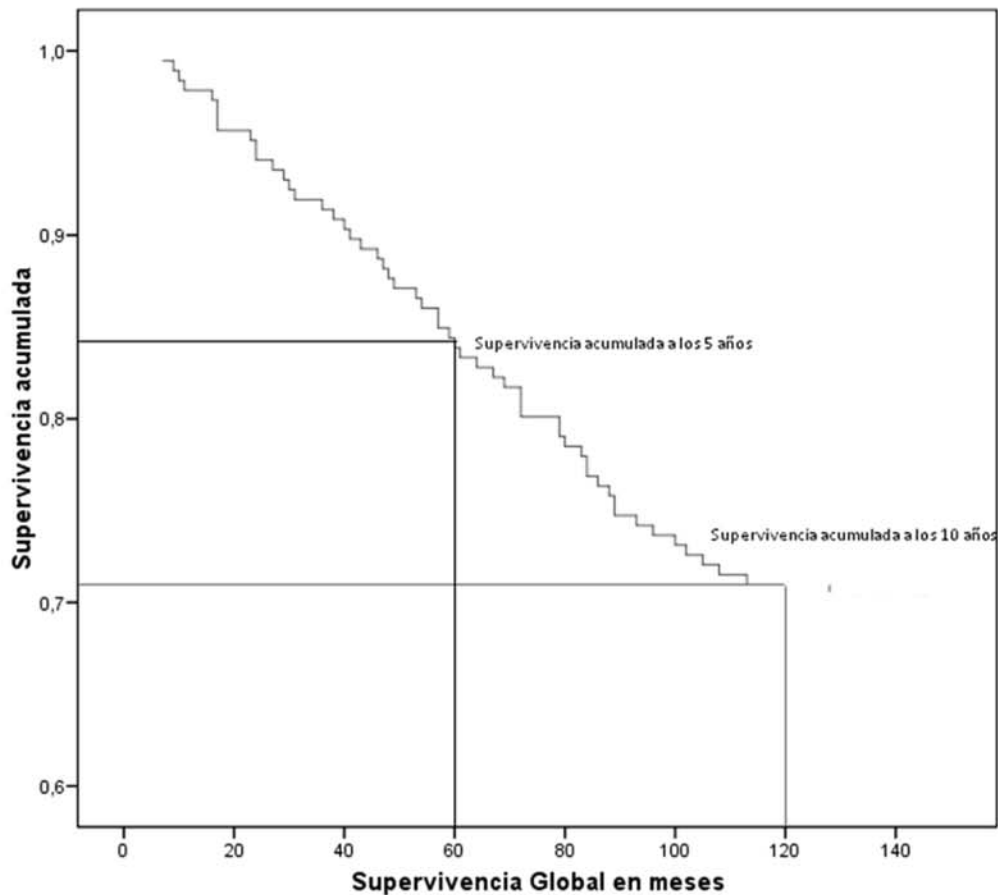
En el grupo de mujeres que sufrieron algún tipo de recaída de la enfermedad (recidiva o metástasis), el tiempo medio libre de enfermedad fue de 51,18±33,34 meses, con

Olga Ocón Hernández et al.

Tabla 3
Distribución por estadio en cáncer de mama

Estadio Clínico	n (%)	Estadio Postquirúrgico	n (%)
I	425 (12,38)	I	30 (14,85)
IIA	99 (49,01)	IIA	64 (31,68)
IIB	31 (15,35)	IIB	50 (24,75)
IIIA	12 (5,94)	IIIA	22 (10,09)
IIIB	6 (2,97)	IIIB	11(5,44)
IIIC	0	IIIC	5 (2,47)
IV	4 (1,98)	IV	2 (0,99)
No disponible	25 (12,37)	No disponible	18 (8,91)
Total	202 (100)	Total	202 (100)

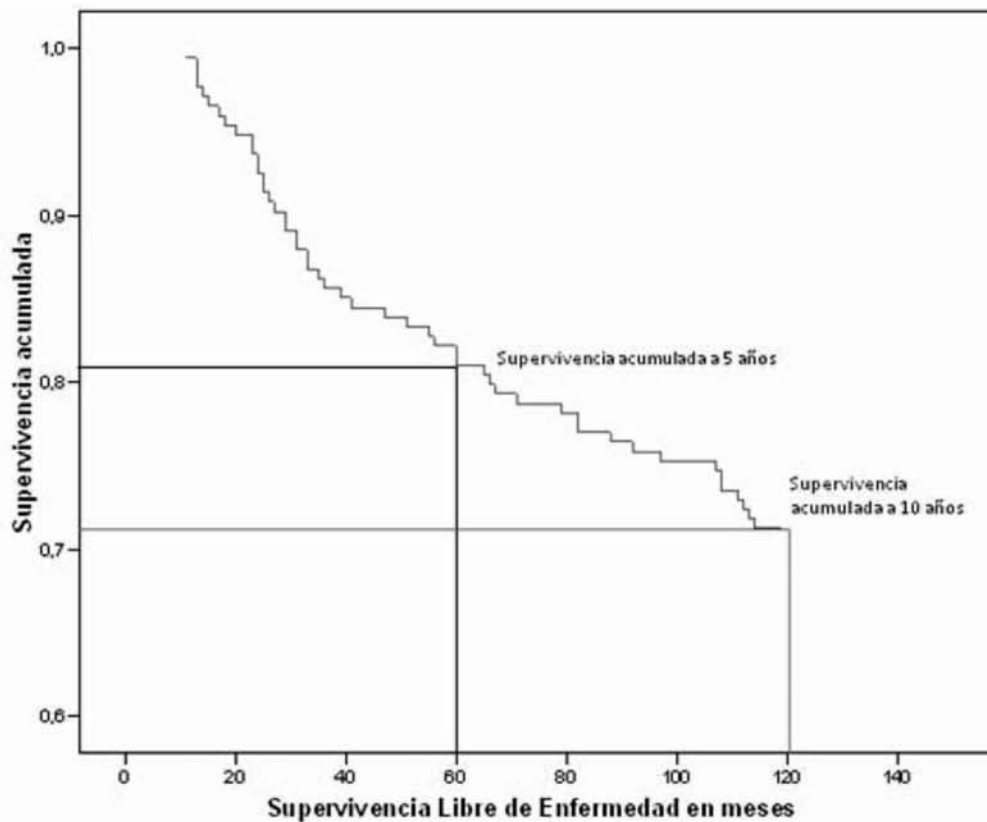
Figura 1
Supervivencia global



SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA TRAS 10 AÑOS DE SEGUIMIENTO EN LAS PROVINCIAS DE GRANADA Y ALMERÍA

Figura 2

Supervivencia libre de enfermedad



una mediana de 37,50 meses, un percentil 25% de 24 meses y un percentil 75% de 79,75 meses. Para los casos que no presentaron recidiva o metástasis, el tiempo de supervivencia medio fue de $126,20 \pm 23,51$ meses, y de $80,75 \pm 44,06$ meses para los que presentaron recaída de la enfermedad, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$). La supervivencia global de los casos que no presentaron metástasis a lo largo del seguimiento fue del 90,1%, frente al 19,5% de los que sí la presentaron ($p < 0,001$).

En el estudio de la relación entre supervivencia global y libre de enfermedad y la edad de las mujeres en el momento del diagnóstico así como con las características de la enfermedad, no se encontró ninguna asociación

estadísticamente significativa entre supervivencia y edad, independientemente de la utilización de esta variable de manera continua o categórica. Tampoco se ha podido establecer ninguna asociación estadísticamente significativa entre la edad y características de la enfermedad, tales como estadio, grado y tipo histológico.

La supervivencia global se estudió atendiendo a los tipos histológicos previamente descritos, de manera que para los carcinomas ductales, con sus variantes celulares, la supervivencia fue del 83,2 y 70,3% a los 5 y 10 años de seguimiento, respectivamente, con un tiempo medio de supervivencia de 119,3 meses (IC 95% 112,42-126,17). Para los carcinomas lobulillares, la supervivencia fue del 85,7% a los 5 años y del 64,3% a los

Olga Ocón Hernández et al.

10 años, con un tiempo medio de supervivencia de 117,14 meses (IC 95% 95,48-138,81). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a supervivencia entre ambos tipos histológicos.

Entre los 171 (84,65%) casos para los que se pudo conocer el estadio postquirúrgico, presentaron una mayor supervivencia global aquellos diagnosticados en los estadios menos avanzados, con una supervivencia global del 85,7% y del 71,4% a los 5 y 10 años para el estadio I y del 86,2% a los 5 años y del 77,6% a los 10 años para el estadio II. El tiempo medio de supervivencia para los casos clasificados dentro del estadio I fue de 118,54 meses (IC 95% 101,27-135,8) y de 124,97 meses (IC 95% 113,93-134,21) para el IIA. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre supervivencia global y estadio postquirúrgico; sin embargo, si se encontró asociación significativa ($p=0,014$) entre la supervivencia libre de enfermedad y el estadio, aunque únicamente entre el estadio I y el IIA con una mayor supervivencia libre de enfermedad para el estadio I.

En nuestra serie, los casos clasificados en el grado 1 de diferenciación presentaron una supervivencia global del 93,8%, tanto a los 5 como a los 10 años; con un tiempo medio de supervivencia de 136,87 meses (IC 95% 127,15-146,6). La supervivencia descendió progresivamente a medida que aumentó el grado, llegando al 68,5% y 50,7% a los 5 y 10 años, respectivamente, para los casos con grado 3; con un tiempo medio de supervivencia de 99,93 meses (IC 95% 88,22-111,64). Las diferencias fueron estadísticamente significativas cuando se compararon todos los grados histológicos entre sí ($p<0,001$).

Por último, la invasión de los ganglios axilares determinó una supervivencia significativamente menor ($p<0,001$), con una supervivencia global a los 10 años del 57,6%

si había invasión y del 82,8% si no existía. La infiltración ganglionar también determinó una menor supervivencia libre de enfermedad ($p=0,047$). La supervivencia libre de enfermedad a los 10 años para los casos sin invasión fue del 78,1% y del 64,5% si había metástasis ganglionar.

DISCUSIÓN

Las mujeres incluidas en nuestro estudio presentan características similares en supervivencia a las descritas previamente en Europa. Así, la supervivencia global tanto a los 5 años (83,9%) como a los 10 años (71%), son comparables a las descritas en el estudio EURO CARE, que estimó una supervivencia media para cáncer de mama a los 5 años del diagnóstico del 76,1% entre los años 1983-1994¹⁵, pero que ascendió al 82,2% para el periodo 1994-2003⁷, rango de años en el que se enmarca nuestra serie. Nuestros resultados también son comparables a los establecidos por la base de datos GLOBOCAN 2000^{8,16}, que incluye los referidos en EURO CARE y SEER, y que considera una supervivencia media en Estados Unidos del 81% a los 5 años.

En España en particular, el estudio El Álamo sobre cáncer de mama llevado a cabo entre los años 1990-1997^{17,18}, refiere un tiempo medio de supervivencia global de 8,68 años/104,16 meses (IC95%: 8,50/96,6-8,85/106,2), ligeramente inferior a los 9,99 años/119,91 meses (IC95%: 113,65-126,17) descritos en nuestro estudio. Es interesante recordar a este respecto, que entre los 32 hospitales incluidos en el estudio de referencia no se encuentran las provincias de Granada y Almería, por lo que la información aquí recogida bien podría ayudar a componer el mapa de supervivencia en España.

En general, la supervivencia en mujeres con cáncer de mama en España ha mejorado ostensiblemente en las últimas décadas,

SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA TRAS 10 AÑOS DE SEGUIMIENTO EN LAS PROVINCIAS DE GRANADA Y ALMERÍA

pasando de un 64% a los 5 años del diagnóstico entre 1980-1985, a un 78% en el periodo 1990-1994^{7,15}. Pero además, si comparamos los resultados de supervivencia obtenidos en nuestra serie con dos estudios anteriores realizados en el mismo área geográfica en los años 80 y 90, es posible identificar una mejora en la precocidad del diagnóstico y en la supervivencia en sí misma. En el primero de los trabajos locales referidos¹⁹ se describe una edad media al diagnóstico de 56 años, similar a la de nuestro estudio, pero una distribución diferente en cuanto a subtipos histológicos y estadio. Así, la mitad de los tumores fueron carcinoma ductal infiltrante y en un 50% de los mismos el diagnóstico se efectuó en fases de la enfermedad localmente avanzada y/o distal, presentando un 49% de casos ganglios axilares positivos. La supervivencia global descrita a los 3 años de seguimiento fue del 82% y la supervivencia libre de enfermedad del 63%. Por otra parte, el segundo de los trabajos²⁰, publicado en 1996, incluye datos de un seguimiento más prolongado observando una supervivencia global a los 10 años del 60% y una supervivencia libre de enfermedad del 22%.

El principal factor en la mejora de supervivencia en cáncer de mama, según la literatura, es la mejora en los tratamientos adyuvantes a la cirugía²¹. Por otro lado, el control de la enfermedad podría deberse también al efecto del cribado del cáncer de mama mediante mamografía, que permite diagnosticar estadios más precoces de la enfermedad, aunque su eficacia sigue siendo controvertida²². En España se instauró escalonadamente a partir de 1990²³, aunque en Andalucía según datos del estudio DES-CRIC, el programa no se inició hasta 1995, siendo su implantación incompleta e irregular²⁴. No obstante el peso relativo de cada uno de estos factores está aún por dilucidar²¹.

Es cierto que la comparación de datos de supervivencia entre diferentes series se

encuentra con dificultades derivadas tanto de la forma de presentación de los resultados, por ejemplo, el uso de la supervivencia relativa¹⁶, como por las características mismas de la población de estudio que pueden variar fuertemente en rangos de edad y estadios diagnósticos. Afortunadamente, las características generales de nuestra población se asemejan a las referidas en otros estudios realizados en España durante las dos últimas décadas, lo que permite la comparación de resultados. Así, el proyecto El Álamo describe una edad media al diagnóstico de 56,72 años, lo que se corresponde con los 54,27 años descritos en nuestra serie. De igual manera, en el estudio El Álamo, aproximadamente un tercio de los casos son diagnosticados en mujeres menores de 50 años, porcentaje similar a los datos observados en nuestra serie (35,15%). Las características histológicas en nuestra serie también son equivalentes a las descritas en otros estudios, con una mayor presencia del tipo histológico ductal²⁵, por ejemplo, el 81,7% de la población de El Álamo presentó carcinoma ductal frente al 74,25% en nuestra población, mientras que el tipo lobulillar supuso aproximadamente el 7% en ambos estudios.

Otra información de interés es la distribución por estadio, ya que constituye un indicador de la calidad del diagnóstico en la enfermedad. Cerca del 20% de las pacientes en el estudio El Álamo presentó tumores localmente avanzados (IIIA y IIIB). En nuestro estudio fueron diagnosticados en estadios avanzados sólo el 13,4% de los casos. Estas cifras parecen excesivas para un país europeo, sin embargo podrían ser consecuencia, según los autores de El Álamo, del desconocimiento o miedo de la población femenina española frente a esta patología, lo que indica la necesidad de llevar a cabo, entre otras cosas, campañas de divulgación e información sobre esta enfermedad.

Olga Ocón Hernández et al.

El 48% de las mujeres en el estudio El Álamo no tenía afectación de los ganglios axilares, porcentaje algo menor al descrito en nuestra población de estudio, con un 58% de los casos con ganglios negativos. Esta característica de nuestra serie podría constituir un dato diferenciador, ya que la no afectación ganglionar es determinante para la supervivencia de las pacientes²⁶ y justificar que la supervivencia global de nuestro estudio sea ligeramente superior a la descrita en El Álamo, situada en 119,91 meses frente a 104,16 meses de nuestra serie.

En la mayoría de los trabajos revisados el grado histológico más frecuente es el grado 2, constituyendo aproximadamente el 60% de los casos diagnosticados¹⁷. Sin embargo, nuestra población presentó una distribución equivalente entre los grados 2 y 3, 41,29% y 47,1%, respectivamente. Un mayor grado histológico se ha asociado consistentemente con una disminución de la supervivencia a largo plazo²⁶, hecho que se confirma en nuestra serie donde la supervivencia a 5 y 10 años en las pacientes con grado 1 de diferenciación fue del 93,8%, y para el grado 3, del 68,5% a 5 años y 50,7% a 10 años.

Son muchos los factores pronósticos identificados en el seguimiento de las pacientes con cáncer de mama, aunque no todos han sido validados y reconocidos como tales en las diferentes series de pacientes^{11,25,26}. Nuestro trabajo confirma el valor pronóstico de algunos de ellos (estadio al diagnóstico, que incluye la afectación de ganglios axilares y presencia de metástasis, y el grado histológico) y fracasa a la hora de poner de manifiesto la significación de otros. Las limitaciones inherentes a las características de nuestra muestra (cohorte de base hospitalaria con criterios de selección definidos a priori y con un reducido tamaño, junto con la validez de calidad de los registros utilizados, que por ejemplo impide evaluar de forma estratificada la edad), deben ser tenidas en cuenta a la hora de extraer conclusiones de orden general.

BIBLIOGRAFÍA

1. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER Cancer Statistics Review. 1975-2006. [Citado 29 Mayo, 2009]. Disponible en: <http://seer.cancer.gov/>.
2. Martín M, Mahillo E, Llombart-Cussac A, Lluch A, Munarriz B, Pastor M, et al. The «El Álamo» Project (1990-1997): two consecutive hospital-based studies of breast cancer outcomes in Spain. *Clin Transl Oncol*. 2006; 8(7): 508-18.
3. Pollán M, Ramis R, Aragonés N, Pérez-Gómez B, Gómez D, Lope V et al. Municipal distribution of breast cancer mortality among women in Spain. *BMC Cancer*. 2007; 7:78.
4. Ruíz M, Viciano F. Tendencia y distribución geográfica de la mortalidad por cáncer de mama en Andalucía (1976-1995). *Aten Primaria*. 1997; 299-304.
5. López-Abente G, Pollán M, Aragonés B, Pérez Gómez V, Hernández Barrera V, Lope V, et al. Situación del cáncer en España: incidencia. *An Sist Sanit Navar*. 2004; 27 (2): 165-73.
6. Díez MC, Ortega P, Villanueva R, Albaladejo R, Astasio P, Calle ME. Características epidemiológicas relacionadas con el cáncer de mama en mujeres pre y postmenopáusicas. *Med Clin (Barc)*. 2000; 115: 281-6.
7. Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, Gatta G, Micheli A, Mangone L, et al. Recent cancer survival in Europe: a 2000-02 period analysis of EURO-CARE-4 data. *Lancet Oncol*. 2007; 8 (9): 784-96.
8. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Caner J Clin*. 2005; 55 (2): 74-108.
9. Consejería De Salud. Plan Integral de Oncología de Andalucía 2002-2006. Disponible en www.junta-deandalucia.es.
10. Ruiz Ramos M, Expósito J. Tendencia de la mortalidad por cáncer en Andalucía entre 1975 y 2003. *Med Clin (Barc)*. 2007;128(12): 448-52.
11. Domínguez MA, Marcos M, Meiriño R, Villafranca E, Dueñas MT, Arias F, et al. Factores pronósticos y predictivos en el cáncer de mama temprano. *An Sist Sanit Navar*. 2001; 24 (Supl 1): 99-110.
12. Patterson RE, Cadmus LA, Emond JA, Pierce JP. Physical activity, diet, adiposity and female breast

SUPERVIVENCIA EN CÁNCER DE MAMA TRAS 10 AÑOS DE SEGUIMIENTO EN LAS PROVINCIAS DE GRANADA Y ALMERÍA

- cancer prognosis: A review of the epidemiologic literature. *Maturitas*. 2010; 66(1):5-15.
13. Ibarluzea JM, Fernandez MF, Santa Marina L, Olea MF, Rivas AM, Aurrekoetxea JJ, et al. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes Control* 2004; 15:591-600.
 14. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al, editors. *AJCC Cancer staging manual*, 6th edition. New York: Springer; 2002.
 15. Sant M, Aareleid T, Berrino F, Bielska Lasota M, Carli PM, et al. EUROCORE-3: survival of cancer patients diagnosed 1990-94, results and commentary. *Ann Oncol* 2003; 14 (Supl 5):61-118.
 16. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: GLOBOCAN 2000. *Int J Cancer*. 2001; 94: 153-6.
 17. Martín M, Llombart-Cussac A, Lluch A, Alba E, Munarriz B, Tusquets I, et al. Epidemiologic study of the GEICAM group about breast cancer in Spain (1990-1993): El Alamo project. *Med Clin (Barc)*. 2004;122: 12-7.
 18. Martín M, Mahillo E, Llombart-Cussac A, Lluch A, Munarriz B, Pastor M, et al. The «El Alamo» project (1990-1997): two consecutive hospital-based studies of breast cancer outcomes in Spain. *Clin Transl Oncol*. 2006; 8 (7): 508-18.
 19. Moral R del, Ruíz de Almodóvar JM, Villalba J, López Ruíz JM, Expósito J, García Puche JL, et al. Supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en cáncer de mama. Factores de influencia. *Oncología (Barc)*. 1989; 12(2): 83-92.
 20. Pérez Cabrera B. Factores pronósticos en el cáncer de mama y evaluación de los receptores hormonales: estudio sobre 241 casos [Tesis Doctoral]. Granada: Universidad de Granada; 1996.
 21. Rosso S, Gondos A, Zanetti R, Bray F, Zakej M, Zagar T, et al; the EUNICE Survival Working Group. Up-to-date estimates of breast cancer survival for the years 2000-2004 in 11 European countries: The role of screening and a comparison with data from the United States. *Eur J Cancer*. En prensa.
 22. Mc Tiernan A. Recente controversies in mammography screening for breast cancer. *Medscape Womens Health* 2002; 7(2):3.
 23. Izquierdo A, Gispert R, Saladie F, Espinás JA. Análisis de la incidencia, la supervivencia y la mortalidad según las principales localizaciones tumorales, 1985-2019: cáncer de mama. *Med Clin (Barc)*. 2008; 131 (Supl 1): 50-2.
 24. Castells X, Sala M, Ascunce N, Salas D, Zubizarreta R, Casamitjana M, coordinadores. Descripción del cribado del cáncer en España. Proyecto DESCRIC. Madrid: Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad y Consumo. Agència d'Avaluació de Tecnologia i Recerca Mèdiques de Catalunya; 2007. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias, AATRM núm. 2006/0.
 25. Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2008; 107: 309-30.
 26. Flores-Luna L, Salazar-Martínez E, Duarte-Torres RM, Torres-Mejía G, Alonso-Ruiz P, Lazcano-Ponce E. Factores pronósticos relacionados con la supervivencia del cáncer de mama. *Salud Publica Mex*. 2008; 50:119-25.



FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA

OLGA OCÓN HERNÁNDEZ

CARGA ESTROGÉNICA
TOTAL EFECTIVA
Y SUPERVIVENCIA
EN **CÁNCER DE MAMA**

TESIS DOCTORAL
GRANADA 2011

