



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTAD DE CIENCIAS

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

Revisión bibliográfica: Telómeros y Cáncer de Mama

Revisión bibliográfica: Telómeros e Cancro de Mama

Literature review: Telomeres and Breast Cancer

Nerea Pequeño Freire

Curso: 2017/2018- Convocatoria: Diciembre

Director Académico: **Manuel Becerra Fernández**

D. Manuel Becerra Fernández, en calidad de tutor autoriza la presentación del Trabajo de fin de Grado titulado: “Telómeros y Cáncer de Mama” realizado por Dña. Nerea Pequeño Freire para su defensa ante el tribunal evaluador.

A Coruña, 11 de Diciembre de 2017.

ÍNDICE

Resumen/ Resumo/ Summary

Palabras clave

1. Introducción.....	6
1.1. Telómeros: estructura y función.....	7
1.2. Problema de la replicación de los telómeros.....	10
1.3. Telomerasa: estructura y regulación.....	13
2. Objetivos.....	18
3. Material y Métodos.....	18
4. Discusión.....	19
5. Conclusiones.....	28
6. Bibliografía.....	30

RESUMEN

Los telómeros son repeticiones en tándem de ADN no codificante situados al final de los cromosomas, cuya función principal es la protección y estabilidad de los mismos. En cada división celular los telómeros se acortan, hasta llegar a un punto en el que se desencadena el proceso de senescencia celular y apoptosis. La telomerasa añade fragmentos de ADN *de novo* alargando los telómeros, pero sólo presenta actividad en las células embrionarias, la línea germinal y células madre poco diferenciadas. Si esta enzima se reactiva, aunque la célula haya llegado a su número máximo de divisiones, permite que se sigan produciendo las divisiones, alargando los telómeros. Esta situación está ligada a muchos tipos de cáncer, como el cáncer de mama, uno de los tumores más habituales que afectan a las mujeres actualmente.

En esta revisión bibliográfica se pretende recoger información sobre la relación entre telómeros, telomerasa y cáncer de mama.

PALABRAS CLAVE:

Telómero, telomerasa, cáncer de mama.

RESUMO

Os telómeros son repeticions en tándem de ADN non codificante que se atopan ó final dos cromosomas, cuxa función principal é a protección e estabilidade dos mesmos. En cada división celular os telómeros acórtanse, ata chegar ó punto no que se desencadea o proceso de senescencia celular e apoptose. A telomerasa engade fragmentos de ADN *de novo* e elonga os telómeros, pero só presenta actividade nas células embrionarias, xerminais e células nai pouco diferenciadas. Se esta enzima se reactivase, aínda que a célula chegase ó seu límite máximo de divisións, permite que se sigan producindo as divisións, elongando os telómeros. Esta situación está ligada a moitos tipos de cancro, como o cancro de mama, un dos tumores máis habituais que afectan ás mulleres na actualidade.

Nesta revisió bibliográfica pretndese recollir información sobre a relación entre telómeros, telomerasa e cancro de mama.

PALABRAS CHAVE:

Telómero, telomerasa, cancro de mama.

ABSTRACT

Telomeres are tandem repetitions of non-coding DNA placed at the end of chromosomes whose main function is to protect and stabilize them. On each cellular division, telomeres are being shortened, until the point where senescence and apoptosis are triggered. Telomerase adds new DNA fragments that lengthen the telomeres, but its activity is only shown in germ, stem and mother cells. Despite the fact that the cell has reached the top of divisions, if telomerase is reactivated, it allows the cell to keep dividing itself, because of the telomere lengthening. This situation is related with several types of cancer, such as breast cancer, which is one of the most current tumour that affects women nowadays.

This bibliographic revision attempts to gather information based on the relation between telomeres, telomerase and breast cancer.

KEY WORDS

Telomere, telomerase, breast cancer.

1. Introducción

El cáncer, también llamado tumor maligno, deriva del crecimiento desmesurado y descontrolado de un conjunto de células con la capacidad de invadir otros tejidos del cuerpo. Esta división celular masiva se produce, principalmente, por mutaciones en proto-oncogenes, en genes supresores de tumores y en los mecanismos de reparación del ADN (Caldés Trinidad, 2005).

El cáncer de mama es una de las principales causas de mortalidad por cáncer en mujeres de todo el mundo. Es un tumor maligno que se desarrolla en los tejidos de la mama, llamado carcinoma ductal (60% de los casos), si se produce una proliferación desmesurada en las células epiteliales que rodean a los conductos lactíferos (encargados de conducir la leche desde la mama hasta el pezón), o carcinoma lobulillar, en el caso de que se produzca en los lobulillos (zona en la que se produce la leche materna) (Murillo-Ortiz et al., 2017). El número de casos de esta enfermedad sigue incrementando, sobre todo en países desarrollados, donde algunos de los factores de riesgo son: sexo, edad, predisposición genética, factores hormonales, reproductivos y alimentarios. A pesar de que esta carcinogénesis ha sido estudiada desde hace más de 100 años, no se conoce todavía el origen con exactitud, aunque sí mecanismos que pueden derivar en el mismo. (Novoa et al., 2006, Rodríguez y Capurso, 2006).

Una de las circunstancias presentes en la mayoría de los tumores es la presencia de una longitud telomérica reducida y expresión de actividad telomerasa. El acortamiento de los telómeros desencadena senescencia y muerte celular por apoptosis. Sin embargo, si esto no ocurre, las células continuarán dividiéndose, resultando en inestabilidad genómica y anormalidades en el cromosoma (Zhu et al., 2017). Si, además, se reactiva la enzima telomerasa, clave para el mantenimiento de la longitud del ADN telomérico (ya que lo sintetiza) permitirá que estas células sigan dividiéndose, pudiendo dar lugar a la inmortalidad de las mismas. Por lo tanto, si se sobrepasa la barrera de la senescencia, se adquiere potencial de proliferación infinita originando una oncogénesis que, en algunos casos, se lleva a cabo por la inducción transcripcional de la telomerasa.

Hermann J. Müller fue el primero en observar que, al aplicar rayos X a cromosomas de *Drosophila melanogaster*, no se producían mutaciones en los extremos de los mismos, si no que actuaban como una protección. A esta zona del cromosoma la designó como telómeros. Su función de mantenimiento de la integridad cromosómica fue descrita por Bárbara McClintock. Estos dos científicos fueron los pioneros en el estudio de los extremos de los cromosomas, tema en el que se ha seguido investigando (Chuaire, L. 2006).

1.1. TELÓMEROS: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

Los telómeros, situados en los extremos de los cromosomas, son secuencias de ADN ricas en G repetidas en tándem que, aún siendo una sucesión de nucleótidos altamente conservada, varía ligeramente entre las especies; en humanos es TTAGGG, en dirección 5'-3', con una longitud aproximada de 5 a 15 Kb (Allshire, R. C et al., 1989), que acaba en una cadena simple sobresaliente u *overhang*. Esta hebra monocatenaria consta de entre 50-300 nucleótidos que, al emparejarse con las secuencias complementarias de las repeticiones teloméricas, forman una estructura en bucle, llamada *T-loop* (Figura 1). Esta disposición, junto con la ayuda de las proteínas TBP (*Telomere Binding Proteins*), ayudan a la protección del telómero (de Lange, 2005). La longitud de los telómeros viene genéticamente determinada y según estudios realizados por Nordjäll (Nordfjäll, K et al., 2005), existe una correlación entre la longitud de los telómeros de los padres y de los hijos, mientras que los de las madres no influyen.

La principal función de los telómeros es el mantenimiento de la integridad de los cromosomas lineales, ya que serían identificados como ADN dañado. Así se evita la degradación de los mismos y posibles recombinaciones indeseadas. Aunque tienen otros papeles como: la participación en el apareamiento de cromosomas homólogos durante la meiosis, en el alineamiento de los cromosomas y segregación cromosómica, tanto en mitosis, como en meiosis.

A los extremos de los cromosomas, se encuentran unidas un grupo de proteínas denominadas shelterinas o complejo *shelterin*, entre las que se encuentran:

TRF1, TRF2, POT1, RAP1, TPP1 y TIN2 (Jafri, M. A et al., 2016). Sus funciones son: protección de los telómeros, formación de estructuras terciarias de ADN y reclutamiento de la enzima telomerasa (Figura 2).

TRF (*Telomeric Repeat binding Factor*) 1 y 2 son proteínas estructurales que forman un homodímero que se unen específicamente al ADN de los telómeros mediante el dominio Myb del extremo C-terminal. TRF1, unido a regiones de doble cadena, impide la unión de la telomerasa en cis para evitar la elongación del cromosoma, por lo que su inhibición los alargaría, y su sobre-expresión los acortaría. TRF2, unido a la cadena *overhang*, permite la formación del *T-loop*, estando también implicada en el mantenimiento y estabilidad cromosómica. A TRF2 también se le conoce como un factor oncogénico clave del acortamiento de los telómeros para generar inestabilidad cromosómica. Esto, junto con la deficiencia en p53 (proteína supresora de tumores) y en presencia de telomerasa, son aceleradores de la carcinogénesis. Estas dos proteínas están unidas por TIN2 (*TRF1-and-TRF2-interacting nuclear protein 2*) mediante interacción proteína-proteína para estabilizar su asociación al ADN, cuya disminución o ausencia produce el alargamiento de los telómeros. Las proteínas shelterinas pueden tener funciones alejadas de los telómeros, como en el caso de la anterior, que participa también en el ensamblaje de la heterocromatina. RAP1 (*repressor/activator protein 1*) interacciona con TRF2 mejorando su unión específica al ADN. TPP1 funciona como nexo entre TIN2 y POT1 (*Protection Of Telomere Protein 1*), unido al extremo monocadena del telómero a través de su extremo N-terminal. La pérdida de TPP1 desencadena el alargamiento de los telómeros. POT1, además de colaborar en la formación del *T-loop*, si no se encuentra unido a la hebra 3' de cadena sencilla del telómero, se pierde el control de la longitud telomérica, ya que la telomerasa podrá acceder a estos y elongarlos (Xu y Goldkorn, 2016; Hanaoka et al., 2005; Arvelo F. y Morales A., 2004; Boscolo-Rizzo et al., 2016; Lewis y Wuttke, 2012).

Además de la ya mencionada anteriormente telomerasa, existe un mecanismo alternativo menos conocido por el que los telómeros se alargan, llamado ALT (*Alternative lengthening of telomeres*). Utiliza mecanismos de replicación de ADN basados en la recombinación homóloga (Lu L. et al., 2011) y es empleado en el 10-15% de los tumores, como método de mantenimiento de los telómeros. Se

piensa que la activación del mismo es debido a la pérdida de factores de remodelación de la cromatina como ATRX y DAXX, lo que conduce a una producción de secuencias de ADN teloméricas alteradas (Jafri et al., 2016).

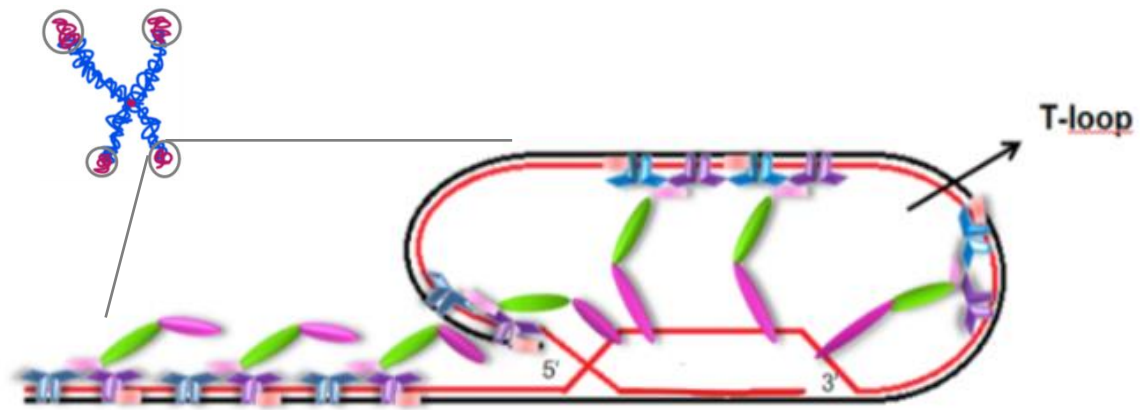


FIGURA 1. Estructura T-loop. Figura representativa de la estructura *T-loop* del telómero, junto con el complejo *shelterin* (Modificación a partir de Gümüs-Akay y Tükün, 2012).

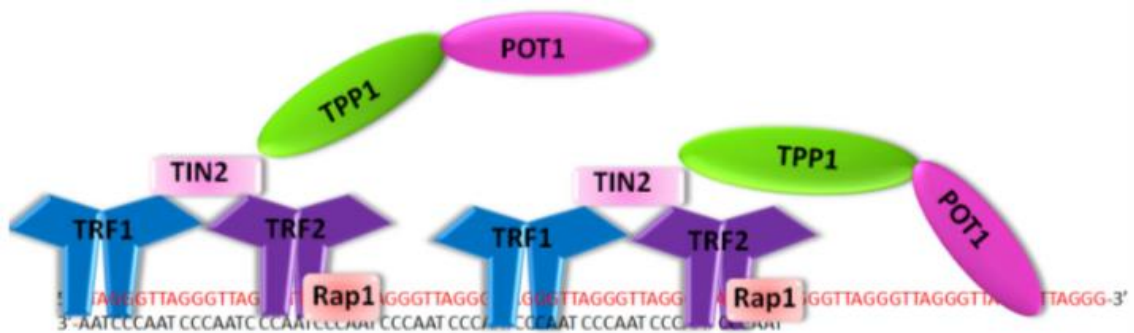


FIGURA 2. Complejo *shelterin*. Representación esquemática de la disposición de las proteínas shelterinas (TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1 y POT1) en el ADN de los telómeros (Gümüs-Akay y Tükün, 2012).

1.2. PROBLEMA DE LA REPLICACIÓN DE LOS TELÓMEROS

Los telómeros actúan como un reloj biológico, ya que limitan la vida de la célula a un número predeterminado de divisiones celulares a partir del cual se produce envejecimiento y senescencia. Este punto se conoce como el límite de Hayflick (Shay y Wright, 2011), debido al nombre de su descubridor, y se relaciona con el envejecimiento y supresión de tumores. La longitud de los telómeros está distribuida de forma desigual entre los brazos de los cromosomas, por lo que el telómero más corto será el decisivo para desencadenar la señal de senescencia.

El motivo del acortamiento de los telómeros con cada división se debe a que la ADN-polimerasa sólo replica en dirección $5' \rightarrow 3'$ y necesita un cebador que actúe como molde para proporcionar el extremo $5'$ y comience la síntesis. Las dos hebras del ADN antiparalelas se separan en el origen de replicación y para comenzar la síntesis es necesario un extremo $3'$ -OH (aportado por los cebadores) para que la ADN-polimerasa actúe. Mientras la replicación de la cadena líder ($3'$ - $5'$) es continua hasta el final, la de la cadena rezagada ($5'$ - $3'$) es discontinua y para un poco antes del remate de la hebra. Incluso si un cebador de ARN se añadiese justo en el fin del cromosoma, esta cadena aún no estaría completa. Los fragmentos de ADN recientemente sintetizados proporcionan este extremo $3'$ -OH necesario para que la enzima trabaje y reemplazar el ARN por ADN. Sin embargo, al final del cromosoma, en el telómero, al eliminar el último *primer*, no hay un grupo $3'$ -OH disponible para la síntesis (Figura 3). Este es un problema en los cromosomas lineales, ya que en cada ciclo de replicación se reduce progresivamente la longitud de los cromosomas, por la incapacidad de replicar completamente los telómeros (Eskandari-Nasab et al., 2015).

Aunque el problema de la replicación sea el principal mecanismo por el cual se reduce la longitud de los telómeros, también se debe a distintos mecanismos como: estrés oxidativo, radiación ultravioleta o a la acción de los oncogenes.

Una de las características de los tumores es la presencia de telómeros más cortos que los de los tejidos normales, pero aún manteniendo una longitud alarmantemente corta, tienen la capacidad de ser inmortales. Para esto es

necesario que se superen las barreras de los puntos de control del ciclo celular, de tal forma que, la inmortalidad se define como la pérdida del ciclo celular por la evasión de la senescencia. Cuando el telómero llega a una longitud crítica se pierde la homeostasis del cromosoma, que resulta en inestabilidad genómica, quedando expuesto a posibles fusiones cromosómicas y finalmente, acabarán en muerte celular. Una de las causas de la inestabilidad genómica relacionada con los telómeros es la reparación incorrecta del ADN en telómeros disfuncionales. Los telómeros dañados pueden seguir dos vías de reparación: NHEJ (*nonhomologous end-joining*) o uniones terminales no homólogas y HDR (*homology-directed repair*) o reparación dirigida por homología. Cuando la proteína TRF2 se inhibe, o cuando los telómeros se vuelven muy cortos, se crean fusiones en las terminaciones de los cromosomas que, si siguen la vía de reparación no homóloga o NHEJ, generan cromosomas unidos de forma covalente que, durante la anafase de la mitosis crean inestabilidad genómica. Mientras que, si siguen la vía de reparación homóloga o HDR generan esta inestabilidad gracias a recombinaciones inapropiadas entre dos telómeros de un mismo cromosoma, ocasionando elongación de un telómero a expensas del otro (De Lange, 2005).

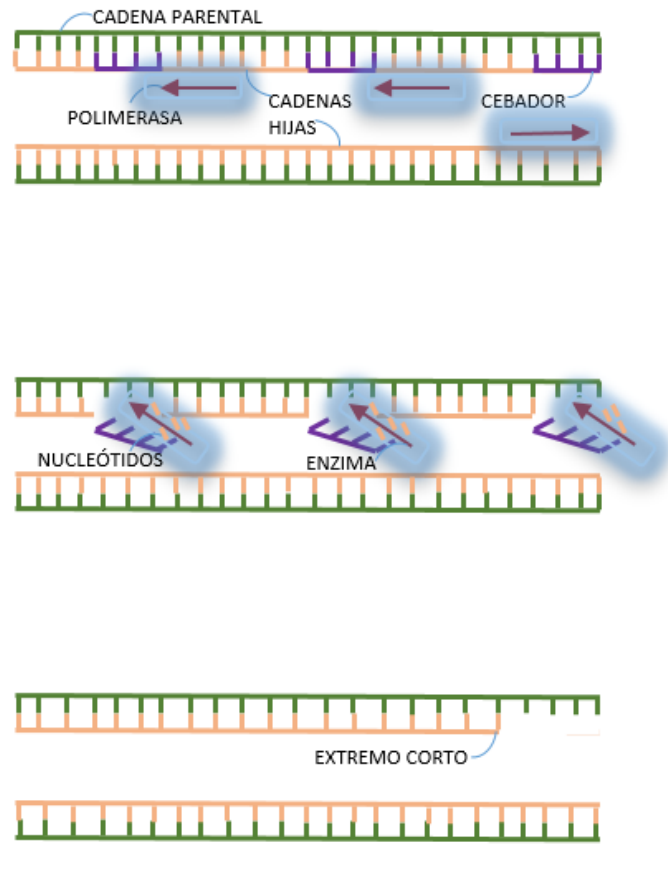


FIGURA 3. Replicación de los telómeros. Representación gráfica del acortamiento de los telómeros durante la replicación. En la cadena retrasada, al eliminar el último cebador la ADN-polimerasa no puede añadir más nucleótidos, ya que no dispone de un extremo 3'-OH, y el telómero se acorta.

No obstante, si, como se ha dicho antes, se sobrepasan estos límites, la longitud del telómero puede ser conservada mediante la actividad de la enzima telomerasa o por otros mecanismos (Xu y Goldkorn, 2016; Arvelo y Morales, 2004; Boscolo-Rizzo et al., 2016; Lewis y Wuttke, 2012; Shay y Wright, 2011; Artandi y DePinho, 2010).

Por lo tanto, los telómeros, a la par que protegen al cromosoma induciendo a la senescencia, pueden promover la tumorigénesis, en el caso de pérdida del control del ciclo celular.

1.3. TELOMERASA: ESTRUCTURA Y REGULACIÓN

La telomerasa fue descubierta por Blackburn y Carol Greider en 1985 en la especie *Tetrahymena* (Jafri et al., 2016). Es una enzima que requiere una molécula molde de ARN para comenzar la síntesis de ADN, que llevan a cabo únicamente de forma unidireccional. La transcriptasa inversa en humanos, consta de dos subunidades: la catalítica o hTERT (*human Telomerase Reverse Transcriptase*), con actividad telomerasa, y la proteica o hTR (*human Telomerase RNA*), que contiene el ARN molde o *template* complementario al ADN telomérico. El hTR presenta una secuencia de 11 nucleótidos que, en dirección 5'-3' es la siguiente: CUAACCCUAAC. Además de las dos subunidades, la proteína diskarina está asociada a la telomerasa para mantener su estabilidad.

La telomerasa actúa antes de la replicación añadiendo repeticiones teloméricas en uno de los extremos de la cadena 3' *overhang*. El molde de ARN permite el reconocimiento de este extremo y se une por complementariedad de bases. La subunidad catalítica dirige la retrotranscripción del ARN al ADN y, por consiguiente, su elongación. Una vez rematada, el complejo enzimático se desplaza para que el *template* de ARN se vuelva a unir a la zona complementaria de la secuencia alargada (Figura 4). Tras haber incrementado la longitud de la hebra, ocurre la replicación. De esta forma, aunque la hebra de nueva síntesis sea más corta, tendrá la misma longitud que la parental, antes de la acción de la telomerasa.

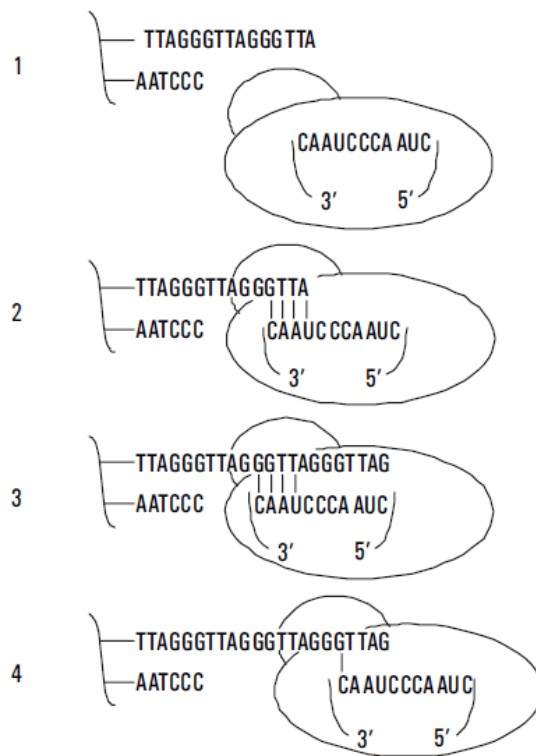


FIGURA 4. Mecanismo de acción de la telomerasa. (1) La telomerasa tiene un *template* de ARN con una parte complementaria a la secuencia telomérica. (2) Esta secuencia complementaria hibrida con el ADN del telómero. (3) La actividad telomerasa elonga el ADN, mediante retrotranscripción a partir del *template* de ARN. (4) Una vez acabado, el complejo de la telomerasa se desplaza y comienza la síntesis de nuevo (Hernández, 1999).

La actividad telomerasa está temporalmente regulada de acuerdo con los requerimientos del desarrollo. Esta actividad es detectada en el feto, en los estados prematuros, pero gradualmente disminuye hasta tener una actividad extremadamente baja, o carecer de ella desde el período prenatal en adelante, con la excepción de las células madre, células de la línea germinal y otras células muy regenerativas como las hematopoyéticas, epidérmicas y gastrointestinales. La disminución de la longitud de los telómeros en el resto de las células somáticas, como consecuencia del silenciamiento de la telomerasa, limita la capacidad proliferativa de estas células, contribuyendo al envejecimiento. Por lo tanto, el proceso de restablecimiento de la longitud de los telómeros durante la embriogénesis es necesaria para asegurar una reserva suficiente de ADN telomérico para mantener una integridad celular durante el desarrollo y el envejecimiento.

Ahora bien, la actividad telomerasa está presente en casi el 90% de los cánceres humanos y en un 70% de las líneas celulares inmortales (Ramlee et al., 2016). Esto es lo que le confiere a las células malignas una fuerte ventaja selectiva para continuar creciendo (Figura 5). Es necesario concretar que los niveles de expresión del ARNm de hTR suelen ser constantes y estar presentes en los tejidos, por lo que el factor limitante para la actividad telomerasa, en este caso, es la subunidad catalítica hTERT (Xu y Goldkorn, 2016).

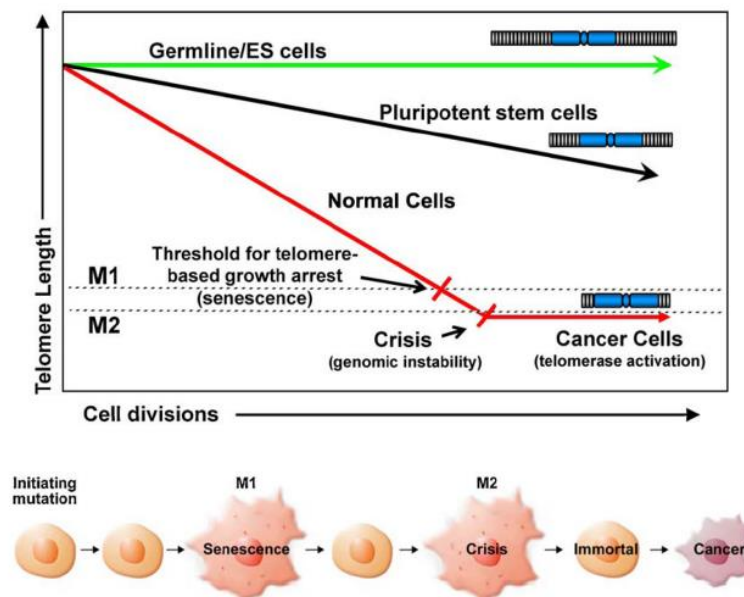


Figura 5. Actividad telomerasa y telómeros de distintos tipos celulares. Representación gráfica cómo afecta la telomerasa a la longitud telomérica en los diferentes tipos de células: de la línea germinal, pluripotentes, normales y cancerosas (Shay y Wright, 2012).

En un artículo publicado por Foronda y Blasco (Foronda et al., 2015), se trata una serie de estudios carcinogénicos en ratones con modificaciones genéticas en la telomerasa para conocer su relación con los telómeros y su longitud. El ratón $Terc^{-/-}$ presenta deficiencias en la actividad telomerasa y telómeros cortos desde el inicio, con el resultado de un acortamiento acelerado de los mismos. Esto provoca envejecimiento prematuro y aberraciones teloméricas, pero con una menor predisposición a desarrollar cáncer. Si este ratón se cruza con otro $p53^{-/-}$, es decir, con falta del gen supresor de tumores p53, daría lugar a $Terc^{-/-}; p53^{-/-}$, que es muy propenso a desarrollar cáncer con respecto al ratón control.

Otro modelo de ratón, contrario al anterior, es el K5-RT, que muestra sobreexpresión de la actividad telomerasa. En este caso hay menor envejecimiento, pero mayor predisposición al desarrollo de tumores, tendencia que se contrarresta con la adición de más copias de genes supresores de tumores, como el p53. Este es el ratón SUPER-M, con alta actividad telomerasa y dosis extra de genes supresores de tumores, que muestra mayor longevidad y menor predisposición a la tumorigénesis (Figura 6).

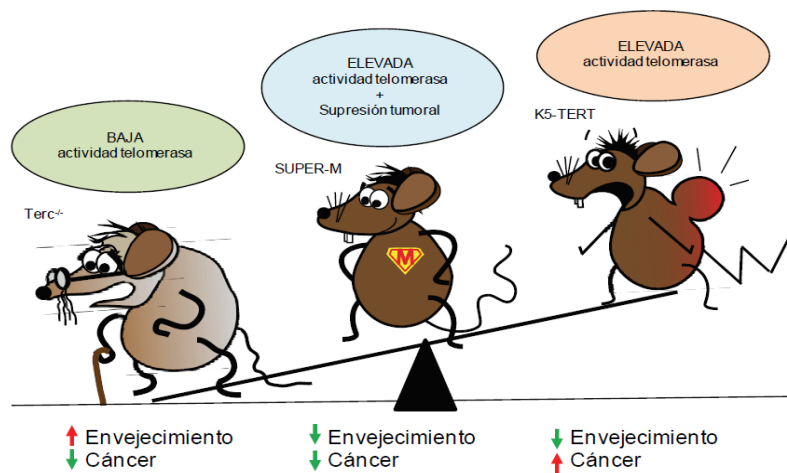


Figura 6. Estudio de la telomerasa en ratones. Representación de los tres tipos de ratones en los que se llevaron a cabo estudios sobre la telomerasa. (Foronda et al., 2015)

En resumen, la telomerasa beneficia la proliferación y crecimiento celular, que en presencia de mutaciones, adquieren un carácter de malignidad, pero no actúa como un oncogén, mientras que la propia longitud de los telómeros es un obstáculo para la evolución del tumor.

Los mecanismos subyacentes al mantenimiento de la longitud telomérica y expresión de la telomerasa incluyen tanto regulaciones transcripcionales (mediante factores de transcripción), post-transcripcionales (alteraciones en el *splicing* alternativo del pre-ARNm de hTERT) y epigenéticas (remodelación de la cromatina, metilación del ADN, modificaciones de histonas). Dentro de la regulación transcripcional, hay factores que regulan tanto positiva, como negativamente (Figura 7). Dentro de los que regulan positivamente la transcripción de la telomerasa se encuentran: c-Myc, SP1, factores de la familia E-26 o ETS (*E-twenty-six*), NF- κ B, AP-2 y HIF-1, mientras que dentro de los que

regulan negativamente se hallan: p53 (también conocido como TP53, reprimen la transcripción dependiente de SP-1), MAD (factor de transcripción involucrado en una red de control del ciclo celular), WT1, MZF-2, SIP1.

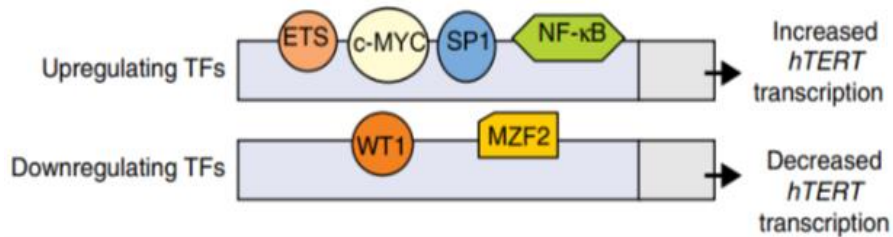


FIGURA 7. Regulación transcripcional de la telomerasa. Esquema representativo de factores que regulan positiva (ETS, c-MYC, SP1 y NK-κB) y negativamente (WT1 y MZF2) la enzima telomerasa (Jafri et al., 2016).

Estudios recientes han incluido dos mutaciones específicas del cáncer ligadas a la activación de la telomerasa en las células cancerosas. Están localizadas a -124 pares de bases (pb) y/o -146 pb aguas arriba del sitio de inicio de traducción de TERT y son transiciones de C a T. Asimismo, pese a que es menos frecuente, puede producirse otra mutación a -57 pb aguas arriba del codón de inicio ATG, donde se produce la transición de A a C (Jafri et al., 2016). En el cáncer de mama se ha localizado la región del cromosoma que contiene los genes que codifican para algunos represores, 3p12-21.1 en la línea celular 21NT (Gümüs-Akay y Tükün, 2012).

Además, la telomerasa está también regulada por las proteínas shelterinas y no shelterinas localizadas en los telómeros. Este tipo de regulación está basada en la accesibilidad de las secuencias teloméricas como sustrato de la enzima. El complejo *shelterin* puede actuar como regulador negativo, ya que cuanto más larga sea la longitud del telómero, mayor número de proteínas tendrá asociadas, formando una estructura *T-loop* más firme que disminuye las posibilidades de que la telomerasa se una. Concretamente, son las proteínas TRF1 y TRF2, que al presentar una mayor cantidad favorecen el acortamiento, mientras que si se encuentran en poca proporción pueden originar alargamiento. Por el contrario, las proteínas POT1 y TPP1 actúan como reguladores positivos. Cuando están unidos a la hebra monocatenaria impiden la unión de la enzima, pero hay un

mecanismo post-transcripcional o de ruptura del complejo POT1-TPP1, que deriva en el reclutamiento de la telomerasa para extender el telómero.

Desafortunadamente, los mecanismos relacionados con el control de la actividad telomerasa son un gran puzzle, ya que otras proteínas, a parte de las shelterinas, también pueden actuar como factores reguladores de la enzima telomerasa.

2. Objetivos

El objetivo de este estudio bibliográfico es la búsqueda de una relación entre el acortamiento de los telómeros y/o la activación de la telomerasa en el desarrollo del cáncer de mama.

3. Material y métodos

La estrategia de búsqueda ha sido planteada para recoger referencias que relacionen los telómeros con el cáncer de mama, además de bibliografía sobre telómeros y telomerasa. Las bases de datos utilizadas en la búsqueda de los artículos mencionados en este trabajo, han sido: PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), GoogleScholar (<https://scholar.google.es/>) y Scopus (<https://www.recursoscientificos.fecyt.es/>). Las palabras clave se limitaron a las siguientes: “telómeros/telomeres”, “telomerasa/telomerase”, “cáncer de mama/breast cancer”. La búsqueda se realizó entre junio y octubre de 2017, en la que se obtuvieron un total de 45 referencias, de las que se han seleccionado 15 para la redacción de la discusión, ya que hacían referencia al acortamiento de los telómeros en casos de cáncer de mama.

4. Discusión

El cáncer de mama es una enfermedad muy heterogénea que manifiesta un rango de comportamientos biológicos y clínicos muy variado. Además de la clasificación de los tumores según su morfología celular (lobulillar o ductal) y estadio clínico (I, II, III, IV, según lo avanzado que se encuentre el tumor), puede ser distinguido según los diferentes genes expresados, en concreto, el gen receptor de estrógenos (RE), de progesterona (RP) (Zepeda-Castilla et al., 2008; Hammerl et al., 2017) y HER2/neu, el proto-oncogén que codifica para la tirosínquinasa (conocido también como ErbB2 o c-erbB2) (Cabrera, 2005). Dentro de esta última clasificación, hay dos grandes grupos: tumores RE positivos, dentro de los que se distinguen entre luminal A (RE positivo, RP positivo o negativo y HER2/neu negativo, que representa un 67% de los casos), luminal B (RE positivo, RP positivo y HER2/neu positivo) y C (donde su etiología no está totalmente clara); y los tumores RE negativos, donde se puede hacer la siguiente clasificación: tipo normal o HER-2-neu positivo (RE negativo, RP negativo y HER2/neu positivo) y tipo basal o *basal-like* (RE negativo, RP negativo y HER2/neu negativo). Los RE positivos presentan una morfología más diferenciada, pero con mejor pronóstico, mientras los RE negativos, una morfología menos diferenciada, y con peor pronóstico, además de estar asociados a mutaciones en p53 y mutaciones en BRCA1 y BRCA2 (Tabla 1) (Imigo et al. 2011).

BRCA 1 y BRCA2 son factores genéticos hereditarios, que al contener mutaciones, aumentan el riesgo de padecer cáncer de mama (Samulin Erdem et al., 2017). Estas mutaciones se encuentran en la línea germinal, por lo que generan una mayor probabilidad de sufrir la enfermedad (60%), llamándose entonces, cáncer de mama hereditario. Otros genes con posibles mutaciones relacionados con esta carcinogénesis son TP53 y CHEK2, vinculado con defectos en los mecanismos de reparación del ADN y en puntos de control del ciclo celular (Kwei et al., 2010).

Subtipo	Inmunofenotipo	Comportamiento
Luminal A	RE (+) y/o RP (+); HER2/neu (-)	<ul style="list-style-type: none"> • Subtipo más común y menos agresivo. Buen pronóstico. • Bajo grado histológico. Respuesta hormonal. • Asociado a incremento de edad.
Luminal B	RE (+) y/o RP (+); HER2/neu (+)	<ul style="list-style-type: none"> • Similar al Subtipo Luminal A. • Peor resultado que el Subtipo Luminal A. • Más frecuentemente RE (+)/RP (-).
HER2/neu (+) RE (-)	RE (-); RP (-); HER2/neu (+)	<ul style="list-style-type: none"> • Menos común. Subtipo altamente agresivo. • Alto grado histológico. • Riesgo en mujeres <40 años, mayor que el subtipo luminal.
Basal	RE (-); RP (-); HER2/neu (-)	<ul style="list-style-type: none"> • Subtipo agresivo. • Alto grado histológico e índice mitótico. • Riesgo en edades menores (<40 años). • Más frecuente en mujeres premenopáusicas.

TABLA 1. Subtipos de Cáncer de Mama determinados por perfiles de expresión génica. (Modificado de Imigo et al. 2011).

En el artículo de Heng, J. et al. (2017), se indica la existencia de una relación entre los telómeros cortos y el cáncer de mama, es decir, los pacientes con esta enfermedad presentan una longitud telomérica más acortada. La longitud telomérica es de importancia crítica en las células normales, y el acortamiento telomérico puede, en combinación con otros cambios oncogénicos, promover la inestabilidad cromosómica y estimular, de forma potencial, la iniciación de los estadios tempranos del cáncer. El cáncer de mama encaja en el paradigma de la inestabilidad genómica inducida por la disfunción telomérica, porque la transición de la hiperplasia ductal de la mama (proliferación masiva de células) al carcinoma ductal *in situ* (tumor maligno), es un resultado probable de un periodo de crisis telomérica. A medida que el cáncer de mama progresa a estadios más invasivos y metástasis, la disfunción de los telómeros e inestabilidad genómica se hace más evidente (Savage et al., 2007).

Los estudios encontrados en los que se relaciona cáncer de mama y longitud telomérica se hace de la siguiente forma: con respecto al riesgo de cáncer de mama, con respecto a la supervivencia del paciente con la enfermedad ya detectada o como consecuencia de toxicidad por el tratamiento. A continuación se hace un resumen cronológico de los artículos.

Una de las primeras publicaciones sobre la extensión telomérica en pacientes con cáncer de mama, data del año 1994 (Odagari et al., 1994), en la que se observan diferencias significativas entre los telómeros de tejidos mamarios y de las células madre, tomando como significativos aquellos resultados, cuya ocurrencia distan de haber sido debidos al azar. Además, evidencia la ventaja que supone la presencia de acortamientos de los telómeros en el crecimiento del tejido canceroso. El grado de delección telomérica está correlacionado con el estadio histológico en el que se encuentre la paciente, siendo más notable a medida que aumentan. Este estudio está centrado en pacientes con el tipo de cáncer HER2/neu positivo, cuya agresividad no solo afecta al tumor, si no a los tejidos adyacentes, provocando también erosión en sus telómeros (Odagari et al., 1994). Por lo tanto, se afirma la existencia de telómeros más acortados en los tejidos cancerosos de la mama, en comparación con los de las células madre y, que a medida que el tumor crece la longitud telomérica se reduce. Cuatro años más tarde, Levy (Levy et al., 1998) lo secunda con la publicación en la que se mide la longitud telomérica de los leucocitos dependiente de la edad y la posibilidad de usarlos como biomarcador en el cáncer de mama y ovario. El resultado obtenido tras el estudio de los telómeros de 36 casos, de los cuales 18 con cáncer de mama, reveló que no hay una asociación significativa entre la longitud telomérica y la edad, pero las pacientes con cáncer de mama exhibían unos telómeros más cortos (Levy et al., 1998).

En una investigación realizada en la universidad de Columbia (Shen et al., 2007), se hace un estudio entre hermanas de 268 familias, en las cuales 287 son casos diagnosticados con cáncer de mama, mientras 350 hermanas se toman como control, ya que tienen un fenotipo sano. Tras medir las longitudes teloméricas mediante PCR se obtuvo como resultado una diferencia entre los casos y los controles: telómeros más cortos en los casos, que en el control, aunque esta diferencia no resultó ser significativa. También se estudió el posible nexo entre

la posesión de telómeros más cortos e incremento de riesgo de cáncer. Pero tal asociación siguió siendo no significativa, aunque más acentuada entre mujeres pre-menopáusicas, que en las post-menopáusicas. Es decir, aunque la asociación entre riesgo de cáncer de mama y telómeros cortos no sea significativa, la presencia de los mismos en mujeres jóvenes no menopáusicas, aumenta el riesgo de padecerlo (Shen et al., 2007). En cambio, un artículo publicado ese mismo año (Barwell et al., 2007), en el que se estudia la longitud de los telómeros en células sanguíneas (leucocitos) de 72 casos con cáncer de mama y 1696 controles no afectados de mujeres, entre 45 y 77 años afirma no existir unas diferencias significativas entre los mismos. También estudia la relación entre longitud telomérica en mujeres antes y después de un tratamiento, y el resultado ha sido también inconexo (Barwell et al., 2007). Por lo que, este artículo declara que la longitud telomérica no es un marcador que indique susceptibilidad al cáncer de mama y no presenta variaciones significativas entre el antes y el después del tratamiento.

En el 2008 (Svenson et al., 2008), se ha hecho un estudio donde se buscaba una asociación entre la tasa de supervivencia al cáncer de mama y la longitud de los telómeros en células sanguíneas. Está realizado en base a los resultados obtenidos de 265 pacientes diagnosticadas con cáncer de mama y 446 controles. En este caso se han obtenido resultados significativos que sostienen que las pacientes presentan telómeros más largos, en comparación con las controles. Confirman que la longitud relativa de los telómeros en las células de la sangre pueden servir como señal indicativa del pronóstico de pacientes con cáncer de mama avanzada, ya que telómeros más largos en mujeres, tanto pre, como post-menopáusicas, aumenta el riesgo de cáncer de mama y disminuye la supervivencia, mientras que los telómeros cortos lo asocian a un mejor pronóstico en mujeres jóvenes. (Svenson et al., 2008). Este resultado contradice a los anteriores y a la hipótesis de que el acortamiento telomérico, al favorecer la inestabilidad genómica, pueda desarrollar, junto con otras onco-mutaciones, un proceso carcinogénico.

En este mismo año (Iwasaki et al., 2008), también hay una publicación en la que se mide la longitud telomérica de los linfocitos para determinar si ésta puede predecir la susceptibilidad al cáncer de mama. El estudio se realiza en base a 24

casos frente a 20 controles, dando como resultado telómeros significativamente más cortos en los casos. Pero al introducir la variable edad en el análisis estadístico, el acortamiento telomérico en los casos deja de ser significativamente diferente de los controles (Iwasaki et al., 2008). De nuevo, estos datos no aportan mayor exactitud.

En el trabajo publicado por Shen y colaboradores (Shen et al., 2009), se hace un estudio exhaustivo sobre antioxidantes y el daño oxidativo relacionado con la longitud telomérica de los leucocitos y el cáncer de mama, junto con una dieta rica en antioxidantes. Se han utilizado 1067 casos que presentan la enfermedad, junto con 1110 controles. En general, declara que no hay una correlación independiente para la longitud de los telómeros acortados y el riesgo general de cáncer de mama, es decir, no parece haber diferencias significativas entre los telómeros de los casos y los controles. Sin embargo, esto puede estar modificado por la longitud telomérica entre ciertos subgrupos de mujeres. Por ejemplo, en mujeres jóvenes o pre-menopáusicas se ha observado que la presencia de telómeros más cortos incrementa significativamente el riesgo de cáncer de mama. Además, se introduce la capacidad antioxidante de los estrógenos en el análisis, ya que las concentraciones durante los periodos pre y post-menopáusicos muestran una dramática diferencia, siendo mucho menor tras la menopausia. Los estrógenos, además de presentar actividad antioxidante, también tienen propiedades antiinflamatorias, que contribuyen a la dinámica de la longitud del telómero. Bajo condiciones de estrés oxidativo se incrementa sustancialmente el acortamiento telomérico y, por consiguiente, también el riesgo de cáncer de mama. Algunos de los mecanismos mencionados son: daño directo de ROS (especies reactivas de oxígeno o *reactive oxygen species*), menor eficiencia en la capacidad de reparación de las lesiones oxidativas en los telómeros (en comparación con el resto del genoma) y la mejora de la expresión de enzimas antioxidantes debido a la presencia de mayores niveles de estrógenos. En mujeres con telómeros más cortos, que además tienen una capacidad antioxidante pobre, presentan un moderado aumento del riesgo de cáncer de mama. Todos estos datos apoyan la teoría de que la longitud del telómero está determinada por el equilibrio entre el daño oxidativo y la capacidad de defensa antioxidante. Estos resultados ofrecen una sólida evidencia que

afirma que el riesgo de cáncer de mama puede estar afectado por la longitud telomérica entre el grupo de mujeres pre-menopáusicas o con una mala capacidad antioxidante (Shen et al., 2009). En resumen, en las mujeres con una peor capacidad antioxidante, junto con la tenencia de telómeros más cortos, se incrementa de forma significativa el riesgo de cáncer de mama.

En ese mismo año, se publica un artículo sobre el riesgo de cáncer de mama en mujeres post-menopáusicas en relación con los telómeros de sus leucocitos (De Vivo et al., 2009), donde participaron 1122 mujeres con cáncer de mama invasivo y 1147 sanas (control). Este no aporta más claridad a esta controversia, ya que apenas secunda la posible importancia de la longitud de los telómeros en el cáncer de mama, y rechaza el uso de longitud telomérica como biomarcador en esta enfermedad. Afirma no haber un incremento significativo en el riesgo de cáncer de mama en mujeres post-menopáusicas asociado a un acortamiento de los telómeros (De Vivo et al., 2009). Es decir, que la longitud relativa de los telómeros no está asociada con una elevada significación en el riesgo de esta enfermedad en mujeres post-menopáusicas.

En 2011 Martínez-Delgado y colaboradores, publican un artículo, cuyo objetivo es el estudio del papel de la longitud telomérica en el cáncer de mama hereditario. Se mide la longitud de los telómeros en 198 pacientes con cáncer de mama hereditario en comparación con 267 controles y 71 pacientes con cáncer de mama no hereditario. En el resultado se concreta que pacientes con cáncer de mama hereditario presentan unos telómeros más cortos, al cotejarlos con la población control, es decir, las mujeres que portan mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 se caracterizan por tener telómeros acortados, cosa que no afecta a los casos de cáncer de mama esporádicos. Además manifiestan el importante papel de los telómeros acortados en la aparición cada vez más temprana (en cuanto a edad) del cáncer de mama. Esto puede ser una explicación de por qué en las líneas familiares que portan las mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2, el cáncer de mama se anticipa, según pasan las generaciones. En estos casos, a medida que se suceden las generaciones, los telómeros se reducen y la presencia de telómeros más acortados, aumenta el riesgo de cáncer de mama (Martínez-Delgado et al., 2011).

El artículo de Lu et al., 2011 investiga la expresión de la telomerasa y la longitud de los telómeros en el cáncer de mama, junto con el tratamiento adyuvante. Plantean que la telomerasa además de promover la reparación del daño en el ADN y facilitar la supervivencia de la célula, induce también la resistencia de las células cancerosas a los agentes anticáncer, cuya diana es el daño en el ADN, por lo que la telomerasa interfiere con el tratamiento adyuvante (tratamiento administrado para evitar la recaída en el cáncer). Aunque este estudio este más centrado en la actividad de la enzima nos da la siguiente información en cuanto a la longitud telomérica: no hay una asociación significativa entre telómeros cortos y riesgo de cáncer de mama, ni con la supervivencia del paciente (Lu et al., 2011).

En el 2013 (Pellatt et al., 2013) se hace una investigación sobre la longitud telomérica y el cáncer de mama separando las pacientes por etnias: mujeres estadounidenses-no hispanas, de las cuales 1481 fueron casos y 1586, controles y mujeres estadounidenses-hispanas y mejicanas, donde 2111 fueron casos y 2597, controles. La explicación de esta separación es porque una de las variables que se contemplan en este estudio es la ascendencia indígena americana, valorando si ésta puede influir tanto en la longitud de los telómeros, como en el riesgo de cáncer de mama. El resultado obtenido concuerda con el de Svenson en el 2008, ya que declara que los telómeros más alargados se asocian con un incremento en el riesgo de cáncer de mama, siendo este mucho mayor en aquellas mujeres con una ascendencia indígena americana muy presente en su árbol genealógico (Pellatt et al., 2013).

Otro estudio que apoya la misma hipótesis se publicó en el 2012 (Shen et al., 2012), en el que se han encontrado evidencias de que telómeros alargados en pacientes con cáncer de mama presentan una mayor tasa de mortalidad. Este artículo está centrado en pacientes con cáncer de mama del tipo *basal-like* o HER2/neu negativo, en las que se han monitorizado las longitudes que presentaban sus telómeros en relación a la supervivencia o mortalidad de los casos. El resultado concluyó que existe una correlación estadísticamente significativa entre la presencia de telómeros más largos y un incremento del riesgo de mortalidad (Shen et al., 2012). Por lo que, en este caso, aunque no se relacione con el riesgo de padecerlo, ya que se ha centrado en casos con el

carcinoma ya desarrollado, indica que la presencia de unos telómeros más largos, presenta un peor pronóstico.

En el 2014 (Duggan et al., 2014) se hace un estudio sobre la asociación entre el cambio de longitud de los telómeros y la mortalidad en mujeres con carcinogénesis mamaria entre el estadio I y III. Afirman que la longitud de los telómeros está inversamente relacionada con la edad, es decir, cuánta más edad, menor será la longitud telomérica, incrementándose esta diferencia por el estado menopáusico y altos niveles de estrés. Las participantes de este estudio, cuyos telómeros se acortaron entre el primer análisis y los siguientes 30 meses, obtuvieron un peor resultado, en comparación con aquellas, cuyos telómeros no se acortaron tan dramáticamente. Por esto, deducen que el acortamiento en los telómeros está asociado significativamente a un incremento en el riesgo de mortalidad por cáncer de mama, por lo que declaran que un seguimiento de los telómeros de las células sanguíneas puede ser utilizado como un biomarcador en el pronóstico de esta enfermedad (Duggan et al., 2014).

Siguiendo el orden cronológico, se llega al año 2017, donde se encuentra la publicación de Murillo-Ortiz y colaboradores (Murillo-Ortiz et al., 2017), en la que se desarrolla un estudio sobre 180 mujeres post-menopáusicas, tomadas como control y 70 pacientes con cáncer de mama, como casos, para la búsqueda de una asociación entre el polimorfismo CYP19-TTTA y la longitud telomérica con el cáncer de mama. Este polimorfismo está relacionado con los niveles hormonales de estrógeno. La longitud de los telómeros en pacientes sanos está directamente influenciada por los niveles de estrógenos, ya que el seguimiento de los telómeros en mujeres sanas pre-menopáusicas y en hombres con edades análogas, dieron como resultado una longitud mayor en los controles femeninos, sugiriendo que esta diferencia es debida a la influencia de esta hormona. Por lo tanto, en mujeres post-menopáusicas, con concentraciones menores de estrógenos, presentan unos telómeros mas acortados. Esta publicación afirma que la longitud telomérica en pacientes con cáncer de mama es más corta, con una diferencia de 2700 pb, que en las control. Aunque también discuten la posibilidad de que el acortamiento telomérico este influenciado por el tratamiento del cáncer, ya que tanto la quimioterapia, como la radioterapia causan daño en el ADN (Murillo-Ortiz et al., 2017). Esta hipótesis es apoyada, por ejemplo, por el

artículo de Miguel Quintela-Fandino y colaboradores (Quintela-Fandino et al., 2017), en el que se examina la longitud de los telómeros y el riesgo de toxicidad debido a un tratamiento contra el cáncer de mama, el Paclitaxel. Este es un tratamiento de quimioterapia muy comúnmente administrado en pacientes con esta enfermedad, por su eficacia y tolerancia en los estadios tempranos. Pero la presencia de telómeros más cortos, aumenta el riesgo de toxicidad por paclitaxel (neuropatía sensorial periférica, fatiga o mialgia) (Quintela-Fandino et al., 2017). Por lo tanto, unos telómeros más acortados están presentes en pacientes con cáncer de mama y están relacionados con niveles bajos de estrógenos, por lo que las mujeres post-menopáusicas son más propensas a presentarlos. Además, el tratamiento contra el cáncer de mama puede ayudar en el acortamiento telomérico.

Para resumir, se han examinado 15 referencias de las cuales, 4 sugieren una asociación entre telómeros más cortos y el cáncer de mama, mientras que 3, todo lo contrario, es decir, la presencia de telómeros más largos incrementa el riesgo de cáncer de mama y en uno de ellos, incluso se afirma que aumenta la tasa de mortalidad. En cambio, se han recogido 5 artículos en los que los resultados de esta asociación eran no significativos, por lo que todavía son necesarios futuros estudios para aclarar esta incongruencia. No obstante, se puede afirmar que la presencia de telómeros cortos en mujeres premenopáusicas incrementa el riesgo de cáncer de mama, ya que no se ha encontrado ningún artículo que rechace esta hipótesis.

5. Conclusiones

- Tanto los telómeros como la telomerasa son un sello distintivo que caracteriza el cáncer.
- Aunque haya evidencias de que pacientes con cáncer de mama presenten acortamiento de los telómeros, no está claro que unos telómeros más cortos incrementen el riesgo de cáncer.
- Estos resultados inconsistentes sugieren que la longitud telomérica per sé, puede no ser suficientemente potente como un biomarcador independiente para determinar el riesgo del cáncer de mama.
- En mujeres jóvenes pre-menopáusicas la presencia de telómeros más cortos supone un incremento en el riesgo de cáncer de mama.
- En familias portadoras de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2, la presencia de telómeros cortos implica anticipación en la aparición del cáncer de mama.
- La actividad telomerasa está presente en la mayoría de los tumores, entre los que se incluye el cáncer de mama.
- La presencia de la telomerasa sirve como un biomarcador para la detección y pronóstico de cáncer.
- Para poder utilizar la longitud del telómero como indicador prematuro del desarrollo del cáncer de mama son necesarios futuros estudios aclaratorios sobre la relación entre la longitud telomérica y el riesgo de cáncer.

Conclusions

- Both, telomeres and telomerase, are a characteristic hallmark in cancer.
- Although there are evidences that patients with breast cancer have shorter telomeres, it is not clear yet if shorter telomeres increase risk of cancer.
- These inconsistent results suggest that telomeric length may not be sufficiently powerful as an independent biomarker to determine the risk of breast cancer.
- In younger pre-menopausal women, the presence of shorter telomeres increases the breast cancer risk.
- Families that carry mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes, the presence of short telomeres implies anticipation in the appearance of breast cancer.
- Telomerase activity is present in most of the tumours, including breast cancer.
- The presence of telomerase serves as a biomarker for the detection and prognosis of cancer.
- In order to be able to use telomere length as a premature indicator of the development of breast cancer, it is necessary future clarifying studies based on the relationship between telomere length and breast cancer risk.

6. Bibliografía

Allshire, R. C., Dempster, M., Hastie, N. D. (1989). Human telomeres contain at least three types of G-rich repeat distributed non-randomly. *Nucleic Acids Research*, 17(12), 4611–4627.

Artandi, Steven E. y DePinho, Ronald A. (2010). Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis* January 1, 31(1):9.

Arvelo F, Morales A (2004). Telómero, telomerasa y cáncer. *Acta Científica Venezolana*; 55:288-303.

Barwell J, Pangon L, Georgiou A, Docherty Z., Kesterton I., Ball J., Camplejohn R., Berg J., Aviv A., Gardner J., Kato B., Carter N., Paximadas D., Spector D., Hodgson S. (2007) Is telomere length in peripheral blood lymphocytes correlated with cancer susceptibility or radiosensitivity? *Br J Cancer*;97:1696–700.

Boscolo-Rizzo, P., Da Mosto, M. C., Rampazzo, E., Giunco, S., Del Mistro, A., Menegaldo, A., De Rossi, A. (2016). Telomeres and telomerase in head and neck squamous cell carcinoma: from pathogenesis to clinical implications. *Cancer Metastasis Reviews*, 35(3), 457–474.

Cabrera Morales C. M. (2005). Estudio comparativo de la amplificación de Her2/neu mediante FISH y PCR cuantitativa en tiempo real en tumores de mama. *Oncología (Barcelona)*, 28(10).

Caldés Trinidad (2005) Cáncer hereditario: Fundamentos genéticos. *Psicooncología*. Vol 2, Núm. 2-3, pp. 183-196.

Chuaire, L. (2006). Telómeros y Telomerasa: breve recuento de una historia iniciada por Hermann Müller y Bárbara McClintock. *Colombia Médica*, 37 (4), 332-335.

De Lange T. (2005). Telomere-related Genome Instability in Cancer. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*.

De Vivo, I., Prescott, J., Wong, J. Y. Y., Kraft, P., Hankinson, S. E., Hunter, D. J. (2009). A prospective study of relative telomere length and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 18(4), 1152–1156.

Duggan, C., Risques, R., Alfano, C., Prunkard, D., Imayama, I., Holte, S., McTiernan, A. (2014). Change in Peripheral Blood Leukocyte Telomere Length and Mortality in Breast Cancer Survivors. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 106(4), dju035.

Eskandari-Nasab, E., Dahmardeh, F., Rezaeifar, A., Dahmardeh, T. (2015). Telomere and Telomerase: From Discovery to Cancer Treatment. *Gene, Cell And Tissue*, 2(3).

Foronda M., Donate Luis E. y Blasco María A. (2015). Importancia de los telómeros y la telomerasa en cancer, envejecimiento y medicina regenerativa. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO).

Gümüs-Akay Güven y Tükün Ajlan (2012). Telomere and telomerase in cancer: recent progress. Ankara university.

Hammerl, D., Smid, M., Timmermans, A.M., Sleijfer, S., Martens, J.W.M. y Debets, R. (2017). Breast cancer genomics and immuno-oncological markers to guide immune therapies, *Seminars in Cancer Biology*, 1044-579X.

Hanaoka, S., Nagadoi, A., Nishimura, Y. (2005). Comparison between TRF2 and TRF1 of their telomeric DNA-bound structures and DNA-binding activities. *Protein Science : A Publication of the Protein Society*, 14(1), 119–130.

Heng, J., Zhang, F., Guo, X., Tang, L., Peng, L., Luo, X., Wang, J. (2017). Integrated analysis of promoter methylation and expression of telomere related genes in breast cancer. *Oncotarget*, 8(15), 25442–25454.

Hernández Fernández R. (1999). Telómeros y telomerasas. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*; 18(2):121-9.

Imigo Felipe, Mansilla Edgardo, Delama Ignacio, Poblete María Teresa, Fonfach Carlos (2011). Clasificación molecular del cáncer de mama, *Cuad. Cir.* 2011; 25: 67-74.

Iwasaki, T., Robertson, N., Tsigani, T., Finnon, P., Scott, D., Levine, E. et al. (2008). Lymphocyte telomere length correlates within vitroradiosensitivity in breast cancer cases but is not predictive of acute normal tissue reactions to radiotherapy. *International Journal Of Radiation Biology*, 84(4), 277-284.

Jafri, M. A., Ansari, S. A., Alqahtani, M. H., Shay, J. W. (2016). Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Medicine*, 8, 69.

Kwei, K. A., Kung, Y., Salari, K., Holcomb, I. N., Pollack, J. R. (2010). Genomic instability in breast cancer: Pathogenesis and clinical implications. *Molecular Oncology*, 4(3), 255–266.

Levy T., Agoulnik I., Atkinson E.N., Tong X.W., Gause H.M., Hasenburg A., Runnebaum I.B., Stickeler E., Möbus V.J., Kaplan A.L., Kieback D.G. (1998). Telomere length in human white blood cells remains constant with age and is shorter in breast cancer patients. *Anticancer Res.*;18(3A):1345-9.

Lewis, K. A., Wuttke, D. S. (2012). Telomerase and telomere-associated proteins: Structural insights into mechanism and evolution. *Structure (London, England : 1993)*, 20(1), 28–39.

Lu, L., Zhang, C., Zhu, G., Irwin, M., Risch, H., Menato, G., Mitidieri M., Katsaros D, Yu, H. (2011). Telomerase expression and telomere length in breast cancer and their associations with adjuvant treatment and disease outcome. *Breast Cancer Research : BCR*, 13(3), R56.

Lu, L., Zhang, C., Zhu, G., Irwin, M., Risch, H., Menato, G., Yu, H. (2011). Telomerase expression and telomere length in breast cancer and their associations with adjuvant treatment and disease outcome. *Breast Cancer Research : BCR*, 13(3), R56.

Martinez-Delgado, B., Yanowsky, K., Inglada-Perez, L., Domingo, S., Urioste, M., Osorio, A., Benitez, J. (2011). Genetic Anticipation Is Associated with Telomere Shortening in Hereditary Breast Cancer. *PLoS Genetics*, 7(7), e1002182.

Murillo-Ortiz, B., Martínez-Garza, S., Suárez García, D., Castillo Valenzuela, R. del C., García Regalado, J. F., Cano Velázquez, G. (2017). Association between telomere length and CYP19 TTTA repetition polymorphism in healthy and breast cancer-diagnosed women. *Breast Cancer : Targets and Therapy*, 9, 21–27.

Nordfjäll, K., Larefalk, Å., Lindgren, P., Holmberg, D., Roos, G. (2005). Telomere length and heredity: Indications of paternal inheritance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(45), 16374–16378.

Novoa Vargas Arturo, Pliego Aguilar, Malagón Milla Berenice, Bustillos de Cima Roberto (2006). *Historia natural del cáncer de mama*. *Ginecol Obstec Mex*; 74 : 115-20.

Odagiri E., Kanada N., Jibiki K., Demura R., Aikawa E., Demura H., (1994). Reduction of telomeric length and c-erbB-2 gene amplification in human breast cancer, fibroadenoma, and gynecomastia. Relationship to histologic grade and clinical parameters. *Cancer* 73, 2978–2984.

Pellatt, A. J., Wolff, R. K., Torres-Mejia, G., John, E. M., Herrick, J. S., Lundgreen, A., Baumgartner K., Giuliano A., Hines L., Fejerman L., Cawthon R., Slattery, M. L. (2013). Telomere Length, Telomere-Related Genes, and Breast Cancer Risk: The Breast Cancer Health Disparities Study. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 52(7).

Quintela-Fandino, M., Soberon, N., Lluch, A., Manso, L., Calvo, I., Cortes, J., Blasco, M. A. (2017). Critically short telomeres and toxicity of chemotherapy in early breast cancer. *Oncotarget*, 8(13), 21472–21482.

Ramlee, M. K., Wang, J., Toh, W. X., Li, S. (2016). Transcription Regulation of the Human Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT) Gene. *Genes*, 7(8), 50.

Rodríguez Cuevas A. Sergio, Capurso García Marino (2006). *Epidemiología del cáncer de mama*. *Ginecol Obstec MEX*; 74 : 585-93.

Samulin Erdem, J., Notø, H. Ø., Skare, Ø., Lie, J. S., Petersen-Øverleir, M., Reszka, E., Zienolddiny, S. (2017). Mechanisms of breast cancer risk in shift workers: association of telomere shortening with the duration and intensity of night work. *Cancer Medicine*, 6(8), 1988–1997.

Savage, S. A., Chanock, S. J., Lissowska, J., Brinton, L. A., Richesson, D., Peplonska, Bardin-Mikoljczak A., Zatonski W., Szeszenia-Dabrowska N., Garcia-Closas M. (2007). Genetic variation in five genes important in telomere biology and risk for breast cancer. *British Journal of Cancer*, 97(6), 832–836.

Shay, J. W., Wright, W. E. (2011). Role of telomeres and telomerase in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 21(6), 349–353.

Shen, J., Gammon, M. D., Terry, M. B., Bradshaw, P. T., Wang, Q., Teitelbaum, S. L., Santella, R. M. (2012). Genetic polymorphisms in telomere pathway genes, telomere length and breast cancer survival. *Breast Cancer Research and Treatment*, 134(1), 393–400.

Shen, J., Gammon, M. D., Terry, M. B., Wang, Q., Bradshaw, P., Teitelbaum, S. L., Santella, R. M. (2009). Telomere length, oxidative damage, antioxidants and breast cancer risk. *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer*, 124(7), 1637–1643.

Shen, J., Terry, M., Gurvich, I., Liao, Y., Senie, R., Santella, R. (2007). Short Telomere Length and Breast Cancer Risk: A Study in Sister Sets. *Cancer Research*, 67(11), 5538-5544.

Svenson U, Nordfjall K, Stegmayr B, Manjer J., Nilsson P, Tavelin B, Henriksson R, Lenner P, Roos G. (2008). Breast cancer survival is associated with telomere length in peripheral blood cells. *Cancer Res*; 68:3618–23.

Xu Y. y Goldkorn A (2016). Telomere and Telomerase Therapeutics in Cancer. *Genes*, 7, 22.

Zepeda-Castilla Ernesto José, Recinos-Money Edgar, Cuéllar-Hubbe Mario, Robles-Vidal Carlos Daniel, Maafs-Molina Eduardo (2008). Clasificación molecular del cáncer de mama, *Cir Ciruj* 7 6:87-93.

Zhu, X., Han, W., Xue, W., Zou, Y., Xie, C., Du, J. Jin G. (2017). The association between telomere length and cancer risk in population studies. *Scientific Reports* 6(1).