



UNIVERSIDAD
DE MURCIA

Escuela
de Doctorado

TESIS DOCTORAL

*Marcadores antropométricos del ambiente
hormonal prenatal y su relación con el riesgo
y pronóstico del cáncer de mama.*

AUTOR/A Domingo Antonio Sánchez Martínez

DIRECTOR/ES José Luis Alonso Romero
Alberto Manuel Torres Cantero

2025



UNIVERSIDAD
DE MURCIA

Escuela
de Doctorado

TESIS DOCTORAL

*Marcadores antropométricos del ambiente
hormonal prenatal y su relación con el riesgo
y pronóstico del cáncer de mama.*

AUTOR/A Domingo Antonio Sánchez Martínez

DIRECTOR/ES José Luis Alonso Romero
Alberto Manuel Torres Cantero

2025



UNIVERSIDAD
DE MURCIA

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR/A

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19 de octubre de 2022.

Yo, D. Domingo Antonio Sánchez Martínez, habiendo cursado el Programa de Doctorado Biología y Tecnología de la Salud Reproductiva de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Murcia (EIDUM), como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor/a titulada:

Marcadores antropométricos del ambiente hormonal prenatal y su relación con el riesgo y pronóstico del cáncer de mama.

y dirigida por:

D.: Alberto Torres Cantero
D.: José Luis Alonso Romero
D.:

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Murcia, a 20 de Septiembre de 2025

(firma)

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados:	
Responsable	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia



Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la quinta hoja, después de la portada de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor/a.

Código seguro de verificación: RUxFMkc/-XotCVUDK-B51Dw16b-ZyQvp6H6

COPIA ELECTRÓNICA - Página 1 de 1

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento administrativo electrónico archivado por la Universidad de Murcia, según el artículo 27.3 c) de la Ley 39/2015, de 1 de octubre. Su autenticidad puede ser contrastada a través de la siguiente dirección: <https://sede.um.es/validador/>

A mis abuelos (*In Memoriam*)

A mi esposa Julia y nuestra hija Carlota

A mis padres y hermano

A toda mi familia y amigos

Agradecimientos

Este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda inestimable de muchas personas:

Gracias a mis directores, los Dres. Alonso y Torres por ser guías en la elaboración de esta tesis, apoyándome con sus consejos y su tesón.

Gracias a Jaime, por su conocimiento sobre el tema y tutorizarme en el proceso de elaboración y depósito de esta tesis.

Gracias a Julián, quien con su maestría en la estadística me ha podido ilustrar en los recovecos de la misma y ofrecer luz y sentido a datos y números.

Gracias a M.^a Luisa Sánchez Ferrer, por ser el motor de este proyecto. Sin su inestimable ayuda, todo esto no se hubiera iniciado.

Gracias a Inma y Micaela por el esfuerzo y el trabajo realizado en las mediciones de las distancias durante tantas tardes extras.

Gracias a Indra, por su paciencia, implicación y energía para la ayuda de la codificación e inclusión de las pacientes dentro de la base de datos.

Gracias a mi mujer Julia, quien aun no siendo su área de conocimiento siempre se ha mostrado dispuesta a ayudar y revisar todo lo escrito. Sin duda, el máximo exponente de apoyo y cariño para sacar este proyecto adelante.

Gracias a mis padres y mi hermano, referentes y razón de ser, quienes siempre han estado apoyándome y animándome para sacar cualquier proyecto adelante, por muy largo y dificultoso que se antojara en sus inicios.

Gracias a mis amigos Juanpa y Álvaro, que, si bien son mis referentes y apoyos en otra esfera de mi vida, se han convertido en motor vital para ver que no hay límites en todo aquello que me proponga.

Gracias a mis referentes en representación profesional, especialmente a Tomás y Paco, quienes, pese a reconocer en mí ciertas habilidades políticas en un contexto actual donde estas, convertidas en baluartes de un sofismo dominante, dificultan la conexión con la evidencia y la ciencia, han sabido motivarme para perseverar y alcanzar una *auctoritas* académica.

En definitiva, gracias a todos aquellos que vieron en mí una persona a la que apoyar y ayudar, a pesar de lo complejo que pudiera parecer en un inicio.

Finalizando ya esta tesis, me gustaría animar a aquellas personas que entendiendo su por qué, son capaces de hacer cosas extraordinarias.

Porque lo extraordinario de esta vida no consiste en que de vez en cuando realices cosas extraordinarias o que se salgan de lo común, sino en hacer de lo ordinario, lo de cada día algo extraordinario.

Domingo A. Sánchez Martínez

Resumen

Introducción:

La distancia anogenital (DAG) es la distancia comprendida entre el ano y los genitales. Se trata de un dimorfismo sexual característico de mamíferos placentarios, determinado durante el desarrollo fetal y que permanece estable en la edad adulta.

Diversos estudios han sugerido que una DAG alargada podría reflejar una exposición aumentada a andrógenos o una disrupción endocrina durante el desarrollo intrauterino. Esta alteración hormonal podría tener implicaciones en la programación epigenética de tejidos sensibles a esteroides sexuales, como la glándula mamaria, y por tanto influir en la susceptibilidad al desarrollo de patologías hormonodependientes como es el caso del cáncer de mama. En esta línea, ya existen trabajos que intentan relacionar la DAG con el riesgo de padecer otros tipos de cáncer relacionados con el ambiente hormonal del paciente, como es el caso del cáncer de próstata en la edad adulta.

Objetivo:

El objetivo del presente trabajo es investigar la asociación entre la DAG y el riesgo de cáncer de mama en mujeres adultas.

Métodos:

Se ha llevado a cabo un estudio de casos y controles (N=839), con 422 mujeres diagnosticadas de cáncer de mama y 417 controles, todas residentes en la Región de Murcia y atendidas en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

Se realizaron, sobre cada participante, medidas de la DAG en 2 variantes; DAGAC: desde el dorso del clítoris hasta el margen anal superior y DAGAF: desde inicio horquilla vulvar al margen anal superior.

Resultados:

Los resultados muestran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Las mujeres con cáncer de mama presentaron una DAGAC significativamente más larga

(media: 85.0 mm vs 81.2 mm en controles; $p < 0.01$) y una DAGAF más corta (media: 28.6 mm vs 29.8 mm; $p = 0.02$). Estas diferencias se mantuvieron tras ajustar por edad e índice de masa corporal.

El análisis por quintiles reveló un gradiente inverso de riesgo: a medida que la DAGAC disminuye, el riesgo de cáncer de mama también lo hace, siendo más pronunciado en mujeres premenopáusicas (OR ajustada en Q1: 0.31; IC 95%: 0.16–0.59; $p = 0.001$). Este hallazgo sugiere que una DAGAC más larga podría estar asociada a una mayor susceptibilidad al cáncer de mama, especialmente en etapas tempranas de la vida reproductiva.

Por el contrario, no se observaron diferencias significativas en las medidas de DAG entre los distintos subtipos moleculares del cáncer de mama (Luminal A, B, HER2 sobreexpresado, triple negativo), ni en relación con el perfil genómico de riesgo (Oncotype®). Esto indica que la DAG podría actuar como marcador de susceptibilidad general al cáncer de mama, más que como predictor de agresividad tumoral o pronóstico.

Conclusión:

Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la DAG, especialmente en su variante DAGAC, podría constituir un marcador clínico no invasivo, accesible y de bajo coste, útil en la estratificación del riesgo de padecer cáncer de mama. Su incorporación en estrategias de detección precoz podría mejorar la identificación de mujeres con mayor susceptibilidad, especialmente en contextos hormonales activos como la premenopausia.

Abstract

Background:

Anogenital distance (AGD) is a sexually dimorphic measure established during fetal development and remains stable throughout adulthood. It serves as a biomarker of prenatal androgen exposure and has been linked to hormone-dependent conditions.

Objective:

The objective of this study consists on investigating the association between AGD and breast cancer risk in adult women.

Methods:

A case-control study was conducted involving 839 women (422 cases with breast cancer and 417 controls), all residents of the Region of Murcia and evaluated at the Virgen de la Arrixaca University Hospital. AGD was measured in two variants: AGDAC (ano-clitoral distance) and AGDAF (ano-fourchette distance). Statistical analyses included adjusted models for age and body mass index (BMI), and stratification by menopausal status.

Results:

Women with breast cancer exhibited a significantly longer AGDAC (mean: 85.0 mm vs. 81.2 mm; $p < 0.01$) and a shorter AGDAF (mean: 28.6 mm vs. 29.8 mm; $p = 0.02$) compared to controls. Quintile analysis revealed an inverse risk gradient for AGDAC, with the lowest quintile associated with reduced breast cancer risk, particularly in premenopausal women (adjusted OR: 0.31; 95% CI: 0.16–0.59; $p = 0.001$).

No significant associations were found between AGD and molecular subtypes of breast cancer or genomic risk profiles (Oncotype®).

Conclusion:

AGD, especially AGDAC, may serve as a non-invasive, accessible, and low-cost clinical marker for breast cancer risk stratification. Its potential utility in early detection

strategies is particularly relevant for identifying susceptibility in hormonally active populations such as premenopausal women.

Índice de contenidos

Abreviaturas.....	V
Índice de tablas.....	VII
Índice de figuras.....	IX
1. Introducción	1
1.1. Prevalencia e importancia del cáncer	3
1.2. Prevalencia y diagnóstico del cáncer de mama	4
1.3. Diagnóstico precoz del cáncer de mama	6
1.4. Anatomía y desarrollo de la mama.....	8
1.5. Influencia hormonal en el desarrollo mamario	9
1.6. Factores de riesgo de desarrollo de cáncer de mama	11
1.7 Histología y clasificación del cáncer de mama.....	12
1.8 Ambiente estrogénico prenatal.....	16
1.9. Un marcador de la disrupción hormonal intrauterina; distancia anogenital (DAG)	18
1.10 Justificación Del Estudio	22
2. Objetivos e hipótesis	25
2.1 Objetivo general y específicos	27
2.2 Hipótesis	28
3. Material Y Método	29
3.1 Diseño del estudio	31
3.2 Población y periodo de estudio.....	31
3.3. Cohortes de pacientes valoradas en el estudio.....	32
3.3.1. Criterios de inclusión y exclusión cohorte de casos	32
3.3.2. Criterios de inclusión y exclusión cohorte de controles	33
3.4 Fuentes de datos	34

3.5 Recogida de datos	35
3.5 Variables generales de la población a estudio.	37
3.6 Variables de estudio y clasificación del cáncer de mama.	38
3.6.1 Subtipos de cáncer de mama	38
3.6.2 Perfil genómico mediante resultado Oncotype®	39
3.7 Análisis estadístico.	40
4. Resultados.....	45
4.1 Análisis comparativo de las características de los grupos a estudio.	47
4.2 Análisis diferencial de la dag en los grupos de estudio	51
4.3 Análisis diferencial de las distancias DAGAF y DAGAC según estatus hormonal	53
4.4 Análisis diferencial de las distancias DAGAF y DAGAC según subtipos de cáncer de mama	57
4.4.1. Distancia Anogenital Al Fourchette (DAGAF), Distancia Anogenital Corta:	57
4.4.2. Distancia Anogenital Al Clítoris (DAGAC), Distancia Anogenital Larga:	59
4.5 Perfil Molecular analizado a través del Oncotype® y relación con la DAG	62
5. Discusión	65
5.1. Resumen de los hallazgos.....	67
5.2. Interpretación de resultados	70
5.3. Implicaciones clínicas y biomarcador de riesgo.....	79
5.4. Fortalezas del estudio	80
5.5. Limitaciones del estudio.....	81
5.6. Futuras líneas de investigación.....	82
6. Conclusiones	85
7. Anexos	89
Anexo I. Aprobación comité de ética	91
Anexo II. Hoja de información y consentimiento informado de participación en el estudio	93
Anexo III. Cuestionario inicial de inclusión paciente	101
Anexo IV. Cuestionario De Recogida De Datos (CRD)	103

Anexo V. Modelo petición Test Oncotype® en práctica clínica habitual.....	105
8. Referencias Bibliográficas.....	107

Abreviaturas

CRD: Cuaderno de Recogida de Datos.

DAG: Distancia Ano-Genital

DAGAC: Distancia Ano-Genital Ano-Clitoral

DAGAF: Distancia Ano-Genital Ano-Fourchette

ECOG: Escala de Estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group

HCUVA: Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca

IMC: Índice de masa corporal

IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1

NHC: Número de Historia Clínica

OMS: Organización Mundial de la Salud

POP: Prolapso de órganos pélvicos

RMN: resonancia magnética nuclear

SOP: Síndrome de ovario poliquístico

SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica

Índice de Tablas

Tabla 1. Subtipos histológicos cáncer de mama.	15
Tabla 2. Características generales de las pacientes con cáncer de mama.	48
Tabla 3. Comparación de las características principales entre los casos y los controles.	50
Tabla 4. Odds ratio (OR) de cáncer de mama por quintiles de las mediciones de DAG.	52
Tabla 5. Análisis comparativo de las DAGs en el subgrupo de mujeres en situación de menopausia. OR para casos y controles de cáncer de mama según quintiles de las medidas de DAG, tomando el quinto quintil como referencia.	54
Tabla 6. Análisis comparativo en situación de premenopausia. OR para casos y controles de cáncer de mama según quintiles de las medidas de DAG, tomando el quinto quintil como referencia.	55
Tabla 7. Descripción de subtipos moleculares del cáncer de mama y medidas de DAG	58
Tabla 8. Análisis comparativo de los subtipos moleculares del cáncer de mama y las DAG	61
Tabla 9. Resultados Oncotype® según subtipo cáncer de mama.	62
Tabla 10. Resultados DAG según resultado clasificación de riesgo por Oncotype®.	63

Índice de Figuras

Figura 1. Mediciones de la distancia anogenital.....	20
Figura 2. Imagen del proceso de medición de la distancia anogenital	36
Figura 3 Imagen del proceso de medición de la distancia anogenital	37
Figura 4. Diagrama de reclutamiento de casos dentro del estudio.	43
Figura 5. Diagrama de reclutamiento de los controles dentro del estudio.....	44
Figura 6. Odds Ratio ajustadas para el riesgo de cáncer de mama en mujeres con DAGAC en el primer quintil (Q1), estratificadas por estado menopáusico.	56
Figura 7. Genitales externos en la etapa de indiferenciación genital.....	71
Figura 8. Genitales externos en su diferenciación hacia tubérculo genital femenino y aparato genital femenino.....	71

1. Introducción

1.1. Prevalencia e importancia del cáncer

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo. Los datos publicados en 2022 atribuyen a esta enfermedad casi 10 millones de defunciones (Wu Z et al, 2024). Se trata por tanto de una enfermedad emergente con un especial impacto en la sociedad actual por su morbi-mortalidad asociada. En lo que se refiere a nuevos casos, según datos del año 2022, los tumores más frecuentes han sido por orden: el cáncer de mama (2,26 millones de casos), el cáncer de pulmón (2,1 millones de casos) y el colorrectal (1,93 millones de casos), además, se espera un crecimiento de más del 20% de nuevos casos para el 2050 (OMS, 2025).

El cáncer es uno de los principales problemas sociosanitarios en países como España por su alto coste, no sólo en términos económicos sino también en términos de dependencia y años de vida ajustados a discapacidad (OMS, 2020). El impacto económico del cáncer en España es cuantioso. Se estima que el coste total anual para la sociedad española, incluyendo tanto costes directos (gastos sanitarios) como indirectos (pérdida de productividad y cuidados informales), asciende a cerca de 20,000 millones de euros para las personas diagnosticadas cada año (AECC, 2020).

Los costes indirectos abarcan la pérdida de productividad por mortalidad prematura, morbilidad (incapacidad laboral y pérdida de productividad) y cuidados informales no remunerados. En España, la pérdida de productividad por mortalidad prematura por cáncer se estimó en torno a 4.500 millones de euros anuales, mientras que los costes asociados a la morbilidad y a los cuidados informales suman aproximadamente 7.500 millones de euros adicionales. El cáncer de pulmón, colorrectal y mama son los que generan mayor impacto económico en estos apartados (Fernández de Larrea-Baz N et al, 2009).

La carga de enfermedad del cáncer en España supone más de 800.000 años de vida ajustados por discapacidad (DALYs) anuales, de los cuales el 84% corresponden a años de vida perdidos por mortalidad prematura y el 16% a años vividos con discapacidad. Los tumores de pulmón, colorrectal y mama concentran la mayor parte de los años de vida perdidos (Schlueter M et al, 2020).

Por todo lo anteriormente mencionado, se trata de una situación de especial impacto tanto a nivel económico como social para un país. Es por ello por lo que todas aquellas herramientas que sean utilizadas desde una perspectiva de la prevención y detección precoz son especialmente relevantes.

1.2. Prevalencia y diagnóstico del cáncer de mama

El cáncer de mama, con más de dos millones de casos anuales y una tasa de incidencia estandarizada por edad de 132/100.000 mujeres que aumenta anualmente es, junto con el cáncer de pulmón, el cáncer más frecuente en todo el mundo (Sociedad Española de Oncología Médica, 2024). El cáncer de mama es, además, la causa más frecuente de muerte por cáncer en la mujer, habiendo sido responsable de 113.662 muertes en 2021 en todo el mundo, y con una mortalidad estandarizada anual de 22.7/100.000 mujeres. Existen, no obstante, amplias variaciones entre países (Fu M et al, 2021).

En el caso de España se produjeron 36.395 casos nuevos de cáncer de mama en 2024, lo que representa algo más del 30% de todos los tumores en la mujer. Además, entre el 2012 y el 2018 ha habido un incremento en la incidencia aproximadamente del 30%, estimándose que 1 de cada 8 mujeres padecerá un cáncer de mama a lo largo de su vida (SEOM, 2024).

Mientras que el número de casos y las tasas de incidencia aumentan cada año, el número de muertes anuales se ha estabilizado por la disminución de la letalidad debido sobre todo a las mejoras, tanto en la detección precoz como en la efectividad de los tratamientos (Santucci C et al, 2025). Pese a todo, se estima que este tipo de cáncer fue el responsable de 6.579 fallecimientos en 2018, siendo la primera causa de mortalidad por cáncer en mujeres en España.

Por todo ello, la prevalencia de mujeres que viven con este tipo de cáncer ha aumentado, estimándose que en 2018 había 129.928 personas que habían sufrido un cáncer de mama (Bray F et al, 2018). El cáncer de mama representa también un alto coste económico global, se estima que fue de alrededor de 20.5 billones de dólares en 2018. En España, el gasto por cáncer está estimado en 2.200 millones (Hofmarcher T et al, 2020).

Por un lado, existen diferencias significativas en los costes dependiendo del momento del diagnóstico: las pacientes diagnosticadas en estadios avanzados generan costes anuales y acumulativos mucho mayores que aquellos diagnosticados en estadios tempranos, tanto en los primeros años como a lo largo del seguimiento. Además, los costes indirectos (como la pérdida de productividad) también son más altos en estadios avanzados (McGarvey N et al, 2022). Por otro lado, el coste del tratamiento del cáncer de mama también varía significativamente según el estadio de la enfermedad. Los datos más recientes y robustos muestran que los costes son considerablemente menores en estadios iniciales y aumentan de forma marcada en estadios avanzados o metastásicos. Por ejemplo, en Canadá, el coste anual incremental por paciente fue de 15,588 dólares para estadio I frente a 137,319 dólares para estadio IV (McGarvey N et al, 2022).

1.3. Diagnóstico precoz del cáncer de mama

Basándonos en cómo se presenta y se desarrolla el cáncer de mama, éste constituye una enfermedad muy heterogénea cuya incidencia está aumentando progresivamente y a edades más precoces en las que poco se sabe acerca de la etiología y comportamiento del tumor (Humlevik ROC et al, 2025).

Para el diagnóstico y detección precoz del cáncer de mama, una de las pruebas más comunes es la mamografía, que utiliza rayos X de baja dosis para detectar tumores en el tejido mamario. La mamografía es una herramienta de detección eficaz que ha demostrado reducir la mortalidad por cáncer de mama en un porcentaje significativo (US Preventive Services Task Force, 2024).

Además de la mamografía, existen otras pruebas de imagen que se utilizan en el diagnóstico del cáncer de mama. La ecografía mamaria utiliza ondas sonoras para crear imágenes de los tejidos mamarios y puede ayudar a diferenciar entre tumores sólidos y quistes llenos de líquido. La resonancia magnética nuclear (RMN) de mama es otra herramienta de diagnóstico que utiliza campos magnéticos y ondas de radio para producir imágenes detalladas de los tejidos mamarios. La RMN de mama es especialmente útil en casos de alto riesgo y en mujeres con tejido mamario denso (Mann RM et al, 2019).

Durante el proceso diagnóstico, si se encuentra una anomalía en la mamografía o en otras pruebas de imagen, se puede realizar una biopsia para confirmar el diagnóstico de cáncer de mama. Durante una biopsia, se extrae una pequeña muestra de tejido mamario y se examina bajo el microscopio para detectar la presencia de células cancerosas. Existen varios tipos de biopsias, incluyendo la biopsia por aspiración con aguja fina (PAAF), la biopsia con aguja

gruesa (BAG) y la biopsia quirúrgica. La elección del tipo de biopsia depende del tamaño y la ubicación del tumor sospechoso (Willems SM et al, 2012).

Es importante destacar que la detección precoz del cáncer de mama no se limita solo a las pruebas anteriormente expuestas. Existen acciones no invasivas que en determinados contextos pueden ayudar a una detección precoz. La autoexploración de las mamas es una práctica que permite a las mujeres detectar cualquier cambio en sus senos. Si se encuentra una masa o un bulto durante la autoexploración, se debe buscar atención médica de inmediato para su evaluación facultativa (Albeshan SM et al, 2020).

En los últimos años, también se han realizado avances significativos en el campo de la detección precoz del cáncer de mama. La investigación se ha centrado en el desarrollo de biomarcadores específicos que puedan detectarse en muestras de sangre u otros fluidos corporales. Estos biomarcadores pueden proporcionar una detección temprana del cáncer de mama y permitir un tratamiento más eficaz. (Campos-Carrillo A et al, 2020).

Sin embargo, estas últimas herramientas de detección precoz no se encuentran a disposición en todos los centros y de manera generalizada, debido entre otros aspectos por los importantes costes. De ahí, la importancia actual y creciente de seguir desarrollando estrategias y marcadores de detección precoz de la patología mamaria que sean fáciles de reproducir y accesibles.

Actualmente, se distingue entre mujeres de riesgo poblacional (sin antecedentes personales ni familiares relevantes, ni mutaciones genéticas conocidas) y aquellas con exceso de riesgo, que incluyen las que son portadoras de mutaciones patogénicas en genes como BRCA1, BRCA2, PALB2, CHEK2, ATM, entre otros, o con antecedentes familiares significativos (Wei X et al, 2025).

Por un lado, aquellas mujeres con riesgo poblacional, el cribado está basado en la mamografía bienal en mujeres entre 50 y 69 años. Y por otro lado, en los casos de riesgo incrementado, se recomienda adaptar el cribado: iniciar mamografía anual entre los 30 y 40 años; y añadir RMN anual desde los 25 años, dada su mayor sensibilidad en tejido mamario denso y en contextos de alto riesgo (Lorry KP et al, 2022).

1.4. Anatomía y desarrollo de la mama

Aunque las mamas tienen funciones relacionadas con la reproducción (lactancia), anatómicamente y desde el punto de vista de la nomenclatura médica, no forman parte del aparato genital femenino (Lemaine V et al, 2013). Embriológicamente, las mamas y el aparato genital femenino tienen orígenes distintos: las mamas derivan de la cresta mamaria ectodérmica, mientras que los órganos genitales femeninos derivan principalmente de los conductos de Müller y las estructuras mesodérmicas. Por tanto, las mamas no se consideran, *sensu stricto*, parte del aparato genital femenino según la nomenclatura anatómica oficial.

El aparato genital femenino, de acuerdo con la terminología anatómica aprobada por la *International Federation of Associations of Anatomists* (Kachlik D et al, 2021) incluye los elementos que se describen en la sección 1.8 pero no así las mamas.

Centrándonos en el desarrollo de las glándulas mamarias, éstas derivan de glándulas sudoríparas modificadas que aparecen inicialmente como líneas mamarias bilaterales, de las cuales sólo persiste una pequeña porción torácica, que origina los conductos galactóforos (Spina E et al, 2021). Durante el desarrollo embrionario femenino, los estrógenos desempeñan un papel crucial en la formación de las glándulas mamarias y también de los genitales externos

(Speroni L et al, 2017). Los conductos galactóforos se canalizan al final de la vida prenatal y, tras el nacimiento, se desarrollan aún más durante la pubertad bajo la influencia hormonal, formándose alvéolos y células secretoras (Biswas SK et al, 2022).

Paralelamente, el desarrollo de los genitales externos femeninos también es estimulado por los estrógenos; el tubérculo genital se transforma discretamente en el clítoris, los pliegues uretrales dan lugar a los labios menores y las protuberancias genitales a los labios mayores. (Lagman, 2019).

1.5. Influencia hormonal en el desarrollo mamario

El desarrollo mamario está regulado por una compleja interacción hormonal que varía según la etapa de la vida. Durante la embriogénesis, la formación inicial de la glándula mamaria es independiente de las hormonas sexuales y se produce a partir de la cresta mamaria ectodérmica, estableciendo una estructura rudimentaria que permanece inactiva hasta la pubertad (Biswas SK et al, 2022). Posteriormente, en la etapa postnatal, la regulación hormonal de la mama es dinámica y depende de la integración de señales endocrinas y paracrinas en cada etapa del desarrollo.

En la pubertad, el aumento de estrógenos ováricos induce la elongación y ramificación de los conductos mamarios, proceso que requiere la acción sinérgica de la hormona de crecimiento y la producción local del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) en el estroma mamario. IGF-1 es esencial para la proliferación ductal y permite la acción de estrógenos y progesterona en el tejido mamario (Kleinberg DL et al, 2008). La progesterona, por su parte, promueve la ramificación secundaria y la formación de lóbulos y alvéolos,

especialmente en la fase lútea del ciclo menstrual y durante el embarazo (Hovey RC et al, 2002).

Durante el ciclo menstrual, los estrógenos estimulan la proliferación ductal en la fase folicular, mientras que la progesterona induce cambios secretorios y proliferativos en la fase lútea. En el embarazo, los altos niveles de estrógenos y progesterona, junto con la prolactina, inducen una proliferación masiva y diferenciación de los alvéolos, preparando la glándula para la lactancia. La prolactina es fundamental para la síntesis de leche, pero su acción es inhibida por los altos niveles de estrógenos y progesterona hasta el parto. Tras el parto, la caída brusca de estas hormonas permite que la prolactina y la oxitocina inicien y mantengan la lactancia (Alex A et al, 2020).

Durante la etapa premenopáusica, el desarrollo y la fisiología de la mama están regulados principalmente por la acción cíclica de los mencionados estrógenos y la progesterona, junto con la hormona del crecimiento y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1.

Los estrógenos, a través de su receptor, estimulan la proliferación y elongación de los conductos mamarios, mientras que la progesterona, a través de su unión con el receptor de progesterona, promueve la ramificación ductal y la diferenciación de los lóbulos y alvéolos. La hormona del crecimiento induce la producción local de IGF-1 en el estroma mamario, lo que es esencial para que los estrógenos y la progesterona ejerzan su efecto sobre la morfogénesis ductal y la expansión epitelial. La prolactina, aunque fundamental para la lactancia, tiene un papel más limitado en la fisiología mamaria premenopáusica, pero contribuye a la diferenciación alveolar en la gestación y la lactancia (Ingthorsson S et al, 2020).

En la postmenopausia, la caída abrupta de los niveles de estrógenos y progesterona conduce a la involución mamaria, caracterizada por atrofia epitelial, reducción del número y

tamaño de los conductos y lóbulos, y aumento relativo del tejido adiposo y conectivo. La disminución de la señalización hormonal reduce la proliferación y plasticidad epitelial, lo que limita la capacidad de remodelación y respuesta funcional de la glándula. La hormona del crecimiento e IGF-1 también disminuyen con la edad, contribuyendo a la senescencia mamaria y a la pérdida de arquitectura glandular (Arendt LM et al, 2015).

En definitiva, la fisiología mamaria premenopáusica depende de la interacción dinámica entre estrógenos, progesterona, hormona del crecimiento, IGF-1 y prolactina, mientras que la transición a la postmenopausia se caracteriza por la pérdida de esta influencia hormonal, con la consecuente involución y senescencia del tejido mamario.

1.6. Factores de riesgo de desarrollo de cáncer de mama

Los principales factores de riesgo para el desarrollo del cáncer de mama incluyen la edad, el sexo femenino, antecedentes familiares, mutaciones genéticas en genes conocidos (como BRCA1 ó BRCA2), y de manera fundamental, factores de riesgo dependientes de alteraciones hormonales y aspectos reproductivos (Anderson KN et al, 2014).

Tanto la exposición prenatal como la exposición acumulada a estrógenos y progesterona a lo largo de la vida es un determinante clave del riesgo de desarrollo de cáncer de mama (Hilakivi-Clarke L et al, 2013). Una menarquia temprana, una menopausia tardía, la nuliparidad, la edad avanzada al primer parto y la ausencia o escasa duración de la lactancia, aumentan el riesgo, ya que prolongan la exposición del epitelio mamario a ciclos ovulatorios y a la estimulación hormonal cíclica provocada por los mismos (Zolfaroli I et al, 2018).

La influencia hormonal se explica porque los estrógenos y la progesterona promueven la proliferación y el recambio celular en la glándula mamaria, facilitando la acumulación de mutaciones y la transformación neoplásica. La progesterona, en particular, tiene un efecto proliferativo directo sobre el epitelio mamario durante cada ciclo ovulatorio, y la cantidad total de ciclos menstruales a lo largo de la vida se asocia con mayor riesgo (Coelingh Bennink HJT et al, 2023).

El uso de terapia hormonal combinada en la menopausia también incrementa el riesgo, mientras que la lactancia y los embarazos tempranos y múltiples, ejercen un efecto protector al inducir la diferenciación mamaria y reducir la exposición a ciclos hormonales (ESHRE Capri Workshop Group, 2004, Chlebowski RT et al, 2020).

El eje GH/IGF-1 también contribuye a la proliferación mamaria y puede estar implicado en la transición hacia lesiones preneoplásicas (Kleinberg DL et al, 2009). Factores adicionales incluyen la obesidad postmenopáusica, que eleva los niveles de estrógenos por conversión periférica, y la exposición a hormonas exógenas, como anticonceptivos orales y terapia hormonal sustitutiva, aunque la evidencia científica refleja que el riesgo asociado a anticonceptivos es bajo y transitorio (Agnoletto A et al, 2025).

1.7 Histología y clasificación del cáncer de mama

Actualmente las clasificaciones manejadas en la clínica habitual son insuficientes para predecir la evolución y pronóstico del cáncer de mama (Szymiczek A et al, 2020).

Desde el punto de vista histológico, el 80% de los casos de cáncer de mama corresponden a carcinoma ductal infiltrante (también denominado carcinoma invasivo de tipo

no especial), lo que lo convierte en el subtipo más frecuente. Los factores pronósticos clásicos y aún vigentes en la práctica clínica son el tamaño tumoral y la afectación ganglionar axilar, ambos incluidos en los sistemas de estadificación como el TNM y reconocidos como determinantes independientes del pronóstico (Kos Z et al, 2024).

Los varios subtipos histológicos de cáncer de mama muestran diferencias etiológicas importantes, así como en su pronóstico y supervivencia. Aunque la clasificación mediante perfiles de expresión génica ha cambiado el conocimiento de estos tumores, todavía no es posible realizarla en la clínica diaria habitual para la totalidad de las pacientes que se atienden en ella debido a las exigencias técnicas y económicas que conlleva.

Aunque la clasificación clínica basada en inmunohistoquímica (IHC) —receptores hormonales, HER2 y Ki67— y la clasificación molecular por subtipos intrínsecos (luminal A, luminal B, HER2-sobreexpresado y triple negativo) han mejorado la estratificación pronóstica (Tamimi RM et al, 2012), ambas presentan limitaciones importantes (Zhang X et al, 2023). Existe una heterogeneidad significativa en la evolución clínica y la respuesta terapéutica dentro de cada subtipo, lo que limita su capacidad predictiva individual (Felato C et al, 2022, Coleman WB et al, 2017).

Herramientas como Oncotype® o Mamaprint® han empezado a usarse en los últimos años para intentar realizar esa clasificación de riesgo molecular en el cáncer de mama. Estas pruebas están limitadas para algunos subtipos de cáncer de mama, como es el caso de aquellos con especial presencia de receptores hormonales y en muchos hospitales aún no se encuentran a plena disposición de los facultativos especialistas del área de oncología.

Es por ello, por lo que aún sigue vigente y de uso clínico actual una clasificación inmunohistoquímica, que, si bien no coincide en la totalidad con la anterior, tiene valor predictivo para el uso de tratamientos y es muy práctica en la clínica diaria. Esta clasificación

se ha impuesto como práctica habitual porque permite individualizar el tratamiento y realizar un mejor pronóstico de la respuesta al tratamiento (O'Brien KM et al, 2010).

Según esos parámetros anteriormente expuestos, se definen los siguientes subtipos intrínsecos de cáncer de mama (Tabla 1):

1.-Tumores Luminal A, constituyen el 40% de los subtipos de cáncer de mama. Se caracterizan por alta expresión de receptores estrogénicos, receptores de progesterona altos, HER2 negativo (factor de crecimiento epidérmico humano), Ki67<20% y firma molecular de bajo riesgo (marcadores moleculares que identifican mejor respuesta, así como la predicción de posibles recaídas). Son los de mejor pronóstico, aunque debido a su prevalencia, es el que causa más muertes en su totalidad.

2.-Tumores Luminal B, representan el 20% de los subtipos de cáncer de mama. Tienen expresión de receptores estrogénicos, receptores de progesterona bajos, HER2 negativo, Ki67>20% y firma molecular de alto riesgo.

3.-HER2-sobreexpresado, se caracterizan por tener receptores de estrógenos y/o de progesterona; y factor de crecimiento epidérmico humano sobreexpresado (HER2+).

4.-Tumores HER2 “puros”: Son HER2 positivos y no expresan ningún tipo de receptor hormonal, ni de estrógenos ni de progesterona.

5.-Tumores Triple negativos, que son aquellos con receptores de estrógenos, progesterona y HER2 negativos.

Tabla 1. Subtipos histológicos cáncer de mama.

Subtipo	Prevalencia	RE/RP	HER2	Ki67	Pronóstico
Luminal A	40% aprox	RE+ / RP alto	Negativo	<20%	Mejor pronóstico, pero más muertes por su alta frecuencia
Luminal B	20% aprox	RE+ / RP bajo	Negativo	>20%	Peor pronóstico que Luminal A
HER2-sobreexpresado	Variable	RE+ y/o RP+	Positivo	Variable	Agresivo, tratable con terapias anti-HER2
HER2 “puro”	Poco frecuente	RE– / RP–	Positivo	Variable	Agresivo, sin respuesta a hormonoterapia
Triple negativo	15% aprox	RE– / RP–	Negativo	Alto	Muy agresivo, sin terapias dirigidas específicas

Nota: **RE:** Receptores de Estrógenos. **RP:** Receptores de Progesterona. **Aprox:** Aproximadamente. **HER2:** factor de crecimiento epidérmico humano.

La epidemiología y clasificación molecular del cáncer de mama muestra que alrededor del 80% de los casos presentan receptores hormonales positivos (receptor de estrógenos y/o de progesterona), lo que corresponde principalmente a los subtipos luminales A y B (Rios-Hoyo A et al, 2025).

La sobreexpresión de HER2 se observa en aproximadamente el 15-20% de los tumores; sin embargo, algunos estudios reportan cifras cercanas al 23% (Schettini F et al, 2016). Dentro de los tumores HER2 positivos, una proporción significativa (alrededor del 50-60%) también expresa receptores hormonales, clasificándose como HER2-sobreexpresado, mientras que el resto corresponde a tumores HER2-puros (receptores hormonales negativos) (Prat A et al, 2015).

La conjunción de los tumores Luminal B-HER2 y HER-puros, constituyen el grupo de HER2-sobreexpresado. Los tumores triple negativos (carentes de receptores de estrógenos, progesterona y HER2) representan aproximadamente el 13-15% de los casos y se asocian principalmente con el subtipo histológico basal-like, caracterizado por alta proliferación y peor pronóstico, aunque con buena respuesta inicial a tratamiento quimioterápico (Sebastian W et al, 2023).

Todo lo anteriormente expuesto refleja la marcada heterogeneidad biológica y clínica del cáncer de mama, ya que la expresión de biomarcadores inmunohistoquímicos (receptores de estrógenos, progesterona, HER2 y Ki67) y la clasificación en subtipos intrínsecos (Luminal A, Luminal B, HER2-sobreexpresado y triple negativo) determinan diferencias en el pronóstico y la respuesta al tratamiento. La estratificación molecular permite identificar grupos con distinta sensibilidad a terapias endocrinas, anti-HER2 y quimioterapia, lo que ha transformado el abordaje terapéutico y la predicción de resultados clínicos (Russnes HG et al, 2017), si bien el costo de estas técnicas moleculares hace difícil su plena implantación sobre todo en sistemas sanitarios con menores recursos.

1.8 Ambiente estrogénico prenatal

Durante el embarazo, el entorno hormonal prenatal está caracterizado por una compleja interacción entre los esteroides producidos por la madre, el feto y la placenta. Los estrógenos y los andrógenos juegan roles cruciales en este contexto (Fu S et al, 2024).

Por un lado, los estrógenos, principalmente estradiol, estrona y estriol, son producidos en grandes cantidades durante el embarazo. Esta producción es el resultado de una cooperación regulada entre la corteza adrenal materna y fetal, que produce precursores androgénicos, y el

trofoblasto vellosa placentario, que convierte estos precursores en estrógenos (Berkane N et al, 2017). Los estrógenos son esenciales para una función placentaria adecuada, la adaptación materna al embarazo y el desarrollo fetal. Alteraciones en la producción de estrógenos se asocian con resultados adversos del embarazo, como preeclampsia y malformaciones fetales (Parisi F et al, 2017).

Por otro lado, los andrógenos, como la testosterona y la dehidroepiandrosterona (DHEA), también están presentes y desempeñan funciones importantes. Los andrógenos son producidos tanto por las glándulas adrenales maternas como fetales y pueden ser convertidos en estrógenos por la placenta. Además, los andrógenos regulan la función del endometrio y la deciduización, procesos críticos para la implantación y el mantenimiento del embarazo. La concentración de andrógenos aumenta a lo largo de la gestación y se cree que son importantes para la remodelación cervical y la relajación del miometrio, procesos esenciales de cara al parto (Makieva S et al, 2014).

La exposición a disruptores endocrinos o sustancias químicas con efecto estrogénico en una etapa precoz durante el desarrollo intrauterino pueden alterar el desarrollo de la mama del feto y aumentar la susceptibilidad al cáncer de mama durante cualquiera de las etapas posteriores (Eve L et al, 2020). Estudios en modelos animales han demostrado que la exposición prenatal a compuestos como bisfenol A (BPA) y dietilestilbestrol, inducen alteraciones en la morfología y la arquitectura de la glándula mamaria, incluyendo cambios en la matriz extracelular, aumento de la rigidez glandular y reprogramación transcripcional de fibroblastos, todos ellos asociados a un mayor riesgo de transformación neoplásica en la adultez (Wormsbaeher C et al, 2020; Soto AM et al, 2013).

La sensibilidad a los disruptores endocrinos durante el desarrollo fetal parece ser crítica, ya que la glándula mamaria en formación es especialmente sensible a la acción de compuestos

estrogénicos exógenos, lo que puede programar cambios persistentes que aumentan el riesgo de cáncer de mama en cualquier etapa de la vida adulta (Soto AM et al, 2008; Wormsbaecher C et al, 2020).

1.9. Un marcador de la disrupción hormonal intrauterina; Distancia anogenital (DAG)

La distancia anogenital (DAG) es una medida antropométrica que representa la distancia entre el margen superior del ano y los genitales externos. Se ha consolidado como un marcador biológico robusto de la exposición hormonal durante el desarrollo fetal, especialmente a andrógenos. En humanos, la DAG es un marcador biológico de la exposición a andrógenos durante el desarrollo fetal, especialmente durante la llamada "ventana de programación de masculinización" (8-14 semanas de gestación), periodo en el que la acción androgénica determina la diferenciación sexual y fija la DAG de manera permanente (Jain VG et al, 2018). Su valor radica en que refleja de forma estable y no invasiva la influencia del entorno endocrino intrauterino, lo que la convierte en una herramienta útil para investigar la programación fetal de la salud reproductiva y endocrina en la vida adulta (Liu C et al, 2014).

En mamíferos placentarios, la DAG presenta un claro dimorfismo sexual: es significativamente mayor en machos que en hembras, debido a la acción de los andrógenos durante esa ventana crítica del desarrollo embrionario. Esta diferencia ha sido ampliamente documentada tanto en modelos animales como en humanos (Thankamony A et al., 2009), y ha motivado su uso como biomarcador de disrupción endocrina en estudios epidemiológicos y toxicológicos.

En mujeres, la DAG ha comenzado también a adquirir relevancia como indicador de exposición prenatal a andrógenos y como posible predictor de condiciones ginecológicas y reproductivas (Wainstock T et al, 2017). Su utilidad se ha explorado en relación con la función ovárica, la fertilidad, y más recientemente, con enfermedades hormonodependientes como es el caso del cáncer de mama. Esta línea de investigación se apoya en la hipótesis de que alteraciones en el entorno hormonal fetal pueden influir en la susceptibilidad a patologías en etapas posteriores de la vida, a través de mecanismos epigenéticos y de programación del desarrollo.

Se utilizan habitualmente dos tipos de distancia anogenital, que en la práctica clínica se miden a través de un pie de rey (Figura 1). Estas medidas son:

1. **Distancia ano-genital larga, DAGAC (ano-clitoral):** Esta medida se toma desde el ano hasta el clítoris. Es la medida más comúnmente utilizada en estudios que involucran a las mujeres y se ha asociado con niveles hormonales y condiciones ginecológicas.
2. **Distancia ano-genital corta, DAGAF (ano-fourchette):** Esta medida se toma desde el ano hasta la fourchette (comisura posterior de la vulva). Aunque es menos común que la DAGAC, también se utiliza para evaluar la exposición prenatal a andrógenos y su relación con la salud reproductiva.

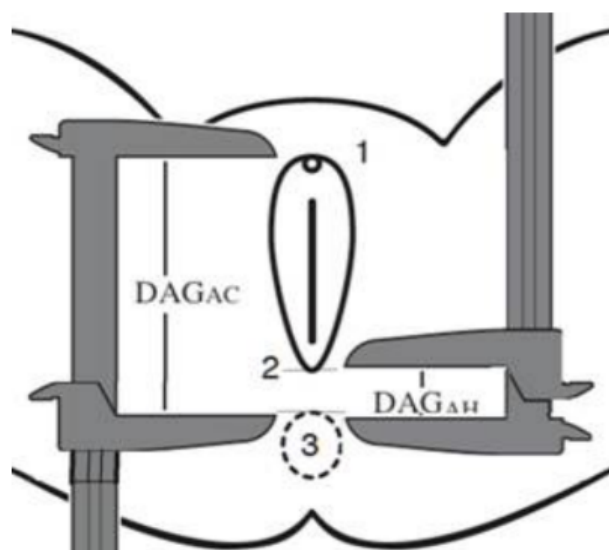


Figura 1. Mediciones de la distancia anogenital

Nota: **DAGAC**, desde el dorso del clítoris al margen superior del ano (punto 1 al punto 3); y **DAGAH**, desde la horquilla vulvar hasta el margen anal superior (punto 2 al punto 3). Adaptado con permiso de Laura Cánovas. (2015).

Como se ha comentado previamente, el cociente existente de estas medidas persiste a lo largo de la vida adulta (Priskorn L et al, 2017), proporcionando un registro del nivel de exposición a andrógenos en la etapa prenatal sin ser modificado posteriormente. Así, una DAG más corta en varones se ha asociado con una peor calidad seminal (Mendiola et al, 2011) e infertilidad (Eisenberg ML et al, 2011), mientras que en mujeres se ha observado una asociación positiva entre la DAG y el número de folículos ováricos (Wainstock T et al, 2017) y mayores concentraciones de testosterona sérica (Mendiola et al, 2011).

Diversos estudios en modelos animales han demostrado que la exposición exógena a diversos productos químicos que actúan como disruptores endocrinos ambientales modifica el equilibrio hormonal del organismo durante el período prenatal y pueden afectar al desarrollo del tracto reproductivo (Wang Y et al, 2022). Por ejemplo, exposiciones al fungicida vinclozolina, cuyo efecto antiandrogénico es conocido, se asocia con alteraciones en el

desarrollo del tracto reproductivo de la descendencia masculina, incluyendo un acortamiento de la DAG (Draskau MK et al, 2019). En definitiva, la exposición intrauterina a fungicidas triazólicos puede inducir virilización y aumento de la DAG en crías hembras, reflejando una alteración del ambiente hormonal prenatal y confirmando el valor de la DAG como biomarcador de disrupción endocrina durante el desarrollo (Lv X et al, 2017).

En el caso concreto del desarrollo de cáncer de mama, se ha visto como algunos pesticidas se han visto asociados a un riesgo incrementado de desarrollo de este tipo de cáncer en las mujeres expuestas (Tayour C et al, 2019). Un estudio evaluó la asociación entre la exposición ambiental a pesticidas y el riesgo de cáncer de mama mediante un diseño de casos y controles utilizando datos geoespaciales para estimar la exposición residencial a pesticidas agrícolas. Los resultados mostraron que la exposición ambiental a ciertos pesticidas, especialmente durante períodos críticos de susceptibilidad (como la pubertad y el embarazo), se asoció con un aumento modesto pero significativo en el riesgo de cáncer de mama, particularmente para subtipos hormonodependientes (Tayour C et al, 2019).

Los hallazgos anteriormente expuestos son consistentes con la literatura que vincula la exposición a dichos disruptores endocrinos ambientales con alteraciones en la salud reproductiva y endocrina, como se ha discutido previamente para fungicidas y pesticidas, y refuerzan la hipótesis de que la exposición crónica a pesticidas pudiera conllevar una contribución a la carcinogénesis mamaria a través de mecanismos hormonales y epigenéticos por discernir.

Otros estudios han mostrado una asociación positiva entre la presencia de ciclos irregulares maternos (relacionado con un ambiente hiperandrogénico) previos al embarazo y una DAG mayor en su descendencia femenina.

En concreto, un estudio demostró que aquellas cuyas madres reportaron irregularidades menstruales previas al embarazo presentaban una DAG significativamente mayor, lo que sugiere una exposición aumentada a andrógenos durante el desarrollo fetal femenino. (Mira Escolano et al, 2014).

Por todo lo anteriormente expuesto, la DAG podría ser utilizada como un indicador fiable de la exposición fetal a distintas sustancias que puedan actuar como alteradores endocrinos, algo que ha sido poco estudiado en población humana femenina en su relación con el desarrollo de patología tumoral mamaria.

1.10 Justificación del estudio

El cáncer de mama representa una de las principales causas de morbi-mortalidad en mujeres a nivel mundial, con una incidencia creciente y una elevada carga económica y social. A pesar de los avances en diagnóstico y tratamiento, persiste una necesidad imperiosa de mejorar las estrategias de detección precoz y de identificación de biomarcadores que permitan una mejor estratificación del riesgo.

En este contexto, la DAG ha emergido como un biomarcador sensible y estable de la exposición intrauterina a hormonas sexuales, especialmente estrógenos y andrógenos, sin verse especialmente alterado por los niveles hormonales postnatales.

La DAG, tanto en su variante DAGAC (ano-clitoral) como DAGAF (ano-fourchette), refleja el ambiente hormonal prenatal durante una ventana crítica del desarrollo fetal, etapa en la que la glándula mamaria es particularmente vulnerable a la acción de compuestos hormonales y disruptores endocrinos.

La literatura científica ha demostrado que alteraciones en el ambiente hormonal intrauterino pueden inducir cambios estructurales y funcionales en el tejido mamario, predisponiendo a una mayor susceptibilidad al desarrollo de neoplasias en etapas posteriores de la vida. En modelos animales, la exposición prenatal a compuestos estrogénicos exógenos ha mostrado una clara asociación con modificaciones en la arquitectura mamaria y un incremento del riesgo de transformación neoplásica. Asimismo, estudios en humanos han vinculado la DAG con trastornos ginecológicos y reproductivos, lo que refuerza su valor como marcador clínico de especial relevancia.

Dado que el desarrollo mamario está profundamente influenciado por la acción hormonal desde la embriogénesis hasta la postmenopausia, y que los factores hormonales constituyen uno de los principales determinantes etiológicos del cáncer de mama, resulta pertinente explorar si la DAG puede asociarse con un mayor riesgo de esta patología.

Esta asociación permitiría establecer un vínculo entre la exposición hormonal prenatal y la aparición de tumores mamarios, especialmente aquellos con receptores hormonales positivos, que representan la mayoría de los casos.

Por tanto, evaluar la relación entre la DAG y el riesgo de cáncer de mama podría aportar evidencia novedosa que permitiera confirmar dicha asociación, abriendo nuevas líneas de investigación en el campo de la oncología preventiva y proporcionar a los especialistas un biomarcador clínico accesible, no invasivo y de bajo coste, con potencial para ser incorporado en estrategias de detección precoz y evaluación de riesgo individualizado.

2. Objetivos e hipótesis

2.1 Objetivo general y específicos

El objetivo general de este estudio es analizar la relación entre el marcador indirecto del entorno hormonal prenatal, la distancia anogenital, y su asociación con el cáncer de mama y sus subtipos moleculares.

Los objetivos específicos son:

1. Realizar un análisis comparativo de las diferentes variables recabadas y las dos medidas de DAG (DAGAC y DAGAF) entre un grupo de mujeres con cáncer de mama y un grupo control.
2. Evaluar la asociación entre la distancia anogenital y el riesgo de cáncer de mama en mujeres adultas.
3. Evaluar la asociación entre la distancia anogenital y el riesgo de cáncer de mama en mujeres según el estatus hormonal.
4. Analizar la relación entre los subtipos moleculares del cáncer de mama y las dos medidas de distancia anogenital.
5. Realizar un análisis de pacientes con cáncer de mama subtipo luminal con plataforma genómica disponible (Oncotype®) y su resultado en Recurrence Score y las medidas de distancia anogenital.

2.2 Hipótesis

La hipótesis principal de este estudio es la existencia de una relación entre la distancia anogenital y el cáncer de mama, de forma que las mujeres con cáncer de mama tendrían una DAG que reflejase una mayor exposición a estrógenos en el útero que las mujeres del grupo control. Adicionalmente, una mayor distancia anogenital, como marcador de disrupción endocrina en la etapa prenatal se asociaría con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama en la edad adulta. Y que, por tanto, la distancia anogenital larga sería mayor en las mujeres con cáncer de mama que en el grupo de mujeres control.

Como hipótesis secundaria, las distancias anogenitales en el grupo de mujeres premenopáusicas con cáncer de mama y el grupo control serían significativamente diferentes, reflejando la mayor exposición a estrógenos y disrupción endocrina durante el embarazo en las mujeres con cáncer de mama.

3. Material y método

3.1 Diseño del estudio

Para dar respuesta a la hipótesis de trabajo y objetivos propuestos, se diseñó un estudio prospectivo descriptivo de casos y controles. En él se realiza una comparación entre casos de nuevas pacientes diagnosticadas de cáncer de mama y mujeres sin diagnóstico de cáncer de mama que actúan como controles dentro del estudio.

3.2 Población y periodo de estudio

La población del estudio se obtuvo de la cobertura sanitaria a las pacientes con cáncer recogidas en el Área I del Servicio Murciano de Salud, cuyo hospital de referencia para el manejo y tratamiento del cáncer es el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (áreas de salud I, III, V y IX del Servicio Murciano de Salud).

Nuestra muestra consta de dos cohortes, una constituida por pacientes diagnosticadas de cáncer de mama y valoradas en el servicio de oncología del HCUVA que actúan como casos, y otra que incluye mujeres voluntarias atendidas en una consulta de ginecología general del mismo hospital y que actúan como controles.

La población accesible de nuestro estudio incluye a las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama y sus respectivos controles en el área de salud descrita de la Región de Murcia entre el 1/1/2022 y el 1/6/2024.

Hay que resaltar que el periodo de reclutamiento establecido contempla una etapa de postpandemia por COVID temprana, por lo que de cara al desarrollo del circuito de las

pacientes dentro del estudio se establecieron una serie de acciones encaminadas a evitar una exposición excesiva al medio hospitalario (aceptación de participación en el estudio, firma del *Consentimiento Informado* y obtención de mediciones y cuestionarios en la misma consulta) así como un acotamiento del rango de edad de las pacientes a un máximo de 80 años para evitar mayor contacto con el entorno sanitario en esta población de especial riesgo.

La identificación, estudio y seguimiento de los sujetos del estudio se incorporaron dentro de la actividad clínica habitual.

De la población a estudio, se recogieron y analizaron una serie de variables a través de un protocolo estandarizado que fue aprobado previamente por el Comité de Ética Asistencial del HCUVA (Anexo I).

3.3. Cohortes de pacientes valoradas en el estudio

La selección de participantes se realizó bajo criterios estrictos de inclusión y exclusión, con el fin de minimizar factores de confusión que pudieran alterar la interpretación de los resultados.

3.3.1. Criterios de inclusión y exclusión cohorte de casos

Para el reclutamiento de las pacientes incluidas como casos en el estudio, se incluyeron únicamente casos incidentes de mujeres con los siguientes criterios:

- 1) Ser mujer con una edad comprendida entre 18 y 80 años.
- 2) Poseer un diagnóstico anatomopatológico de cáncer de mama.

- 3) Tener acceso a todos los datos necesarios en la historia clínica digital del Servicio Murciano de Salud.
- 4) Estar diagnosticada de cáncer de mama en el tiempo acotado de duración del reclutamiento del estudio.
- 5) Dominar el castellano como lengua vehicular para ser informadas de los objetivos del estudio, y ofrecer su consentimiento informado escrito para participar en el mismo.

Se llevó a cabo una exclusión de pacientes con cáncer de mama en base a la existencia previa de los siguientes criterios:

- 1) Tener patología endocrina concomitante.
- 2) Utilizar en el momento de inclusión anticonceptivos hormonales.
- 3) Realizar un uso crónico de tratamiento corticoesteroideo.

Las pacientes fueron excluidas por tener los anteriores antecedentes siguiendo la línea de estudios previos con el objetivo de evitar factores que pudieran alterar las mediciones en la etapa adulta.

3.3.2. Criterios de inclusión y exclusión cohorte de controles

Para el reclutamiento de las participantes como controles en el estudio, se incluyeron mujeres con los siguientes criterios:

- 1) Se mujer con una edad comprendida entre 18 y 80 años.
- 2) Dominar el castellano como lengua vehicular para ser informadas de los objetivos del estudio, y ofrecer su consentimiento informado escrito para participar en el mismo.

Se llevó a cabo una exclusión de controles en el estudio en base a la existencia previa de los siguientes criterios:

- 1) Tener patología endocrina concomitante.
- 2) Utilizar en el momento de inclusión anticonceptivos hormonales.
- 3) Realizar un uso crónico de tratamiento corticoesteroideo.

Las pacientes fueron excluidas por tener los anteriores antecedentes siguiendo la línea de estudios previos con el objetivo de evitar factores que pudieran alterar las mediciones en la etapa adulta.

3.4 Fuentes de datos

Los datos de las pacientes incluidas dentro del grupo de casos del estudio se obtuvieron de las bases de datos de las pacientes presentadas en el Comité multidisciplinar de patología mamaria del HCUVA durante el periodo establecido en el estudio. En este primer momento se seleccionaban las NHC de todos los nuevos diagnósticos presentados en ese comité y se incluían para posteriormente valorar el cumplimiento de los criterios de inclusión.

Una vez valorado el cumplimiento de los criterios de inclusión expuestos previamente, se les realizaba una llamada telefónica para ofrecerles la citación presencial para exponerles el objetivo del estudio y recabar el consentimiento informado (Anexo II).

Aquellas pacientes que otorgaban el consentimiento informado, previa explicación de este, se les llevaba a cabo la medición de la DAG en sus dos vertientes (DAGAC y DAGAF). De igual forma, se les realizaba un cuestionario básico (Anexo III) y posteriormente se extraía la información necesaria de su proceso oncológico mediante la explotación de datos de su

historia digital en la plataforma Selene® para completar el Cuaderno de Recogida de Datos (Anexo IV).

Las participantes del estudio como grupo control fueron reclutadas a través de su asistencia a una consulta de ginecología general donde se les ofreció participar en el estudio tras comprobación de los criterios de inclusión. Se les llevó a cabo la explicación del Consentimiento Informado y tras su otorgamiento se procedió a la medición de la DAG de la misma forma que en las pacientes incluidas en el grupo de casos.

3.5 Recogida de datos

Los datos relativos a las medidas de las pacientes fueron recogidos a través de exploración física realizada en posición de litotomía dorsal sobre la camilla de exploración ginecológica con las piernas colocadas de modo que existía un ángulo de 90° entre la cadera y la espalda permitiendo una posición relajada de la pelvis.

La medición era llevada a cabo a través de un pie de rey por dos observadores diferentes. Las dos personas que llevaban a cabo dichas mediciones habían sido previamente instruidas por una ginecóloga experta y se había llevado a cabo un análisis de comprobación de sesgos inter observador (Figuras 2 y 3).

Los datos relativos a la historia clínica y oncológica de cada paciente junto con las medidas se consignaron en un CRD diseñado a tal efecto (anexo IV), tras la revisión de la historia informatizada (Selene®).

Posteriormente estos datos fueron trasladados a una tabla formato Excel. Se asignó un número de caso a cada paciente evaluado y se llevó a cabo la codificación de los datos recogidos (transformación a código numérico) previo a la realización del análisis estadístico. En esta fase se llevó a cabo la detección y corrección de errores en la recogida de datos encontrados. La última actualización de datos se realizó en enero de 2025.



Figura 2. Imagen del proceso de medición de la distancia anogenital

Nota: DAGAF. Fotografía obtenida con el consentimiento expreso de la paciente y la autora de esta, la Dra. Laura Cánovas.



Figura 3 Imagen del proceso de medición de la distancia anogenital

Nota: DAGAC. Fotografía obtenida con el consentimiento expreso de la paciente y la autora de esta, la Dra. Laura Cánovas.

3.5 Variables generales de la población a estudio.

De cara a la valoración de la relación entre la distancia anogenital y las diferentes variables ginecológicas de las pacientes diagnosticadas con cáncer de mama, se realizó la toma en consideración de las siguientes variables:

- 1 Edad (años)
- 2 Índice de masa corporal [IMC] (kg/m²)
- 3 Distancias anogenitales [DAG] (mm):
 1. DAG ano-clítoris (DAG_{AC})
 2. DAG ano-fourchette (DAG_{AF})
- 4 Cesárea previa (Sí/No).
- 5 Episiotomía previa (Sí/No).

6 Premenopáusica o postmenopáusica en el momento de la recogida de datos.

7 Paridad (0, 1, 2, 3 o más).

3.6 Variables de estudio y clasificación del Cáncer de Mama.

De cara a la valoración de la relación entre la distancia anogenital y diferentes variables de las pacientes diagnosticadas con cáncer de mama, se realiza una clasificación de las mencionadas variables realizando la siguiente agrupación de estas:

3.6.1 Subtipos de cáncer de mama

La clasificación de los diferentes subtipos de cáncer de mama se realizó siguiendo el porcentaje de receptores de estrógenos, receptores de progesterona, porcentaje de ki67% y presencia o ausencia de Her2+ según lo recogido en la Tabla 1 y los siguientes subtipos moleculares:

1. Luminal A
2. Luminal B
3. Luminal Her2
4. Her2 sobreexpresado
5. Triple negativo

3.6.2 Perfil genómico mediante resultado Oncotype®

Se llevó a cabo a cabo la inclusión del resultado del Recurrence Score (RS) de la plataforma Oncotype® en aquellas pacientes incluidas en el grupo de casos que se les solicitó dicha prueba por práctica clínica habitual.

El resultado del Oncotype® se utilizó para clasificar a las pacientes en diferentes grupos de riesgo según la puntuación de recurrencia (Recurrence Score, RS), siguiendo la práctica clínica habitual (Anexo V) y la evidencia internacional (Hasset MJ et al, 2020).

Siguiendo esta práctica clínica habitual, este test predictivo está indicado en pacientes con cáncer de mama en estadio temprano, RH positivo ($\geq 10\%$) y HER2 negativo, como herramienta predictiva para guiar la decisión sobre la necesidad de quimioterapia adyuvante. Su uso debe ser consensuado con la paciente, quien debe estar dispuesta a aceptar las decisiones terapéuticas derivadas del resultado.

Está indicado en mujeres menores de 75 años, con buen estado funcional (ECOG 0-1) y sin comorbilidades graves que limiten la expectativa de vida (< 5 años).

Se excluyen los subtipos histológicos de bajo riesgo (tubular, mucinoso, coloide) y el carcinoma lobulillar clásico sin afectación ganglionar (N0). La prueba puede realizarse en pacientes con ganglios negativos (pN0 o pN1mic) o con 1-3 ganglios positivos (pN1) si son postmenopáusicas. En enfermedad pN0, se considera en tumores ≥ 1 cm con factores de riesgo (edad < 35 años, grado 2-3, invasión linfovascular, receptores de progesterona $\leq 20\%$, Ki67 $> 20\%$) y en tumores < 1 cm solo si hay múltiples factores de riesgo (Burstein HJ et al, 2019 y De Nonneville A et al, 2019).

Los resultados se categorizan en: bajo riesgo ($RS \leq 25$) y alto riesgo ($RS > 25$), de acuerdo con modelos validados que integran parámetros histopatológicos y moleculares para la estratificación pronóstica y la toma de decisiones terapéuticas.

Esta clasificación permite identificar subgrupos con diferente pronóstico y potencial beneficio de quimioterapia adyuvante, optimizando la selección de tratamientos personalizados en el contexto del nuevo paradigma de la oncología de precisión. La integración del perfil genómico con datos clinicopatológicos se realizó siguiendo recomendaciones actuales para maximizar la utilidad clínica del test y garantizar la adecuada asignación de estrategias terapéuticas.

3.7 Análisis estadístico.

Tras la clasificación de las diferentes variables se realizó un estudio descriptivo de las principales características de las pacientes incluidas en el estudio.

Las variables cuantitativas se expresan mediante su media y desviación estándar o mediana con rango intercuartílico, máximo y mínimo, según corresponda. Las variables categóricas se expresan mediante frecuencias absolutas y porcentajes.

Los análisis utilizados para estudiar las posibles diferencias en casos y controles de las variables en estudio serán los tests Ji-cuadrado para variables cualitativas, T de Student (o Mann-Whitney) para cuantitativas. En relación con el objetivo principal del estudio, para realizar la comparación de ambas distancias anogenitales y de su asociación con la presencia de cáncer de mama se usarán modelos de regresión ajustados (ANCOVA).

Para el análisis de la posible influencia no lineal entre el cáncer de mama y ambas DAG, esta variable se analizará de forma categórica, definida a partir de puntos de corte basados en quintiles. Con este objetivo, se usaron modelos de regresión logística crudos y ajustados, en los que se obtuvieron las Odds Ratio ajustadas (OR) y sus respectivos intervalos de confianza (IC) al 95%.

Finalmente, usaremos ANOVA (o Kruskal-Wallis) para analizar la relación entre la DAG y los distintos receptores (estrógenos, progesterona y HER2) o los subtipos intrínsecos categorizados en: 1) Luminal A, 2) Luminal B, 3) Luminal B-HER2, 4) HER2-sobreexpresado y 5) Triple negativos.

Todas las pruebas fueron de dos colas y el nivel de significación se fijó en 0.05. Para la realización de los análisis estadísticos se empleó el paquete estadístico SPSS 27.0 (IBM Corporation, Armonk, Nueva York, E.E.U.U).

3.8 Población de estudio y selección de los casos

Para la selección de los casos (Figura 4) se estudiaron la totalidad de nuevos diagnósticos de cáncer de mama durante el periodo comprendido entre el 01.01.2022 y el 01.06.2024 (N=823) en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Se llevó a cabo un primer screening con exclusión por los siguientes motivos:

1. Ser mayor de 80 años (N=59)
2. Ser varón (N=7)

3. Pertenecer a un área de salud diferente a las áreas en las que se presta asistencia oncológica por parte del Área I del Servicio Murciano de Salud (N=16)

Del total de las pacientes diagnosticadas que cumplían los criterios de screening, se obtuvieron un total de 741 casos posibles a incorporar al estudio. Estas pacientes fueron contactadas telefónicamente para ofrecerles participar en el estudio, de las cuales, un total de 304 pacientes declinaron participar. A las que aceptaron, se procedió a su citación en una consulta para la firma del correspondiente consentimiento informado y valoración de cara a la inclusión definitiva dentro del estudio.

Tras la primera visita de screening, un total de 15 pacientes fueron excluidas por los siguientes motivos

1. Tener patología endocrina concomitante (N=3)
2. Dificultad para el idioma y entendimiento del C. Informado (N=3)
3. Uso de anticonceptivos (N=3)
4. Uso crónico de corticoides (N=1)
5. Otros motivos (N=5)

Dentro de las pacientes excluidas por otros motivos se encuentran dos diagnósticos histológicos de tumores apocrinos, dos de tumores de histología neuroendocrina y un tumor de histología filoide.

Para el estudio, todas las pacientes con cáncer de mama fueron sometidas a examen físico con las dos mediciones de marcadores indirectos de entorno androgénico prenatal (DAGAF y DAGAC) y la recopilación de datos sobre las diferentes variables del cáncer de mama.

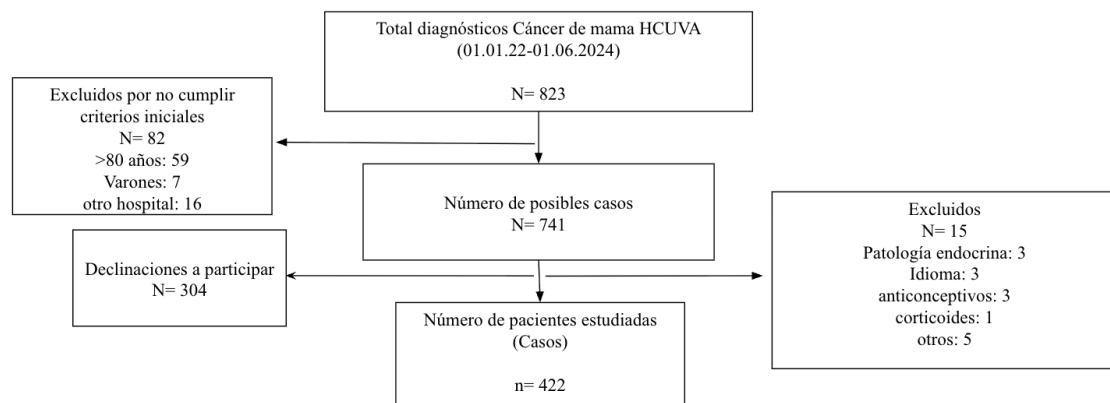


Figura 4. Diagrama de reclutamiento de casos dentro del estudio.

Para la inclusión de las mujeres que actuaron como controles dentro del estudio se utilizó como fuente para el reclutamiento de las mismas el uso de una consulta de ginecología general del servicio de ginecología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. El periodo de reclutamiento de los controles fue el mismo que el de los casos y se extendió entre el 01.01.2022 y el 01.06.2024 (N=444).

De las mujeres que inicialmente expusieron su intención de participar en el estudio, finalmente un total de 15 pacientes declinaron y un total de 12 fueron excluidas por los siguientes motivos:

1. Uso concomitante de anticonceptivos orales (N=8)
2. Uso de corticoides (N=4)

Finalmente, un total de 417 controles fueron incluidos en el estudio (Figura 5) y estas pacientes, previa aceptación de su inclusión dentro del estudio a través de la firma del consiguiente Consentimiento informado, fueron sometidas a examen físico con mediciones de marcadores indirectos de entorno androgénico prenatal (DAGAC y DAGAF) y las diferentes variables expuestas previamente.

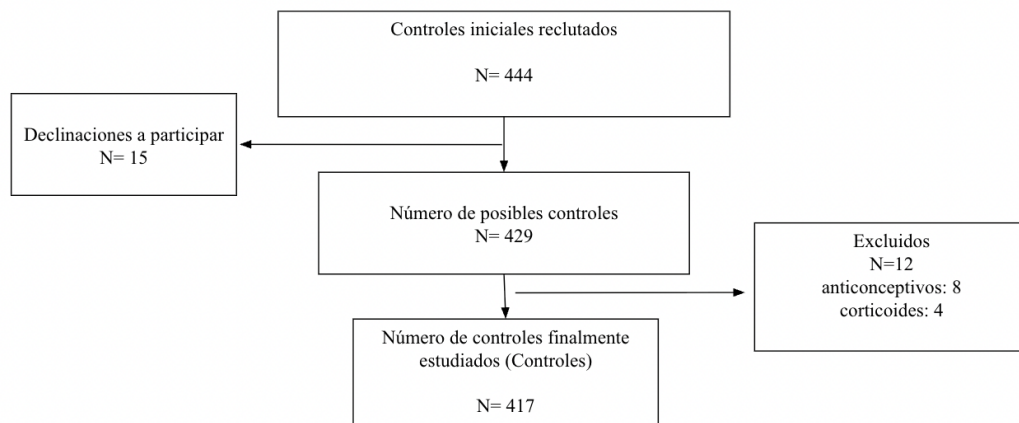


Figura 5. Diagrama de reclutamiento de los controles dentro del estudio.

4. Resultados

4.1 Análisis comparativo de las características de los grupos a estudio.

La Tabla 2 muestra las características generales de la población de estudio. Se analizaron un total de 422 pacientes con diagnóstico de cáncer de mama. La edad media fue de 54.0 años (DE: 10.5), con una mediana de 53.0 años. El índice de masa corporal (IMC) promedio fue de 27.4 kg/m² (DE: 5.5), dentro de un rango entre 19.8 y 37.5 kg/m². En relación con las medidas indirectas del entorno androgénico prenatal, la distancia anogenital corta, distancia del ano al fourchette (DAGAF) tuvo una media de 28.6 mm (DE: 6.4), mientras que la distancia anogenital larga, distancia del ano al clítoris (DAGAC) fue de 85.0 mm (DE: 12.5).

Del total de las pacientes diagnosticadas con cáncer de mama, a un total de 81 se les realizó el test predictivo Oncotype® según su indicación en la práctica clínica habitual, siguiendo las indicaciones recogidas en el Anexo V. De estas, 11 resultaron tener un resultado de alto riesgo (RS >25), el 11.3% del total de muestras evaluadas.

Según su estatus hormonal 257 pacientes, un 60.3% de las pacientes diagnosticadas con cáncer de mama, se encontraban en un estatus hormonal de menopausia.

Respecto a antecedentes obstétricos, el 21.8% de las pacientes había tenido parto por cesárea y el 60.7% presentaba antecedente de episiotomía. En términos de paridad, el 27.3% de las pacientes eran nulíparas (paridad 0), el 17.1% tenía un hijo, el 39.3% tenía dos hijos y el 16.4% tenía tres o más hijos.

Tabla 2. Características generales de las pacientes con cáncer de mama.

Cáncer de Mama (n=422)				
Características	Media	DE	Mediana	5-95
Edad (Años)	54.0	10.5	53.0	37.2-71.9
Índice de Masa Corporal (IMC) (kg/m ²)	27.4	5.5	26.3	19.8-37.5
Distancia Anogenital (DAG _{AF}) (mm)	28.6	6.4	28.0	19.2-40.1
Distancia Anogenital (DAG _{AC}) (mm)	85.0	12.5	84.1	66.2-107.5
Oncotype® (Alto Riesgo)			11/81 (13.6)	
Han tenido:				
Cesárea			92 (21.8)	
Episiotomía			256 (60.7)	
Menopausia			257 (60.3)	
Paridad				
0			115	
1			72	
2			166	
3+			69	

Nota: **DE:** Desviación estándar; 5–95: Percentil 5° a 95°. **DAGAF:** Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la horquilla posterior. **DAGAC:** Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la superficie anterior del clítoris

A continuación, se realizó un análisis comparativo entre las medidas de distancia anogenital (DAG) en mujeres con diagnóstico de cáncer de mama y en aquellas del grupo control, explorando su asociación tanto con las distancias en sus dos vertientes (DAGAC y DAGAF) así como la edad, el IMC, la existencia o no de cesárea o episiotomía previa y el número de hijos (Tabla 2).

En primer lugar, las participantes del grupo de casos de cáncer de mama eran mujeres de entre 37,2 a 71,9 años, con una media de edad de 54 años (DE de 10,5), con un Índice de Masa Corporal (IMC) medio de 27,4 (DE de 5,5). En comparación con el grupo de mujeres que actuaron como control, éstas tenían una edad entre 28 y 66 años (DE de 11.5) y un IMC entre 20,1 y 36,1 (DE de 5.1). Las mujeres con cáncer de mama eran de más edad y tenían un IMC mayor ($p<0.001$).

No había diferencias entre los grupos de mujeres con cáncer de mama y el grupo de mujeres control en cuanto al hecho de haber tenido una cesárea previa, haber tenido una episiotomía previa o en cuanto al número de hijos ($p=0.70$, $p=0.57$ y $p=0.67$ respectivamente).

En el grupo de pacientes con cáncer de mama había un mayor número de mujeres con menopausia, 257 mujeres frente a 206 del grupo control. Lo que supone el 60.3% de la muestra de los casos frente el 48.5% de la muestra de los controles.

La Tabla 3 muestra las principales características de las participantes comparando el grupo de mujeres con cáncer con las características de las mujeres del grupo control.

Tabla 3. Comparación de las características principales entre los casos y los controles.

	Casos Cáncer de Mama (n=422)				Controles (n=417)				P-valor ^a
	Media	DE	Mediana	P 5-95	Media	DE	Mediana	P 5-95	
Edad (años)	54.0	10.5	53.0	37.2-71.9	49.8	11.5	51.0	28.0-66.0	<0.01
IMC (kg/m²)	27.4	5.5	26.3	19.8-37.5	26.2	5.1	28.5	20.1-36.1	<0.01
(DAG_{AF}) (mm)	28.6	6.4	28.0	19.2-40.1	29.8	7.0	29.0	20.0-41.8	0.02
(DAG_{AC}) (mm)	85.0	12.5	84.1	66.2-107.5	81.2	10.7	81.2	64.7-99.2	<0.01
Cesárea previa			92 (21.8)				101 (24.2)		0.70
Episiotomía			256 (60.7)				261 (62.6)		0.57
Menopausia			257 (60.3)				206 (48.5)		<0.01
N.º Hijos									
0			115				122		
1			72				85		
2			166				151		
3+			69				59		0.67

Nota: DE: Desviación estándar; **P 5–95:** Percentil 5º a 95º. **DAGAF:** Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la horquilla posterior. **DAGAC:** Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la superficie anterior del clítoris; **IMC:** índice de masa corporal

Existen algunas diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. La edad media, el IMC y el porcentaje de mujeres que habían alcanzado la menopausia era significativamente mayor en los casos que en grupo control. Se observan también diferencias estadísticamente significativas en las distancias anogenitales de los dos grupos.

Siendo la Distancia Anogenital corta (DAGAF) 1,2 mm más corta en las pacientes con cáncer de mama (28,6 mm) que en grupo control (29,8 mm) ($p<0.01$). La distancia anogenital larga (DAGAC) era 3,8 mm más larga (85 mm) en el grupo de casos que en el grupo control (81,2 mm) ($p=0.02$).

4.2 Análisis de las dos DAG en los grupos de estudio

La Tabla 4, presenta los valores de las odds ratio de la comparación de las dos medidas de DAG en quintiles. Se refleja para cada quintil el valor de la mediana de la DAG correspondiente, el número de casos y controles en cada categoría, y las estimaciones puntuales junto a sus intervalos de confianza de las odds ratio crudas y ajustadas, así como la p de tendencia de las odds ratio para cada medida de DAG.

Tabla 4. Odds ratio (OR) de cáncer de mama por quintiles de las mediciones de DAG.

Casos cáncer de mama (N=422) vs. controles (N=417)						
	Casos	Controles	Odds Ratio ^a (95%CI)	p- valor	Odds Ratio ^b (95%CI)	p- valor
DAGAF [DAG corta]						
5° (38.0 mm)	80	89	1.0 (referencia)		1.0 (referencia)	
4° (32.1 mm)	75	93	0.90 (0.58-1.4)		0.95 (0.61-1.5)	
3° (28.5 mm)	84	80	1.2 (0.76-1.8)		1.5 (0.95-2.3)	
2° (25.3 mm)	87	80	1.2 (0.79-1.9)		1.5 (0.95-2.3)	
1° (21.4 mm)	96	75	1.4 (0.93-2.2)	0.26	1.9 (1.3-3.1)	0.01
DAGAC [DAG larga]						
5° (99.0 mm)	114	54	1.0 (referencia)		1.0 (referencia)	
4° (88.4 mm)	79	88	0.43 (0.27-0.66)		0.40 (0.26-0.63)	
3° (82.6 mm)	82	87	0.45 (0.29-0.70)		0.42 (0.27-0.66)	
2° (77.0 mm)	75	92	0.39 (0.25-0.60)		0.37 (0.23-0.58)	
1° (69.3 mm)	72	96	0.36 (0.23-0.55)	<0.001	0.34 (0.22-0.54)	<0.001

Nota: **aOR** no ajustado. **bOR** ajustado por edad e IMC. **DAGAF:** Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la horquilla posterior. **DAGAC:** Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la superficie anterior del clítoris. *Los valores en mm reflejan la mediana del intervalo.*

En ambas medidas el quintil más largo se ha tomado como valor de referencia para los análisis. Para la DAGAF los valores de la mediana van desde el más alto (5.º quintil) de 38.0 mm hasta el más corto (1.er quintil) de 21.4 mm, con diferencia por tanto entre las medianas de estos dos grupos de 16,6 mm.

En el grupo de casos, el número de mujeres por quintil varía entre 75 y 96, mientras que en los controles oscila entre 75 y 93. En el modelo sin ajustar, los OR oscilan entre 0.90 y 1.4, con una tendencia no significativa para el modelo sin ajustar ($p = 0.26$). En el modelo ajustado por edad e IMC, los OR varían entre 0.95 y 1.9, mostrando una tendencia significativa de aumento de la ORs con los quintiles ($p = 0.01$).

Para la DAGAC, la mediana del quintil más largo (5.º quintil) es de 99.0 mm, siendo el más corto (1.º quintil) de 69.3 mm. La diferencia entre las medianas de ambos quintiles es de 29,7 mm. Entre los casos, el número de mujeres por quintil varía entre 72 y 114, mientras que en los controles se encuentran entre 54 y 96. En el modelo crudo, los OR van desde 0.36 hasta 0.43, con un valor de tendencia altamente significativo ($p\text{-valor} < 0.001$). En el modelo ajustado por edad e IMC, los OR se sitúan entre 0.34 y 0.40, con un valor de tendencia también altamente significativo ($p\text{-valor} < 0.001$).

4.3 Análisis diferencial de las distancias DAGAF y DAGAC según estatus hormonal

Con el objetivo de explorar si la asociación entre la distancia anogenital (DAG) y el riesgo de cáncer de mama varía en función del estado hormonal, se realizó un análisis estratificado por estatus menopáusico. Para ello, se dividió la muestra en dos grupos: mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas. En cada grupo, se evaluó el riesgo de cáncer de mama según quintiles de DAG, tanto para la medida desde el ano hasta la horquilla vulvar (DAGAF) como para la medida desde el ano hasta el clítoris (DAGAC).

Se calcularon Odds Ratios (OR) crudas y ajustadas por edad e índice de masa corporal (IMC), tomando como referencia el quintil más largo (5º).

En mujeres postmenopáusicas, se observó una asociación inversa significativa entre DAGAC y el riesgo de cáncer de mama, con una reducción progresiva del riesgo a medida que disminuye la longitud de esta DAG. Esta tendencia fue especialmente marcada en el primer quintil (OR ajustada = 0.52; IC 95%: 0.26–1.01; p-valor = 0.010). (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis comparativo de las DAGs en el subgrupo de mujeres en situación de menopausia. OR para casos y controles de cáncer de mama según quintiles de las medidas de DAG, tomando el quinto quintil como referencia.

Casos de cáncer de mama (n=257)				vs.	Controles (n=206)	
	Casos	Controles	Odds Ratio ^a (95%CI)	p-valor	Odds Ratio ^b (95%CI)	p-valor
DAG_{AF}						
5° (38.4 mm)	54	26	1.0 (referencia)		1.0 (referencia)	
4° (32.1 mm)	51	36	0.69 (0.40-1.19)		0.75 (0.43-1.31)	
3° (28.4 mm)	45	41	0.88 (0.49-1.57)		1.15 (0.63-2.12)	
2° (25.3 mm)	51	59	1.13 (0.63-2.03)		1.32 (0.72-2.40)	
1° (21.5 mm)	55	44	1.66 (0.90-3.07)	0.063	2.08 (1.10-3.94)	0.025
DAG_{AC}						
5° (98.9 mm)	47	58	1.0 (referencia)		1.0 (referencia)	
4° (88.1 mm)	49	54	0.47 (0.24-0.91)		0.52 (0.26-1.01)	
3° (82.0 mm)	51	34	0.53 (0.27-1.04)		0.54 (0.27-1.09)	
2° (77.0 mm)	55	41	0.32 (0.17-0.61)		0.38 (0.20-0.74)	
1° (69.5 mm)	54	19	0.29 (0.15-0.55)	0.001	0.32 (0.16-0.61)	0.010

Nota: aOR no ajustada. bOR ajustada por edad e IMC. **DAG_{AF}**: Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la horquilla posterior. **DAG_{AC}**: Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la superficie anterior del clítoris. Los valores de las DAG en mm reflejan las medianas del intervalo.

En mujeres premenopáusicas, la asociación fue aún más pronunciada. Aquellas con DAGAC en el primer quintil presentaron una OR ajustada de 0.31 (IC 95%: 0.16–0.59; p-valor= 0.001), lo que sugiere un efecto protector más fuerte de una DAG más corta en etapas tempranas de la vida reproductiva (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis comparativo en situación de premenopausia. OR para casos y controles de cáncer de mama según quintiles de las medidas de DAG, tomando el quinto quintil como referencia.

	Cáncer de mama (n=169)			vs.	Controles (n=219)	
	Casos	Controles	Odds Ratio ^a (95%CI)	p-valor	Odds Ratio ^b (95%CI)	p-valor
DAG_{AF}						
5° (37.5 mm)	42	49	1.0 (reference)		1.0 (reference)	
4° (31.9 mm)	37	45	1.24 (0.61-2.50)		1.45 (0.69-3.04)	
3° (28.6 mm)	39	45	1.50 (0.79-2.86)		1.93 (0.98-3.82)	
2° (25.3 mm)	25	35	1.42 (0.74-2.73)		1.74 (0.87-3.45)	
1° (21.4 mm)	26	45	1.48 (0.79-2.80)	0.721	2.00 (1.00-4.00)	0.297
DAG_{AC}						
5° (99.0 mm)	25	40	1.0 (reference)		1.0 (reference)	
4° (88.5 mm)	26	41	0.35 (0.18-0.68)		0.39 (0.19-0.77)	
3° (83.0 mm)	31	54	0.36 (0.19-0.68)		0.37 (0.19-0.71)	
2° (77.0 mm)	25	49	0.32 (0.18-0.59)		0.33 (0.18-0.62)	
1° (69.2 mm)	62	35	0.29 (0.15-0.54)	<0.001	0.31 (0.16-0.59)	0.001

Nota: aOR no ajustada. bOR ajustada por edad e IMC. **DAGAF:** Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la horquilla posterior. **DAGAC:** Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la superficie anterior del clítoris.

En la figura 6 se muestra cómo las mujeres con una distancia anogenital clitoriana (DAGAC) más corta (Q1) presentan un menor riesgo de cáncer de mama en comparación con aquellas con DAGAC más larga.

La asociación es más pronunciada en mujeres premenopáusicas ($OR=0.31$), lo que sugiere el hecho de una menor DAGAC, un efecto protector más fuerte en este grupo.

En mujeres postmenopáusicas también se observa una reducción del riesgo ($OR= 0.52$), aunque menos marcada. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la DAGAC, como marcador de disrupción endocrina prenatal, podría estar relacionada con la susceptibilidad al cáncer de mama, especialmente en etapas más tempranas de la vida.

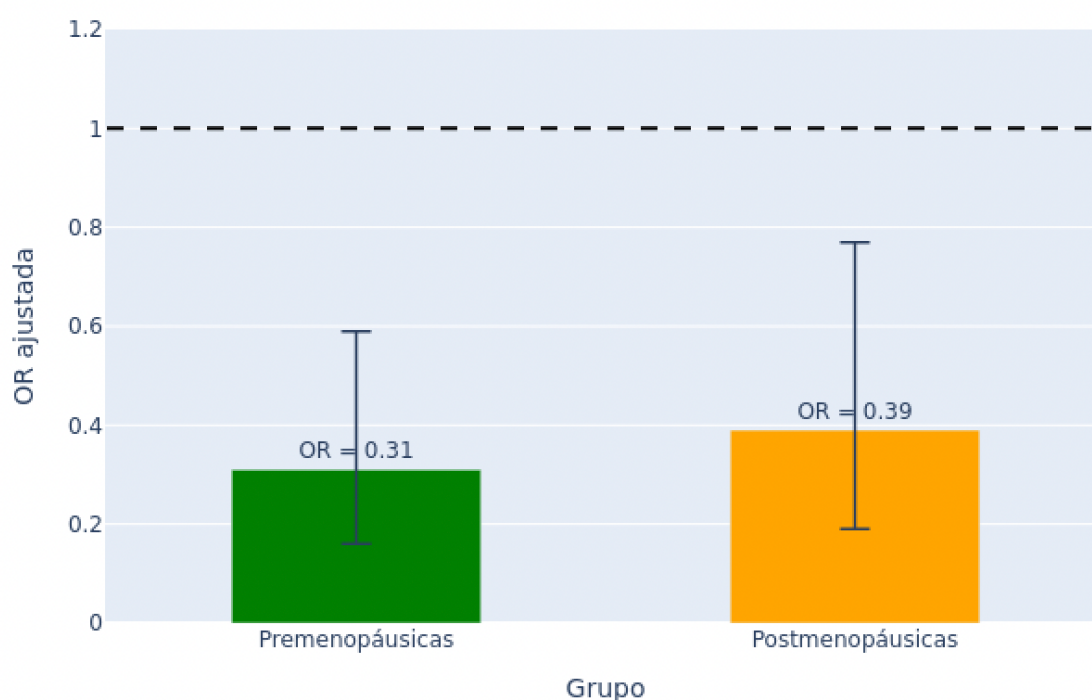


Figura 6. Odds Ratio ajustadas para el riesgo de cáncer de mama en mujeres con DAGAC en el primer quintil (Q1), estratificadas por estado menopáusico.

Nota: La línea gris representa el valor de referencia ($OR = 1$).

4.4 Análisis de las distancias DAGAF y DAGAC en los casos según subtipos de cáncer de mama

4.4.1. Distancia anogenital al fourchette (DAGAF), distancia anogenital corta:

Al analizar la DAGAF según el subtipo tumoral, se observó una variación leve entre los grupos. Las pacientes con el subtipo HER2-sobreexpresado presentaron la mayor media de DAGAF (29.5 mm), seguidas por Luminal A (28.8 mm) y Luminal B (28.6 mm). Por otro lado, las pacientes con tumores triple negativos presentaron la menor DAGAF (27.8 mm).

Cuando se agruparon según la presencia de receptor estrogénico (Luminal A, B y HER2+ vs HER2-sobreexpresado y triple negativo), las pacientes con receptores positivos presentaron una media ligeramente mayor de DAGAF (28.7 mm vs 28.4 mm), aunque las diferencias entre grupos fueron pequeñas y no consiguieron la significación estadística ($p=0.49$).

Tabla 7. Descripción de subtipos moleculares del cáncer de mama y medidas de DAG

Variables	n	%	Media DAG	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
DAG_{AF} medidas						
<i>Subtipos Cáncer Mama</i>						
Luminal A	143	33.9	28.8	6.8	16.1	48.3
Luminal B	164	38.9	28.6	5.8	12.7	44.6
Luminal HER2+	35	8.3	28.5	5.8	18.0	43.1
HER2- sobreexpresado	27	6.4	29.5	6.0	20.2	40.4
Triple-negativo	53	12.6	27.8	7.4	13.7	44.7
<i>Receptores hormonales</i>						
Luminal A, B y HER2+	341	80.8	28.7	6.3	12.7	48.3
HER-2 sobreexpresado y Triple Negativo	81	19.2	28.4	6.9	13.7	44.7

DAG_{AC} medidas

Subtipos Cáncer Mama

Luminal A	143	33.9	84.4	11.4	58.8	113
Luminal B	164	38.9	85.5	12.8	58.7	121
Luminal	35	8.3	87.7	13.0	64.2	121
HER2+						
HER2-	27	6.4	85.3	11.1	61.7	111
sobreexpresado						
Triple-negativo	53	12.6	83.6	14.5	44.6	121

Receptores hormonales

Luminal A, B y	341	80.8	85.3	12.3	58.7	120
HER2+						
HER-2	81	19.2	84.1	13.3	44.6	121
sobreexpresado. y						
Triple Negativo						

Nota: DAGAF: Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la horquilla posterior. DAGAC: Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la superficie anterior del clítoris.

4.4.2. Distancia anogenital al clítoris (DAGAC), distancia anogenital larga:

La distancia DAGAC fue más alta en el subtipo Luminal HER2+ (87.7 mm), seguido por Luminal B (85.5 mm) y Luminal A (84.4 mm).

Al igual que con DAGAF, las pacientes con cáncer de mama triple negativo presentaron la distancia más corta (83.6 mm). Las diferencias entre grupos sugieren una posible tendencia hacia una mayor DAGAC en tumores con expresión de receptores hormonales.

Agrupando por estado del receptor estrogénico, las pacientes con receptores positivos (Luminal A, B y Luminal HER2+) mostraron una media de DAGAC de 85.3 mm (DE: 12.3), mientras que las pacientes con tumores HER2-sobreexpresado y triple negativos tuvieron una media levemente inferior (84.1 mm; DE: 13.3).

En la Tabla 8 se presentan los resultados de la comparación entre las medidas de distancia anogenital (DAGAF y DAGAC) y los subtipos de cáncer de mama, así como entre grupos definidos por la presencia o ausencia de receptores estrogénicos.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la distancia anogenital (DAGAF ni DAGAC) entre los distintos subtipos de cáncer de mama. Los valores de p obtenidos para las comparaciones no ajustadas fueron de 0.82 para DAGAF y 0.59 para DAGAC. Tras ajustar por el índice de masa corporal (IMC), estos valores se mantuvieron sin significancia estadística (DAGAF: $p=0.85$; DAGAC: $p=0.49$).

De manera similar, al comparar a las pacientes con tumores con receptores estrogénicos positivos (Luminal A, B y Luminal HER2+) frente a aquellas con tumores HER2-sobreexpresado y triple negativo, no se encontraron diferencias significativas en las medidas de distancia anogenital. Los valores de p fueron de 0.69 para DAGAF y 0.45 para DAGAC en el análisis no ajustado, y de 0.79 y 0.49 respectivamente tras el ajuste por IMC.

Estos resultados indican que, en esta muestra, la distancia anogenital no mostró una asociación significativa con el subtipo tumoral ni con la expresión del receptor estrogénico, incluso después de ser ajustados por el índice de masa corporal (IMC).

Tabla 8. Análisis comparativo de los subtipos moleculares del cáncer de mama y las DAG

	Frecuencia		DAG _{AF}		DAG _{AC}	
	n	%	No	Ajustada	No	Ajustada
			Ajustada	por IMC	ajustada	por IMC
			P-valor	P-valor	P-valor	P-valor
<i>Subtipos de cáncer</i>			0.82	0.85	0.59	0.49
Luminal A	143	33.9				
Luminal B	164	38.9				
Luminal HER2-+	35	8.3				
HER2-	27	6.4				
sobreexpresado						
Triple-negativo	53	12.6				
<i>Receptores Hormonales</i>						
Luminal A, B y	341	80.8	0.69	0.79	0.45	0.49
HER2+						
HER-2	81	19.2				
sobreexpresado. y						
Triple Negativo						

Nota: DAGAF: Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la horquilla posterior. DAGAC: Distancia anogenital desde el borde superior del ano hasta la superficie anterior del clítoris. IMC: Índice de masa corporal. **Prueba de comparación:** Prueba t de Student y ANCOVA.

4.5 Perfil molecular analizado a través del Oncotype® y relación con la DAG

Una de las variables analizadas en el estudio ha sido el perfil molecular analizado a través de la plataforma genómica Oncotype®. La selección de las pacientes en las que se analizó este perfil a través de la plataforma ha sido a través de la práctica clínica habitual. Es decir, pacientes con fenotipo Luminal A y Luminal B donde se requería conocer el resultado de ese Oncotype® para adecuada toma de decisiones con respecto al uso de tratamiento adyuvante.

El resultado de dicha prueba fue expresado en Recurrence Score (RS) y posteriormente clasificado en Bajo riesgo o Alto riesgo. Según lo expuesto en la tabla 9, se evidencia cómo de los 81 estudios analizados en nuestra muestra, 31 corresponden a pacientes diagnosticadas de cáncer de mama con un fenotipo Luminal A y 50 correspondientes al fenotipo Luminal B.

Tabla 9. Resultados Oncotype® según subtipo cáncer de mama.

Resultado Oncotype®	Bajo Riesgo		Alto Riesgo	
	n	%	n	%
<i>Subtipos Cáncer de mama</i>				
Luminal A	29	41.4	2	18.2
Luminal B	41	58.6	9	81.8

En la tabla 10 se puede observar la mediana de distancia anogenital y su desviación estándar en las versiones corta y larga (DAGAC y DAGAF) en función de los resultados obtenidos del riesgo según Oncotype® así como la significación de dichas diferencias.

Tabla 10. Resultados DAG según resultado clasificación de riesgo por Oncotype®.

	Bajo Riesgo		Alto Riesgo		P-valor
	Media	DE	Media	DE	
Distancia anogenital corta (DAG_{AF}) (mm)	86.4	11.8	88.7	13.7	0.863
Distancia Anogenital larga (DAG_{AC}) (mm)	28.4	6.6	28.24	3.6	0.416

Nota: DE: Desviación estándar

5. Discusión

5.1. Resumen de los hallazgos

En este estudio se ha analizado las distancias anogenitales en mujeres como posible marcador indirecto del entorno hormonal prenatal y su asociación con el cáncer de mama. Para ello, se incluyó un total de 422 mujeres con diagnóstico reciente de cáncer de mama y 417 mujeres sanas como grupo control, todas atendidas en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca entre enero de 2022 y junio de 2024.

La evaluación de las pacientes incluyó la medición de dos distancias anogenitales: una distancia anogenital corta, la distancia desde el ano hasta la horquilla posterior (DAGAF) y otra distancia anogenital larga, desde el ano hasta la superficie anterior del clítoris (DAGAC).

Un elemento a destacar es el hecho de que se establecieron como criterios de exclusión a pacientes en tratamiento corticoideo crónico o con uso activo de anticonceptivos. Si bien el total de las pacientes excluidas por estos motivos no es elevado (N=6 casos y N=12 controles), es importante exponerlo. Si bien existen dudas acerca de la influencia de determinados anticonceptivos hormonales y su influencia en diferentes tipos de cáncer de mama (Zolfaroli I et al, 2018), se decidió excluir a estas pacientes por precaución metodológica, dado que los anticonceptivos hormonales pueden alterar el equilibrio estrogénico-progestagénico y, potencialmente, influir en medidas sensibles al entorno hormonal.

Asimismo, se excluyeron pacientes en tratamiento con corticosteroides debido a su capacidad para modificar los niveles hormonales endógenos, como ocurre en patologías como la hiperplasia suprarrenal congénita, donde se emplean para contrarrestar el hiperandrogenismo. Estas exclusiones permiten asegurar que las variaciones observadas en las DAG estén menos influenciadas por factores exógenos y reflejen con mayor fidelidad el entorno hormonal prenatal y su posible relación con el desarrollo de cáncer de mama.

Con todo ello, los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en ambas mediciones de distancia anogenital. Específicamente, las mujeres con cáncer de mama presentaron valores significativamente menores en la versión corta de la DAG, DAGAF (media de 28.6 mm vs 29.8 mm en controles; $p=0.02$) y significativamente mayores en su versión larga, DAGAC (media de 85.0 mm vs 81.2 mm en controles; $p<0.01$). (Tabla 2).

Estas diferencias se mantuvieron incluso después de ajustar por variables como edad e índice de masa corporal (IMC), factores que también resultaron ligeramente mayores (54 años vs 53 años, $p<0.01$ y 27,4 vs 26,2, $p<0.01$) de forma significativa en el grupo de los casos de cáncer de mama frente a los controles y que se han visto en la bibliografía elementos necesarios de ajustar en los análisis a realizar.

El análisis estratificado por estado menopáusico evidenció una asociación inversa entre la distancia anogenital clitoriana (DAGAC) y el riesgo de cáncer de mama, con una magnitud del efecto dependiente del estatus hormonal. En mujeres premenopáusicas, se observó una reducción significativa del riesgo en el quintil más corto de DAGAC (Q1), con una OR ajustada de 0.31 (IC 95%: 0.16–0.59; $p=0.001$), lo que sugiere una posible influencia protectora de una menor exposición hormonal prenatal en etapas tempranas de la vida reproductiva. En mujeres postmenopáusicas esta OR ajustada también se mantuvo significativa (OR ajustada=0.39; IC 95%: 0.15–0.54; $p=0.010$).

El análisis comparativo entre los distintos subtipos moleculares del cáncer de mama y las medidas de distancia anogenital no mostró diferencias estadísticamente significativas, ni en la distancia anogenital DAGAF ni en la DAGAC, tanto en modelos crudos como ajustados por índice de masa corporal ($p>0.4$ en todos los casos).

Las medias de DAGAC oscilaron entre 83.6 mm en el subtipo triple negativo y 87.7 mm en el subtipo Luminal HER2+, mientras que para DAGAF las medias se situaron entre 27.8 mm (triple negativo) y 29.5 mm (HER2 sobreexpresado). Aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística, desde una perspectiva fisiopatológica, es plausible que una programación hormonal prenatal alterada se manifieste en formas clínicas más precoces y potencialmente más agresivas. Esta hipótesis se ve reforzada por la mayor proporción de casos en edad premenopáusica con DAGAC más larga, lo que podría reflejar una mayor susceptibilidad biológica en contextos hormonales activos. Si bien no se ha evidenciado una asociación directa con el subtipo triple negativo, posiblemente debido al tamaño limitado de este subtipo tumoral en nuestra muestra (N=53), esta tendencia podría haber sido más evidente en análisis complementarios como el perfil genómico de riesgo interpretado a través del Recurrence Score.

En el subanálisis que incorporó este perfil de riesgo, el analizado a través del perfil genómico Oncotype®, se evaluó la posible asociación entre la distancia anogenital y el riesgo de recurrencia molecularmente estimado. De las 81 pacientes analizadas, clasificadas en subtipos Luminal A y B, el 13.6% presentó un perfil de alto riesgo. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las medidas de DAG entre los grupos de bajo y alto riesgo según el resultado de Oncotype®, ni para la distancia anogenital larga (DAGAC: 28.4 mm vs. 28.2 mm; $p=0.416$) ni para la distancia anogenital corta (DAGAF: 86.4 mm vs. 88.7 mm; $p=0.863$).

Si se parte de una base de mayor predisposición al cáncer por exposición hormonal intrauterina, es plausible que dicha susceptibilidad se manifieste en formas clínicas más precoces, en mujeres más jóvenes, en contextos hormonales activos como la premenopausia, y potencialmente con mayor agresividad tumoral.

Aunque en nuestra muestra no se evidenció una asociación clara con el subtipo triple negativo, muy posiblemente debido al tamaño limitado de la muestra, esta tendencia podría emerger con mayor claridad en cohortes más amplias o en análisis complementarios. En conjunto, estos hallazgos sugieren que la DAG, como marcador fenotípico, podría no discriminar entre subtipos moleculares establecidos, pero sí aportar valor en la identificación de patrones clínicos de susceptibilidad precoz, especialmente en mujeres con cáncer de mama en edad reproductiva.

5.2. Interpretación de resultados

Durante el desarrollo fetal temprano, los genitales externos se originan a partir de estructuras indiferenciadas comunes en ambos sexos: el tubérculo genital, los pliegues labioscrotales y el seno urogenital (Figura 7). Bajo la influencia de altos niveles de testosterona, los pliegues labioscrotales se fusionan para formar el escroto y el tubérculo genital se alarga y se convierte en el pene. En ausencia de testosterona elevada, como ocurre en el desarrollo femenino, los pliegues labioscrotales permanecen separados y forman los labios mayores, mientras que el tubérculo genital se desarrolla como clítoris (Figura 8). (Baskin L et al, 2018 y Ipulan-Colet LA et al, 2022).

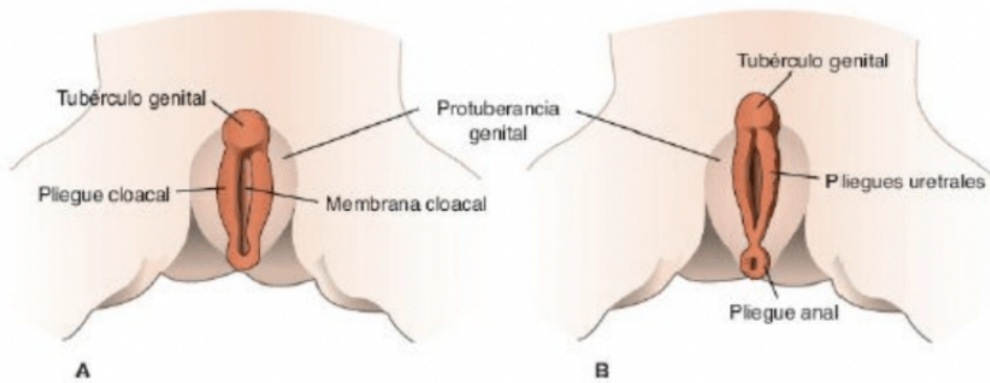


Figura 7. Genitales externos en la etapa de indiferenciación genital. *Adaptación de Lagman, 2019*

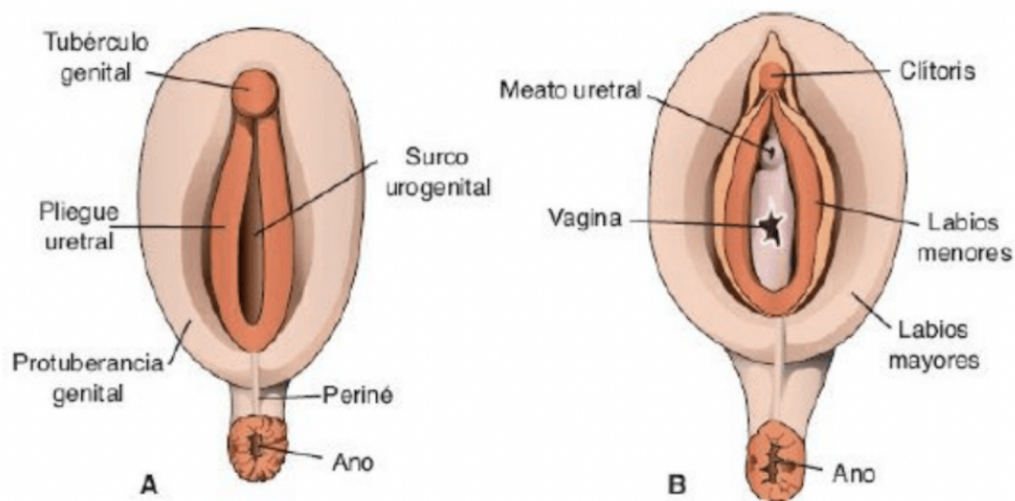


Figura 8. Genitales externos en su diferenciación hacia tubérculo genital femenino y aparato genital femenino. *Adaptación de Lagman, 2019.*

Los puntos temporales clave en el desarrollo fetal en los que se establecen las diferentes distancias anogenitales (DAG), específicamente la distancia del ano al clítoris (DAGAC) y del ano a la fusión posterior (DAGAF), corresponden a la llamada "ventana de programación de masculinización" (*masculinization programming window*) (Welsh M. et al, 2014), que en humanos ocurre aproximadamente entre las semanas 8 y 14 de gestación.

De forma más exacta, entre las semanas 8 y 18 de gestación en varones y entre 8 y 20 semanas en mujeres (Sharpe RM et al, 2020). Durante estos periodos, la acción de los andrógenos determina la diferenciación sexual de los genitales externos y fija las distancias anogenitales, que luego muestran solo cambios proporcionales al crecimiento fetal, pero no se ven significativamente modificadas por los niveles hormonales posteriores (Jain VG et al, 2022).

Los resultados de nuestro estudio muestran una DAGAC más alargada y una DAGAF más acortada en las mujeres con cáncer de mama que en el grupo control. Un aumento en la DAGAC indica una mayor separación entre el clítoris y el ano, lo que puede reflejar una masculinización parcial del tubérculo genital y, en consecuencia, de todo el órgano genital, simulando un patrón masculino. Por el contrario, una disminución en la DAGAF sugiere que la región posterior del periné no ha experimentado masculinización, o que existe una reorganización morfofuncional compleja, como ocurre en algunas diferencias del desarrollo sexual. Es decir, nos encontraríamos con una masculinización parcial del tubérculo genital (clítoris) con elongación de la distancia entre el clítoris y el ano, mientras que la región posterior del periné no habría experimentado masculinización significativa, consecuencia de la disrupción endocrina estrogénica.

El patrón anteriormente mencionado sugiere exposición a andrógenos durante la ventana crítica, suficiente para afectar el desarrollo anterior (tubérculo genital), pero insuficiente o ausente para masculinizar la región posterior (fusión labioscrotal). La importancia de la ventana crítica y la sensibilidad de las distancias anogenitales a la acción androgénica han sido ampliamente discutidas en la literatura, incluyendo los trabajos de Delbes (Delbes et al, 2022), y Skakkebaek (Skakkebaek NE et al, 2016) que subrayan el papel de la ventana de programación de masculinización en la programación de la morfología genital y la

susceptibilidad a alteraciones por exposiciones hormonales atípicas. Tales hallazgos podrían observarse en algunas diferencias del desarrollo sexual o en exposiciones parciales a andrógenos.

Si bien es cierto que la literatura previa a este respecto tiende a tratar a las DAGs como una única medida (Halici Ozturk F et al, 2023) de indicador de ambiente estrogénico o androgénico prenatal y no hace una diferenciación exhaustiva entre los dos tipos de medidas analizadas en este estudio (DAGAC y DAGAF). Nuevas revisiones están intentando pormenorizar este aspecto de las diferentes medidas de la DAG (Zamani Parisa et al, 2023) para profundizar en el conocimiento de las mismas y señalar aspectos diferenciales en el desarrollo y configuración de éstas.

La DAGAF más corta junto con una DAGAC más alargada ha sido observada en mujeres con hallazgos previamente descritos en otros trastornos ginecológicos como el prolapso de órganos pélvicos (POP) (Sanchez-Ferrer et al, 2016), y la atrofia vulvovaginal (Sanchez-Ferrer et al, 2019), en los cuales también se han documentado una asociación inversa entre el crecimiento de ambas distancias. En dichos contextos, se ha interpretado que una DAGAF más corta puede reflejar una menor exposición androgénica o una mayor exposición estrogénica en etapas tempranas del desarrollo fetal, lo que afectaría la diferenciación de las estructuras del periné posterior. No obstante, estos trastornos, al igual que el cáncer de mama, comparten un perfil hormonal estrogénico predominante en la vida adulta, lo que podría apuntar a una relación entre exposiciones hormonales fetales y susceptibilidad futura a patologías dependientes de esteroides sexuales en etapas diferentes a las comentadas durante esa ventana de programación de masculinización.

Esta aparente contradicción entre una DAGAF corta y una DAGAC larga ya ha sido descrita en otras condiciones como el prolapso de órganos pélvicos (POP), y sugiere que ambas mediciones, si bien reflejan dimensiones relacionadas del desarrollo genital, podrían estar moduladas por diferencias temporales o espaciales en la acción hormonal durante la gestación.

Sin embargo, en contraste, la DAGAC más larga observada en este mismo grupo sugiere simultáneamente una exposición aumentada a andrógenos prenatales, ya que esta medida ha sido positivamente asociada en estudios previos con condiciones hiperandrogénicas como el síndrome de ovario poliquístico (SOP) en países que han desarrollado estudios como España (Hernandez Penalver et al, 2016), Turquía (Simsier et al, 2019) y China (Wu et al, 2017).

En el caso de estos estudios se aprecian diferencias significativas en las medidas diferenciales para la DAGAC, pero no para la DAGAF en el caso del estudio español, y valores significativos de mayor elongación de las DAGAC y DAGAF en los casos de los estudios turcos y chinos.

Este patrón dissociado entre DAGAF y DAGAC refuerza a su vez la hipótesis de que una disrupción hormonal compleja, no exclusivamente androgénica ni estrogénica, durante el periodo crítico de diferenciación genital, podría tener un papel programador en la susceptibilidad a cáncer de mama (Macon MB et al, 2013). Es posible que esta disrupción no solo se limite a la cantidad de hormonas sexuales presentes, sino también a la sensibilidad tisular, la sincronía temporal en la exposición o incluso la interacción con disruptores endocrinos ambientales.

La situación de disrupción endocrina es aquella capaz de interferir con la función del sistema endocrino, alterando la síntesis, secreción, transporte, acción o eliminación de hormonas naturales, lo que puede provocar efectos adversos en la salud, incluyendo la

carcinogénesis mamaria (Calaf GM et al, 2020). Esta situación de disrupción endocrina se puede producir sobre múltiples vías hormonales (estrógenos, andrógenos, progesterona, prolactina, ejes tiroideos y factores de crecimiento), y su efecto, depende tanto del momento de la exposición como de la programación epigenética resultante, lo que puede modificar la expresión génica y la respuesta tisular a hormonas endógenas (Briskin C et al, 2015). Además, la sensibilidad tisular y la expresión de receptores hormonales en la glándula mamaria pueden ser alteradas de forma persistente, lo que amplifica el riesgo de transformación neoplásica ante exposiciones posteriores (Eve L et al, 2020).

La sincronía temporal es crítica: exposiciones durante periodos de diferenciación activa (por ejemplo, desarrollo fetal o pubertad) tienen efectos más pronunciados y duraderos que exposiciones en etapas adultas (Fenton SE et al, 2015). Finalmente, la interacción con disruptores ambientales, como bisfenol A, dioxinas y pesticidas, ha demostrado experimentalmente alterar la arquitectura mamaria, la señalización paracrina y la susceptibilidad a carcinógenos, incluso sin cambios detectables en los niveles circulantes de hormonas sexuales (Perrot-Applanat M et al, 2018).

Los resultados obtenidos en el presente estudio refuerzan la hipótesis de que las distancias anogenitales pueden constituir un marcador clínico no invasivo útil para predecir el riesgo de desarrollar cáncer de mama ante la evidencia de los resultados expuestos entre los dos grupos de comparación. De hecho, en nuestra muestra, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de pacientes con cáncer de mama y control, con valores tanto de DAGAC y DAGAF diferenciales para las pacientes con diagnóstico oncológico, lo que sugiere una situación disruptiva prenatal relacionada con una posible exposición aumentada a andrógenos en esta etapa.

En nuestra muestra, al estratificar los datos según quintiles de distancia anogenital, se observó una tendencia clara entre la DAGAC y el riesgo de cáncer de mama. Las mujeres en los quintiles más altos de DAGAC presentaron una mayor probabilidad de ser casos de cáncer de mama en comparación con aquellas en el quintil más bajo (Tabla 3). Esta asociación persistió tras ajustes sucesivos por edad e IMC, con una tendencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$).

Tal y como expone la literatura, las características ideales que debe tener una herramienta de cribado para el cáncer incluyen: ser no invasiva, fácil de usar, económica, con alta sensibilidad y especificidad, segura, accesible y aceptable para la población objetivo (Grady WM et al, 2025). Las diferencias encontradas en las poblaciones a estudio, junto con la facilidad de realizar las mediciones, potencia la posibilidad de que esta medida no invasiva pueda ser utilizada en un futuro por parte de sanitarios para establecer un sistema de gradación de riesgo que permitiera establecer un cribado más específico en función del riesgo aumentado.

En el caso de la distancia corta, la DAGAF, la asociación fue menos consistente, aunque el análisis ajustado también mostró una tendencia significativa ($p = 0.01$), donde una DAGAF más corta se asoció a una mayor posibilidad de estar en los casos de cáncer de mama, sugiriendo un posible papel complementario de esta medida.

En cuanto a la relación entre las distancias anogenitales y los subtipos moleculares del cáncer de mama, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas ni para DAGAF ni para DAGAC. Si bien las pacientes con tumores triple negativos tendieron a presentar medidas ligeramente inferiores en ambas distancias, estas diferencias no alcanzaron significación estadística ni en el análisis crudo ni tras el ajuste por IMC. Asimismo, al agrupar los casos según la presencia o ausencia de receptores estrogénicos, no se observaron diferencias relevantes en las medidas de distancia anogenital (Tabla 7).

En conjunto, estos hallazgos apoyan la hipótesis de que una situación de disrupción endocrina reflejada a través de una mayor distancia anogenital, especialmente evidenciada a través del aumento de la DAGAC, podría asociarse a un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama, posiblemente reflejando una exposición prenatal diferencial a andrógenos (entorno dirigido hacia la diferenciación masculina).

Los resultados de este estudio refuerzan, por ende, la hipótesis de que el aumento de la distancia anogenital clitoriana (DAGAC), como medida fenotípica de exposición hormonal prenatal, podría estar vinculada a una mayor susceptibilidad al cáncer de mama. Esta asociación se manifiesta de forma más evidente en mujeres premenopáusicas, lo que sugiere además que dicha predisposición podría traducirse en una aparición más temprana de la enfermedad, en contextos hormonales activos y potencialmente con características biológicas más agresivas.

Desde una perspectiva fisiopatológica, es razonable considerar que el incremento en la incidencia de cáncer con la edad responde al aumento acumulativo de replicaciones celulares, lo que conlleva a una mayor probabilidad de errores replicativos y fallos en los mecanismos de reparación (Risques RA et al, 2018). Sin embargo, en individuos con una programación hormonal prenatal alterada, este umbral de riesgo podría alcanzarse antes, generando un patrón clínico diferencial a través de la incidencia temprana de esta patología tumoral.

Aunque en nuestra muestra no se ha evidenciado una relación directa con subtipos de alto grado como el triple negativo, posiblemente debido al tamaño limitado de la muestra, sí se plantea la posibilidad de que esta tendencia pueda observarse en perfiles genómicos de mayor riesgo, como los definidos por el Recurrence Score del test Oncotype®.

La ausencia de diferencias significativas en las medidas de DAG entre los grupos de riesgo genómico no descarta esta hipótesis, sino que sugiere la necesidad de estudios con mayor potencia estadística para explorar la interacción entre programación hormonal prenatal y expresión génica tumoral.

No obstante, la ausencia de asociación con los subtipos tumorales sugiere que esta medida no permite discriminar entre características biológicas del tumor y por tanto se sustentarían en el hecho de que la disrupción del ambiente hormonal prenatal estaría asociada a una predisposición al desarrollo del cáncer independientemente del subtipo del mismo.

La ausencia de asociación significativa entre las distancias anogenitales y los subtipos moleculares del cáncer de mama refuerza la idea de que estas mediciones podrían actuar más como indicadores de susceptibilidad general al desarrollo del tumor que como marcadores de características biológicas específicas del mismo.

Tras el análisis diferencial según los resultados en base a la prueba genómica Oncotype®, los hallazgos sugieren que, en esta cohorte, la DAG tampoco se asocia con el perfil de riesgo genómico, lo que podría indicar que su valor predictivo se limita a contextos clínicos específicos y no se correlaciona directamente con la expresión génica tumoral evaluada por dicho test.

En definitiva, estos hallazgos abren una vía para considerar la DAG, y en particular el patrón combinado DAGAF/DAGAC, como posible marcador retrospectivo de programación hormonal intrauterina con valor pronóstico en salud mamaria. Futuros estudios deberán explorar esta relación en profundidad, considerando modelos animales, cohortes longitudinales y la interacción con factores ambientales.

5.3. Implicaciones clínicas y biomarcador de riesgo

En nuestro caso, la hipótesis propuesta, el hecho de que una mayor DAG podría relacionarse con un riesgo elevado de cáncer de mama, a pesar de encontrar respaldo indirecto en la literatura previa, este estudio es uno de los primeros que explora esta relación de manera específica. La DAG, al ser una medida estable en la vida adulta y un marcador confiable de la exposición hormonal intrauterina, ofrece una aproximación novedosa en la investigación etiológica del cáncer de mama.

Otra observación relevante fue la relación entre antecedentes obstétricos (como la episiotomía) y valores de DAG, lo que se alinea con estudios como el de Moya-Jiménez et al. (2018), que reportan una asociación inversa entre la DAGAC y la necesidad de episiotomía. Esto puede reflejar una susceptibilidad anatómica condicionada por el entorno hormonal prenatal.

A pesar de estos hallazgos prometedores, existen limitaciones a considerar. El carácter observacional del estudio impide establecer causalidad. Además, aunque se ajustaron modelos por IMC y otros factores de confusión, no se pudo controlar por todos los posibles determinantes hormonales postnatales. Del mismo modo, los puntos de corte de DAG utilizados no están aún estandarizados clínicamente, lo que limita la aplicabilidad inmediata de los resultados.

Asimismo, al estratificar los resultados según los subtipos moleculares del cáncer de mama, se observaron diferencias sugestivas en la DAG entre subtipos hormonodependientes (Luminal A, Luminal B) y no hormonodependientes (triple negativo, HER2-puro), aunque algunos de estos resultados deben interpretarse con cautela por el tamaño muestral limitado en algunos subgrupos, lo que justificaría la falta de significación estadística evidenciada.

Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que el entorno hormonal intrauterino podría desempeñar un papel en la programación del riesgo de cáncer de mama, y posicionan a la DAG como un posible biomarcador clínico, no invasivo y de bajo coste, con potencial utilidad en estrategias de detección precoz y estratificación del riesgo.

Esta situación sugiere una posible disrupción del entorno endocrino durante el desarrollo fetal. Esta disrupción se evidenciaría a través de la tendencia hacia un ambiente más androgénico en un periodo crítico del desarrollo embrionario. Si estos hallazgos se confirman en futuros estudios, podrían tener importantes implicaciones en la prevención del cáncer de mama, en la evaluación temprana del riesgo y en el desarrollo de nuevas herramientas epidemiológicas para el estudio de enfermedades hormonodependientes.

Se requieren estudios adicionales, preferentemente longitudinales y multicéntricos, que validen estos resultados y profundicen en los mecanismos biológicos subyacentes, incluyendo el papel de la epigenética y la interacción con factores ambientales postnatales.

5.4. Fortalezas del estudio

Una de las fortalezas metodológicas destacables del presente estudio es su diseño de caso-control, lo que permitió una comparación sistemática entre mujeres diagnosticadas con cáncer de mama y un grupo control bien caracterizado, sin antecedentes oncológicos y con características sociodemográficas y reproductivas similares.

Este tipo de diseño resulta especialmente útil en estudios etiológicos, ya que posibilita la evaluación de asociaciones entre exposiciones previas y la aparición de la enfermedad.

Asimismo, la medición de la distancia anogenital (DAG) se realizó mediante un protocolo antropométrico estandarizado, aplicado por personal previamente capacitado e instruido en la materia, lo que asegura la reproducibilidad y confiabilidad de las mediciones y minimiza los sesgos de recolección de información.

El hecho de una población total a estudio de más de 800 pacientes, con un adecuado balanceo entre los grupos a comparar (417 controles y 422 casos), potencia la representatividad de la muestra y la fiabilidad de los resultados y asociaciones detectadas.

Por otra parte, se incorporaron en el análisis estadístico ajustes por variables clave como la edad y el índice de masa corporal (IMC), ya que ambos factores se reconocen por la confusión potencial entre variables endocrinas y cáncer de mama (Yang Y et al, 2024).

Este enfoque riguroso en el diseño y análisis fortalece la validez interna del estudio y aporta evidencia robusta respecto a la asociación entre marcadores indirectos de exposición hormonal prenatal y el riesgo de desarrollar cáncer de mama en etapas posteriores de la vida.

5.5. Limitaciones del estudio

Entre las principales limitaciones del presente estudio, destaca su diseño transversal, ya que tanto los casos como los controles fueron reclutados durante el mismo periodo de tiempo, lo que permite estimar prevalencia, pero no incidencia, limitando así la capacidad de establecer relaciones temporales causales entre la exposición (medida indirecta del ambiente hormonal intrauterino) y el desarrollo de cáncer de mama.

De igual forma, la distancia anogenital (DAG) no fue medida al nacimiento, momento en que se considera más representativa del entorno hormonal prenatal, sino en la edad adulta, lo cual introduce la posibilidad de que esta medida haya sido modificada a lo largo del tiempo por factores postnatales como el índice de masa corporal, la paridad, o intervenciones ginecológicas. Si bien, esos elementos han sido destacados y estratificados a la hora de la recolección de los datos y se han comparado a la hora de los análisis diferenciales de los diferentes grupos estudiados con el objetivo de evitar sesgos.

Por último, el tamaño muestral, si bien adecuado para los análisis principales, resultó limitado para la realización de subanálisis según subtipos tumorales o riesgo evidenciado a través de plataforma genómica, lo que podría haber restringido la capacidad para detectar asociaciones significativas dentro de esos subtipos moleculares del cáncer de mama o de perfiles genómicos de mayor o menos riesgo.

5.6. Futuras líneas de investigación

Ante todo, lo anteriormente expuesto, futuras investigaciones deberían considerar el empleo de diseños longitudinales o cohortes de nacimiento que permitan medir la DAG en etapas tempranas de la vida, idealmente al nacer, con el fin de establecer con mayor precisión la dirección temporal de las asociaciones observadas y minimizar la influencia de factores adquiridos a lo largo del desarrollo postnatal.

Asimismo, se recomienda incorporar de forma sistemática información detallada sobre la historia hormonal de las participantes, incluyendo la edad de la menarquia, uso de anticonceptivos hormonales en etapas previas, terapias de reemplazo hormonal y edad de la menopausia, entre otros.

Esta información enriquecería los modelos analíticos y permitiría ajustar adecuadamente por posibles variables confusoras relacionadas con la exposición estrogénica a lo largo de la vida.

De forma paralela, se considera necesario impulsar estudios prospectivos que puedan confirmar la asociación entre DAG y riesgo de cáncer de mama, así como su valor como marcador biológico de exposición hormonal intrauterina. También resulta prioritario examinar esta asociación en poblaciones más diversas, incluyendo diferentes grupos étnicos y rangos etarios, para valorar la generalización de los hallazgos.

De igual forma, la investigación futura debería explorar la correlación entre la DAG y otros biomarcadores endocrinos medibles en líquidos biológicos como la sangre, como son los niveles circulantes de testosterona y estrógenos, con el objetivo de integrar marcadores anatómicos y bioquímicos en un modelo explicativo común.

Además, el desarrollo de estudios multicéntricos o con muestras ampliadas favorecería la potencia estadística necesaria para realizar subanálisis más finos por subtipos de cáncer de mama, permitiendo identificar patrones específicos en función del perfil molecular tumoral y de los receptores hormonales.

Por último, cabe resaltar que, si bien existen estudios que vinculan directamente una DAG aumentada con una disfunción reproductiva o una mayor actividad androgénica, la relación específica con el desarrollo de cáncer de mama requiere mayor investigación longitudinal y estudios multicéntricos que incorporen biomarcadores adicionales como, por ejemplo, niveles hormonales neonatales o exposiciones ambientales específicas.

Estos nuevos estudios referidos contribuirían a robustecer la evidencia y a esclarecer de manera más precisa el papel que podrían tener los marcadores antropométricos de exposición hormonal prenatal en la etiopatogenia del cáncer de mama.

Finalmente, resulta de especial interés extender el estudio del papel de la DAG a otros cánceres hormono-dependientes, como el cáncer de ovario o de endometrio, dado que todos comparten una potencial sensibilidad al ambiente hormonal prenatal, lo que podría aportar una visión más amplia del valor de este marcador como indicador de susceptibilidad oncológica ligada al desarrollo temprano.

6. Conclusiones

Nuestros resultados aportan la primera evidencia de la existencia de una asociación entre la distancia anogenital, como biomarcador del entorno hormonal intrauterino, y el riesgo de desarrollar cáncer de mama en mujeres adultas.

Dichas conclusiones son:

1. La distancia anogenital, DAG, como marcador indirecto del entorno hormonal prenatal, se asocia significativamente con el riesgo de cáncer de mama en mujeres adultas. Las mujeres con cáncer de mama presentaron una DAGAC (ano-clítoris) significativamente mayor que las mujeres del grupo control y una DAGAF (ano-fourchette) significativamente menor, incluso tras ajustar por edad e índice de masa corporal.
2. El análisis por quintiles de la DAGAC mostró un gradiente inverso de riesgo, con una reducción progresiva del riesgo de cáncer de mama a medida que disminuye la longitud de esta DAG. Esta asociación fue más pronunciada en mujeres premenopáusicas, lo que sugiere una posible mayor susceptibilidad en etapas tempranas de la vida reproductiva.
3. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las medidas de DAG entre los distintos subtipos moleculares del cáncer de mama, aunque se identificó una tendencia hacia una mayor DAGAC en tumores con receptores hormonales positivos. Esto podría indicar una relación más general entre la DAG y la susceptibilidad al cáncer de mama, independientemente del subtipo histológico.
4. No se encontraron diferencias significativas en las medidas de DAG según el perfil genómico de riesgo (Oncotype®), lo que sugiere que la DAG podría estar más relacionada con la aparición del cáncer que con su agresividad o pronóstico molecular.

7. Anexos

Anexo I. Aprobación Comité de Ética



Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca

CERTIFICA

Que el CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 22/12/2020, acta 11/2020 ha evaluado la propuesta de la investigadora **Dra. María Luisa Sánchez Ferrer** referida al estudio:

Título: Marcadores antropométricos y epigenéticos del ambiente hormonal prenatal y su relación con el riesgo y pronóstico de cáncer de mama

Código Interno: 2020-11-2-HCUVA

Versión Protocolo Evaluada: 1, 24/09/2020

Versión Hoja Información al Paciente Evaluada: GENERAL / 1, 22/09/2020

Fecha Entrada: 12/11/2020

1º. Considera que

- El ensayo se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEIm emite un **DICTAMEN FAVORABLE** y acepta que dicho estudio sea realizado por la **Dra. María Luisa Sánchez Ferrer** como investigadora principal en el *Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca*.

Lo que firmo en Murcia, a 22 de diciembre de 2020

Fdo:

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIm Hospital Virgen de la Arrixaca



Anexo II. Hoja de información y consentimiento informado de participación en el estudio



HOJA DE INFORMACIÓN PARA PARTICIPANTES EN ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN CON MUESTRAS

Título del estudio: Marcadores antropométricos y epigenéticos del ambiente hormonal prenatal y su relación con el riesgo y pronóstico de cáncer de mama.

Investigador Principal, servicio/unidad y centro: M^a Luisa Sánchez Ferrer. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca

Promotor/financiador: Servicio de Obstetricia y Ginecología Hospital Clínico Univ. Virgen Arrixaca

Nº de versión y fecha: versión 1, 22/09/2020

INTRODUCCIÓN

Considerando su proceso de diagnóstico de cáncer de mama nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. Nuestra intención es que reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Antes de decidir si quiere participar o no, le rogamos lea detenidamente este documento que incluye la información sobre este proyecto. Puede formular todas las preguntas que le surjan y solicitar cualquier aclaración sobre cualquier aspecto del mismo. Nosotros le aclararemos las dudas que puedan surgir en cualquier momento. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

El proyecto cuenta con el informe favorable de un Comité de Ética de la Investigación acreditado en España.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

PROPÓSITO Y PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO:

El objetivo de esta propuesta es evaluar la relación de diferentes valores antropométricos y epigenéticos en el desarrollo y pronóstico de cáncer. Para ello se le invitará a participar de una consulta clínica donde se le tomarán una serie de medidas así como responderá a una serie de cuestiones sobre su salud. Se estima conseguir una muestra de 300-400 participantes.

Los procedimientos a realizar incluirán: medición de distancia ano-genital, información sobre estudio y realización de cuestionario dirigido por investigador. Se intentará realizar durante sus visitas programadas al hospital (en caso de no ser posible, se esto a que sólo será necesario que acudan 1 ó 2 veces fuera de sus citas normales, fuera del estudio).

PROCEDIMIENTOS DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS, MOLESTIAS Y POSIBLES RIESGOS:

Algunas de las muestras se obtienen durante el seguimiento habitual de su enfermedad o proceso; otras son solicitadas porque son necesarias para cumplir con los objetivos de este estudio. A continuación le explicamos

Área I Murcia Oeste
Carretera Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar. 30120-Murcia
T: 968 369 500

cuáles son y los riesgos asociados a los procedimientos utilizados para su obtención. Durante su proceso, el cáncer de mama usted va a ser operada extirpándose este tumor. Se cogerá una muestra de éste para hacer el estudio anatomopatológico habitual que se hace en la práctica clínica. La diferencia está en que una pequeña parte se utilizará para realizar otras pruebas que habitualmente no se hacen, pero sí en el contexto de esta investigación: son la determinación de los receptores de andrógenos y otros biomarcadores pronósticos, así como estudios epigenéticos. Se guardarán muestras biológicas en el biobanco para estudios posteriores (4-5 ml orina para medir exposición a disruptores endocrinos, 2-3 ml de sangre y muestras del tumor y de tejido sano de al lado del tumor para explorar mecanismos epigenéticos).

La obtención de muestras biológicas con fines de investigación biomédica podrá realizarse únicamente cuando se haya obtenido previamente el consentimiento escrito del sujeto fuente y previa información de las consecuencias y los riesgos que pueda suponer tal obtención (de la muestra) para la salud según la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica, artículo 58.

Si la realización de la prueba diagnóstica no corresponde a la práctica clínica, debe explicarse que, en cumplimiento de lo previsto en el art. 18 de la Ley de Investigación Biomédica 14/2007, el estudio estará cubierto por un seguro específico (especificar compañía y póliza).

Las muestras y los datos asociados se mantendrán bajo las condiciones de seguridad adecuadas y se garantiza que los sujetos no podrán ser identificados a través de medios considerados razonables por personas distintas a las autorizadas.

Es posible que sea necesario algún dato o muestras adicionales. En ese caso, su médico se pondrá en contacto con usted para solicitarle de nuevo su colaboración. Se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento (ver opción sí/no al final de la hoja).

BENEFICIOS ESPERADOS:

No se espera un beneficio directo por su participación en el estudio. No obstante, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de sus muestras y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas. No percibirá ningún beneficio económico por la donación de las muestras y la cesión de los datos proporcionados, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación efectuada.

El presente proyecto respeta los principios establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial y en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina. El manejo de muestras biológicas sigue lo dispuesto en la Ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica. Este estudio no supone un riesgo fuera del habitual con respecto a los procedimientos de pruebas diagnósticas rutinarias. Cambios en estilos de vida y dieta saludables durante el embarazo podrían ayudar a disminuir la carga de compuestos químicos ambientales en este periodo de crecimiento crítico para el feto que puede tener importantes repercusiones en la vida posnatal y adulta. Por lo tanto, creemos que nuestros resultados ayudarán sustancialmente a crear nuevos protocolos y guías de práctica clínica destinadas a mejorar la salud materna e infantil. Este estudio propuesto podría proporcionar información valiosa para apoyar y enriquecer el conocimiento científico entre los profesionales de la salud para conocer el problema, identificar las exposiciones e informar y asesorar a la población. Esto ayudará a las mujeres embarazadas a tomar decisiones óptimas para ellas y sus hijos. Las pruebas realizadas no suponen ningún tipo de riesgo para usted, pues se siguen guías ya publicadas al respecto

LUGAR DE ANÁLISIS Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS:

Durante el desarrollo del estudio sus muestras pueden ser analizadas en diversos laboratorios y se mantendrán almacenadas durante 2 años, en previsión de que fuera necesario repetir algún análisis adicional relacionado con los objetivos del estudio. Durante este proceso el responsable de las muestras será el investigador/promotor del proyecto.

INFORMACIÓN SOBRE EL DESTINO DE LAS MUESTRAS Y USO FUTURO

Una vez finalizado el estudio, las muestras sobrantes serán destruidas, a no ser que usted consienta para que puedan ser almacenadas y utilizadas en futuras investigaciones. La finalidad del almacenamiento de estas muestras es que sean utilizadas en proyectos de investigación en el futuro.

Destino de la muestra al término de la investigación:

1. Opción (A) de biobanco registrado en España:

Las muestras se almacenarán en el Biobanco del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria “Virgen de la Arrixaca” (IMIB-Arrixaca). El Biobanco en Red de la Región de Murcia (BIOBANC-MUR) es un biobanco autorizado desde el 1 de octubre de 2013 e inscrito en el Registro Nacional de Biobancos con el número B.0000859. Desde allí se cederán para proyectos autorizados, posiblemente también en el extranjero, previo dictamen favorable del comité científico y del comité de Ética del Biobanco. Usted podrá dirigirse al biobanco para obtener información de los proyectos en los que se hayan utilizado sus muestras.

Los datos que se deriven de la utilización de estas muestras en futuras investigaciones se tratarán del mismo modo que el resto de datos que se obtengan durante este estudio (ver apartado de confidencialidad).

DERECHO DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Si cambiara de opinión en relación con la donación de las muestras biológicas y la cesión de los datos proporcionados, tiene derecho a solicitar su destrucción o anonimización, a través de su médico/investigador/investigador principal de la colección/ biobanco. No obstante, debe saber que los datos que se hayan obtenido en los análisis realizados hasta ese momento podrán ser utilizados para los fines solicitados y podrán conservarse en cumplimiento de las obligaciones legales correspondientes.

CONFIDENCIALIDAD/PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES:

Sus muestras estarán (asociadas a un código (codificadas) o anonimizadas). Es decir que no se podrá saber que son suyas, salvo el equipo de investigador que sí podrá relacionar la información derivada de los análisis realizados con información sobre su identidad.

A este estudio les son plenamente de aplicación la Ley Orgánica 3/2018 de 5 de diciembre, de Protección de datos de carácter Personal y garantía de los derechos digitales y el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD). Por ello, es importante que conozca la siguiente información:

- Sus datos personales serán tratados con la finalidad indicada en el documento objeto de firma y serán conservados durante los años necesarios para cumplir con la normativa vigente aplicable.

Área I Murcia Oeste
Carretera Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar. 30120-Murcia
T: 968 369 500

- El Responsable del Tratamiento es el Hospital Clínico Universitario "Virgen de la Arrixaca" (Área I de Salud-Murcia/Oeste), cuyo **Delegada de Protección de Datos (DPD)** es Doña **Elena García Quiñones** con dirección en Servicio Murciano de Salud, C./ Central nº 7, Edificio Habitamia I, 30100, Espinardo-Murcia (correo electrónico: **dpd-sms@carm.es**).
- La base jurídica que legitima el tratamiento es su consentimiento
- Normativa aplicable: *Reglamento (UE) n 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, sobre los ensayos clínicos de medicamentos de uso humano, y por el que se deroga la Directiva 2001/20/CE; Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y Garantía de los Derechos Digitales, Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica; Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios; Ley 44/ Ley 44/2003, de 21 de noviembre, de ordenación de las profesiones sanitarias, así como la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, de autonomía del paciente, y demás legislación vigente en materia sanitaria.*
- Sus datos no serán cedidos, salvo en los casos obligados por Ley o en casos de urgencia médica. No obstante, en todo momento podrá revocar el consentimiento prestado, así como ejercer sus derechos de **acceso, rectificación, supresión, oposición, limitación del tratamiento y portabilidad**, en la medida que sean aplicables, a través de comunicación escrita al Responsable del Tratamiento de la siguiente manera **concretando su solicitud, junto con su DNI o documento equivalente**:
 - **Investigador Principal del estudio:** María Luisa Sánchez Ferrer
 - **Domicilio:** Hospital Clínico Universitario "Virgen de la Arrixaca", Ctra. Murcia-Cartagena s/n, CP 30120, El Palmar-Murcia,
- Asimismo, le informamos de la posibilidad de presentar una reclamación ante la Agencia Española de Protección de Datos (C/Jorge Juan, 6 Madrid 28001) www.agpd.es

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, Autoridades Sanitarias en materia de inspección, al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, de manera que no se incluya información que pueda identificarle, y sólo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica.

A partir de dichos datos se podrán elaborar comunicaciones científicas para ser presentadas a congresos o revistas científicas siempre manteniendo en todo momento la confidencialidad de sus datos de carácter personal.

Se le informa que de conformidad a lo previsto en la Disposición adicional decimoséptima de la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y garantía de los derechos digitales, así como del artículo 89 del Reglamento (UE) 2016/679, en el caso que con sus datos se lleve a cabo un tratamiento con fines de investigación en salud pública y, en particular, biomédica se procederá a:

Área I Murcia Oeste
Carretera Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar. 30120-Murcia
T: 968 369 500

- Realizar una evaluación de impacto que determine los riesgos derivados del tratamiento en los supuestos previstos en el artículo 35 del Reglamento (UE) 2016/679 o en los establecidos por la autoridad de control. Esta evaluación incluirá de modo específico los riesgos de reidentificación vinculados a la anonimización o seudonimización de los datos.
- Someter la investigación científica a las normas de calidad y, en su caso, a las directrices internacionales sobre buena práctica clínica.
- Adoptar, en su caso, medidas dirigidas a garantizar que los investigadores no acceden a datos de identificación de los interesados. En el supuesto de que no pueda garantizarse esta separación entre los datos y el investigador, se le garantiza un compromiso expreso de confidencialidad por parte del investigador así como de no realizar ninguna actividad de reidentificación. Se adoptarán medidas de seguridad específicas para evitar la reidentificación y el acceso de terceros no autorizados.

IMPLICACIONES DE LA INFORMACIÓN OBTENIDA AL ANALIZAR LOS DATOS

En el caso de que usted lo solicite, se le podrá facilitar información acerca de los estudios de investigación en los que se hayan utilizado sus datos, así como de los resultados generales del presente estudio.

En el caso de que en este estudio se obtengan datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted, e interesar a su salud o a la de su familia, podrá solicitar que le sean comunicados por su médico del ensayo si así lo indica en la casilla que aparece al final de este documento. No obstante, si el paciente hubiera indicado su negativa y cuando esta información, según criterio del médico responsable, sea necesaria para evitar un grave perjuicio para su salud o la de sus familiares biológicos, se informará a un familiar próximo o a un representante, previa consulta al Comité de Ética Asistencial del centro. La comunicación de esta información se llevará a cabo por profesionales que le podrán explicar adecuadamente su relevancia y las opciones que se pudieran plantear. En caso de información genética clínicamente relevante podrá recibir el preceptivo consejo genético.

En el caso de donante menor de edad, llegada la mayoría de edad tendrá derecho a recibir esta información y a la revocación del consentimiento. En caso de que no lo ejerza, se considerará que el actual documento sigue vigente.

Hable con su médico sobre la posibilidad de que pueda establecer restricciones para que su muestra biológica no sea utilizada en determinadas investigaciones

INVESTIGACIONES FUTURAS

Autorizo la posible reutilización de datos personales con fines de investigación en materia de salud y biomédica para finalidades o áreas de investigación relacionadas con este estudio.

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del proyecto: Marcadores antropométricos y epigenéticos del ambiente hormonal prenatal y su relación con el riesgo y pronóstico de cáncer de mama.

Investigador Principal, servicio/unidad y centro: María Luisa Sánchez Ferrer. Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital Clínico Universitario "Virgen de la Arrixaca".

Promotor/financiador (si aplica): Servicio de Obstetricia y Ginecología Hospital Clínico Univ.Virgen Arrixaca

Datos del participante/paciente

Nombre

Investigador o persona que proporciona la información

Nombre

1. He leído, he sido informado y comprendo el contenido de la presente hoja de Información, lo que acredito con mi firma en prueba de mi consentimiento en todo lo que en ella se contiene.
2. Entiendo que mi participación es voluntaria y gratuita y comprendo que puedo solicitar la revocación de este consentimiento en cualquier momento, sin tener que ofrecer explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos presentes y/o futuros.
2. Deseo que el médico del estudio me comunique la información derivada de la investigación (no genética) que pueda ser relevante y aplicable para mi salud o la de mis familiares:
☐ SI ☐ NO Teléfono o e-mail de contacto.....
3. Consiento al almacenamiento y uso de las muestras biológicas sobrantes y de los datos asociados para futuras investigaciones en las condiciones explicadas en esta hoja de información.
☐ SI ☐ NO
4. Consiento a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales.
☐ SI ☐ NO Teléfono o e-mail de contacto.....

Fecha:

Firma del Participante/paciente

Fecha:

Firma del Investigador o persona que proporciona la información

Área I Murcia Oeste
Carretera Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar. 30120-Murcia
T: 968 369 500

TT_001_00

6/7



REVOCACION DEL CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña..... revoco el consentimiento prestado en fecha y no deseo continuar participando en el estudio "Marcadores antropométricos y epigenéticos del ambiente hormonal prenatal y su relación con el riesgo y pronóstico de cáncer de mama".

Firma del paciente:

Firma del investigador: Fecha: Fecha

Anexo III. Cuestionario inicial de inclusión paciente

Variable	Descripción / Categorías
3.1.1 Edad (años)	Edad cronológica de la participante en años completos.
3.1.2 Índice de masa corporal [IMC] (kg/m ²)	Cálculo: peso (kg) / (altura en m) ² .
3.1.3 Distancia Anogenital [DAG] (mm)	Medida en milímetros. 1. DAG Ano-clítoris (DAGAC) 2. DAG Ano-fourchette (DAGAF)
3.1.4 Cesárea previa	☐ Sí ☐ No
3.1.5 Episiotomía previa	☐ Sí ☐ No
3.1.6 Premenopáusica / Postmenopáusica	☐ Premenopáusica ☐ Postmenopáusica
3.1.7 Paridad	Número de partos previos: ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 o más
3.1.8 Uso de corticoterapia crónica	☐ Sí ☐ No
3.1.9 Presencia de patología endocrina concomitante	☐ Sí ☐ No
3.1.10 Uso actual de terapia hormonal anticonceptiva	☐ Sí ☐ No

Anexo IV. Cuestionario de recogida de datos (CRD)

Variable	Valor	Codificación
NHC	Numérico	Numérico
Edad (años)	Edad cronológica	Numérico
Índice de masa corporal [IMC] (kg/m ²)	Peso / (altura) ²	Numérico
DAG Ano-clitoris (DAGAC)	Medida en mm	Numérico
DAG Ano-fourchette (DAGAF)	Medida en mm	Numérico
Cesárea previa	Sí / No	1 = Sí, 0 = No
Episiotomía previa	Sí / No	1 = Sí, 0 = No
Premenopáusica / Postmenopáusica	Premenopáusica / Postmenopáusica	1 = Premenopáusica, 2 = Postmenopáusica
Paridad	0 / 1 / 2 / 3 o más	0 = 0, 1 = 1, 2 = 2, 3 = 3 o más
Uso de corticoterapia crónica	Sí / No	1 = Sí, 0 = No
Presencia de patología endocrina concomitante	Sí / No	1 = Sí, 0 = No
Uso actual de terapia hormonal anticonceptiva	Sí / No	1 = Sí, 0 = No
Datos relacionados con patología tumoral (solo casos)		
Variable	Valor	Codificación
Fecha diagnóstica de cáncer	Fecha	Fecha
Subtipo histológico	Texto libre	Texto
Receptor de estrógenos (%)	Porcentaje	Numérico
Receptor de progesterona (%)	Porcentaje	Numérico
Ki67 (%)	Porcentaje	Numérico
Her 2	+ / ++ / +++	1 = +, 2 = ++, 3 = +++
FISH	Sí / No	1 = Sí, 0 = No
FISH resultado	Positivo / Negativo	1 = Positivo, 0 = Negativo
Subtipo molecular	Luminal A / Luminal B / Triple Negativo / Her 2 sobreexpresado / Her 2 puro	1 = Luminal A, 2 = Luminal B, 3 = Triple Negativo, 4 = Her 2 sobreexpresado, 5 = Her 2 puro
Realización de plataforma genómica	Sí / No	1 = Sí, 0 = No
Oncotype® según Recurrence Score	Valor numérico	Alto riesgo =1, Bajo riesgo=0

Anexo V. Modelo petición test Oncotype® en práctica clínica habitual

Servicios/Unidades Oncología Médica de Hospitales CARM (Hospital Santa Lucía, Hospital Virgen de la Arrixaca, Hospital Morales Meseguer)
Junio-2023

MODELO DE PETICIÓN DE ONCOTYPE DX PARA EL CÁNCER DE MAMA

DATOS DE LA PACIENTE (etiqueta)

DATOS DEL MÉDICO

Nombre y apellidos:

Nº colegiado:

Teléfono de contacto:

Servicio o Unidad:

Centro hospitalario:

CRITERIOS CLÍNICOS BÁSICOS: (debe cumplir todos los criterios)

- ☐ Carcinoma infiltrante de mama
- ☐ Edad < 75 años
- ☐ No comorbilidad grave que genere expectativa de vida inferior a 5 años o contraindicación para quimioterapia
- ☐ ECOG 0-1
- ☐ Cirugía completa (pieza quirúrgica) o indicación de cirugía (BAG)
- ☐ Receptores de estrógenos positivos ($\geq 10\%$) y HER2 negativo
- ☐ Al menos uno de los siguientes criterios sobre el estadio N (TNM):
 - ☐ N0 en paciente pre- o postmenopáusicas
 - ☐ N1mic o N1 (1-3 ganglios positivos) en postmenopáusicas

CRITERIOS DE RIESGO PARA ESTADIOS N0 (presente al menos uno de los siguientes criterios en las pacientes con tumores N0)

- ☐ Edad menor o igual a 35 años
- ☐ RP negativos (<20%)
- ☐ Grado histológico II o III
- ☐ Invasión vascular o/y linfática
- ☐ Ki-67 mayor o igual del 20%
- ☐ No criterios directos de bajo riesgo (T1a-b grado 1)

CRITERIO FINAL DE INDICACIÓN

- ☐ Tumor N0 con factores de riesgo en paciente premenopáusica o postmenopáusica
- ☐ Tumor N1mic o N1 (1-3 ganglios positivos) en paciente postmenopáusica

Facultativo prescriptor de Oncología (médico adjunto)

Facultativo de Anatomía Patológica

Fdo:

Fecha:

Fdo:

Fecha:

8. Referencias bibliográficas

Agnoletto A, Briskin C. Hormone Signaling in Breast Development and Cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2025;1464:279-307. doi: 10.1007/978-3-031-70875-6_15. PMID: 39821031.

Albeshan SM, Hossain SZ, Mackey MG, Brennan PC. Can Breast Self-examination and Clinical Breast Examination Along With Increasing Breast Awareness Facilitate Earlier Detection of Breast Cancer in Populations With Advanced Stages at Diagnosis? *Clin Breast Cancer.* 2020 Jun;20(3):194-200. doi: 10.1016/j.clbc.2020.02.001. Epub 2020 Feb 11. PMID: 32147405.

Alex A, Bhandary E, McGuire KP. Anatomy and Physiology of the Breast during Pregnancy and Lactation. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1252:3-7. doi: 10.1007/978-3-030-41596-9_1. PMID: 32816256.

Anderson KN, Schwab RB, Martinez ME. Reproductive risk factors and breast cancer subtypes: a review of the literature. *Breast Cancer Res Treat.* 2014 Feb;144(1):1-10. doi: 10.1007/s10549-014-2852-7. Epub 2014 Jan 30. PMID: 24477977; PMCID: PMC4026199.

Arendt LM, Kuperwasser C. Form and function: how estrogen and progesterone regulate the mammary epithelial hierarchy. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2015 Jun;20(1-2):9-25. doi: 10.1007/s10911-015-9337-0. Epub 2015 Jul 19. PMID: 26188694; PMCID: PMC4596764.

Asociación Española contra el cáncer AECC. El impacto económico y social del cáncer en España. Acceso el 10 de mayo se 2025: <https://www.contraelcancer.es/sites/default/files/content-file/Informe-Los-costes-cancer.pdf>

- Başaran E, Calis P, Karcaaltincaba D. Association between maternal androgen levels and early fetal sex differentiation: Anogenital distance and genital tubercle length in the first trimester. *Early Hum Dev.* 2025 Feb;201:106204. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2025.106204. Epub 2025 Jan 21. PMID: 39862595.
- Baskin L, Shen J, Sinclair A, Cao M, Liu X, Liu G, Isaacson D, Overland M, Li Y, Cunha GR. Development of the human penis and clitoris. *Differentiation.* 2018 Sep-Oct;103:74-85. doi: 10.1016/j.diff.2018.08.001. Epub 2018 Aug 23. PMID: 30249413; PMCID: PMC6234061.
- Berkane N, Liere P, Oudinet JP, Hertig A, Lefèvre G, Pluchino N, Schumacher M, Chabbert-Buffet N. From Pregnancy to Preeclampsia: A Key Role for Estrogens. *Endocr Rev.* 2017 Apr 1;38(2):123-144. doi: 10.1210/er.2016-1065. PMID: 28323944.
- Biswas SK, Banerjee S, Baker GW, Kuo CY, Chowdhury I. The Mammary Gland: Basic Structure and Molecular Signaling during Development. *Int J Mol Sci.* 2022 Mar 31;23(7):3883. doi: 10.3390/ijms23073883. PMID: 35409243; PMCID: PMC8998991.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68(6):394-424.
- Briskin C, Hess K, Jeitziner R. Progesterone and Overlooked Endocrine Pathways in Breast Cancer Pathogenesis. *Endocrinology.* 2015 Oct;156(10):3442-50. doi: 10.1210/en.2015-1392. Epub 2015 Aug 4. PMID: 26241069; PMCID: PMC4588833.
- Burstein HJ, Curigliano G, Loibl S, Dubsy P, Gnant M, Poortmans P, Colleoni M, Denkert C, Piccart-Gebhart M, Regan M, Senn HJ, Winer EP, Thurlimann B; Members of the St. Gallen International Consensus Panel on the Primary Therapy of Early Breast Cancer

2019. Estimating the benefits of therapy for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for the primary therapy of early breast cancer 2019. *Ann Oncol.* 2019 Oct 1;30(10):1541-1557. doi: 10.1093/annonc/mdz235. PMID: 31373601.
- Calaf GM, Ponce-Cusi R, Aguayo F, Muñoz JP, Bleak TC. Endocrine disruptors from the environment affecting breast cancer. *Oncol Lett.* 2020 Jul;20(1):19-32. doi: 10.3892/ol.2020.11566. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32565930; PMCID: PMC7286136.
- Campos-Carrillo A, Weitzel JN, Sahoo P, Rockne R, Mokhnatkin JV, Murtaza M, Gray SW, Goetz L, Goel A, Schork N, Slavin TP. Circulating tumor DNA as an early cancer detection tool. *Pharmacol Ther.* 2020 Mar;207:107458. doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.107458. Epub 2019 Dec 18. PMID: 31863816; PMCID: PMC6957244.
- Chlebowski RT, Anderson GL, Aragaki AK, et al. Association of Menopausal Hormone Therapy With Breast Cancer Incidence and Mortality During Long-term Follow-up of the Women's Health Initiative Randomized Clinical Trials. *JAMA.* 2020;324(4):369–380. doi:10.1001/jama.2020.9482
- Coelingh Bennink HJT, Schultz IJ, Schmidt M, Jordan VC, Briggs P, Egberts JFM, Gemzell-Danielsson K, Kiesel L, Kluivers K, Krijgh J, Simoncini T, Stanczyk FZ, Langer RD. Progesterone from ovulatory menstrual cycles is an important cause of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2023 May 30;25(1):60. doi: 10.1186/s13058-023-01661-0. PMID: 37254150; PMCID: PMC10228093.

Coleman WB, Anders CK. Discerning Clinical Responses in Breast Cancer Based On Molecular Signatures. *Am J Pathol.* 2017 Oct;187(10):2199-2207. doi: 10.1016/j.ajpath.2017.08.002. Epub 2017 Aug 16. PMID: 28822803.

Delbes G, Blázquez M, Fernandino JI, Grigorova P, Hales BF, Metcalfe C, Navarro-Martín L, Parent L, Robaire B, Rwigemera A, Van Der Kraak G, Wade M, Marlatt V. Effects of endocrine disrupting chemicals on gonad development: Mechanistic insights from fish and mammals. *Environ Res.* 2022 Mar;204(Pt B):112040. doi: 10.1016/j.envres.2021.112040. Epub 2021 Sep 9. PMID: 34509487.

De Nonneville A, Jauffret C, Gonçalves A, Classe JM, Cohen M, Reyat F, Mazouni C, Chauvet MP, Chopin N, Colombo PE, Jouve E, Darai E, Rouzier R, Coutant C, Gimbergues P, Azuar AS, de Lara CT, Lambaudie E, Houvenaeghel G. Adjuvant chemotherapy in lobular carcinoma of the breast: a clinicopathological score identifies high-risk patient with survival benefit. *Breast Cancer Res Treat.* 2019 Jun;175(2):379-387. doi: 10.1007/s10549-019-05160-9. Epub 2019 Feb 13. PMID: 30759288.

Distancia Anogenital: Un nuevo marcador de endometriosis. Tesis de doctorado, Universidad de Murcia. Cánovas López, Laura (2015).

Draskau MK, Boberg J, Taxvig C, Pedersen M, Frandsen HL, Christiansen S, Svingen T. In vitro and in vivo endocrine disrupting effects of the azole fungicides triticonazole and flusilazole. *Environ Pollut.* 2019 Dec;255(Pt 2):113309. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113309. Epub 2019 Oct 3. PMID: 31610510.

Eisenberg ML, Hsieh MH, Walters RC, Krasnow R, Lipshultz LI. The relationship between anogenital distance, fatherhood, and fertility in adult men. *PLoS One.* 2011 May

- 11;6(5):e18973. doi: 10.1371/journal.pone.0018973. PMID: 21589916; PMCID: PMC3092750.
- ESHRE Capri Workshop Group. Hormones and breast cancer. *Hum Reprod Update*. 2004 Jul-Aug;10(4):281-93. doi: 10.1093/humupd/dmh025. Epub 2004 Jun 10. PMID: 15192054.
- Eve L, Fervers B, Le Romancer M, Etienne-Selloum N. Exposure to Endocrine Disrupting Chemicals and Risk of Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2020 Nov 30;21(23):9139. doi: 10.3390/ijms21239139. PMID: 33266302; PMCID: PMC7731339.
- Falato C, Schettini F, Pascual T, Brasó-Maristany F, Prat A. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes in hormone receptor-positive and HER2-negative metastatic breast cancer. *Cancer Treat Rev*. 2023 Jan;112:102496. doi: 10.1016/j.ctrv.2022.102496. Epub 2022 Dec 9. PMID: 36563600.
- Fenton SE, Birnbaum LS. Timing of Environmental Exposures as a Critical Element in Breast Cancer Risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Sep;100(9):3245-50. doi: 10.1210/jc.2015-2848. Epub 2015 Jul 27. PMID: 26214118; PMCID: PMC4570175.
- Fernández de Larrea-Baz N, Alvarez-Martín E, Morant-Ginestar C, Gènova-Maleras R, Gil A, Pérez- Gómez B, López-Abente G. Burden of disease due to cancer in Spain. *BMC Public Health*. 2009 Jan 30;9:42. doi: 10.1186/1471-2458-9-42. PMID: 19183440; PMCID: PMC2642814.
- Fitzgerald SP. Breast-Cancer Screening--Viewpoint of the IARC Working Group. *N Engl J Med*. 2015 Oct 8;373(15):1479. doi: 10.1056/NEJMc1508733. PMID: 26444745.
- Fu M, Peng Z, Wu M, Lv D, Lyu S, Zhao X, Li Y, Qin H. Global, regional, and national time trends in mortality for breast cancer, 1992-2021: an age-period-cohort analysis for the

- global burden of disease 2021 study. *BMC Public Health*. 2025 May 1;25(1):1599. doi: 10.1186/s12889-025-22855-5. PMID: 40312658; PMCID: PMC12044940.
- Fu S, Ke H, Yuan H, Xu H, Chen W, Zhao L. Dual role of pregnancy in breast cancer risk. *Gen Comp Endocrinol*. 2024 Jun 1;352:114501. doi: 10.1016/j.ygcen.2024.114501. Epub 2024 Mar 26. PMID: 38527592.
- Grady WM. Are Non-invasive Multi-cancer Early Cancer Detection Tests the Future? *Dig Dis Sci*. 2025 May;70(5):1694-1702. doi: 10.1007/s10620-024-08839-2. Epub 2025 Jan 30. PMID: 39885052.
- Halıcı Ozturk F. & Atalay A. Anogenital Distance and Prenatal Androgen Exposure in Female Fetus and Newborns: A Systematic Review. *Adv Res Obstet Gynaecol*. 2023;1(1):e2302.
- Hassett MJ, Somerfield MR, Baker ER, Cardoso F, Kansal KJ, Kwait DC, Plichta JK, Ricker C, Roshal A, Ruddy KJ, Safer JD, Van Poznak C, Yung RL, Giordano SH. Management of Male Breast Cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol*. 2020 Jun 1;38(16):1849-1863. doi: 10.1200/JCO.19.03120. Epub 2020 Feb 14. PMID: 32058842.
- Hilakivi-Clarke L, de Assis S, Warri A. Exposures to synthetic estrogens at different times during the life, and their effect on breast cancer risk. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2013 Mar;18(1):25-42. doi: 10.1007/s10911-013-9274-8. Epub 2013 Feb 8. PMID: 23392570; PMCID: PMC3635108.
- Hill AJ, Balgobin S, Mishra K, Jeppson PC, Wheeler T 2nd, Mazloomdoost D, Anand M, Ninivaggio C, Hamner J, Bochenska K, Mama ST, Balk EM, Corton MM, Delancey J; Society of Gynecologic Surgeons Pelvic Anatomy Group. Recommended standardized anatomic terminology of the posterior female pelvis and vulva based on a structured

- medical literature review. *Am J Obstet Gynecol*. 2021 Aug;225(2):169.e1-169.e16. doi: 10.1016/j.ajog.2021.02.033. Epub 2021 Mar 9. PMID: 33705749.
- Hofmarcher T, Lindgren P, Wilking N, Jönsson B. The cost of cancer in Europe 2018. *Eur J Cancer*. 2020 Apr;129:41-49. doi: 10.1016/j.ejca.2020.01.011. Epub 2020 Feb 28. PMID: 32120274.
- Hovey RC, Trott JF, Vonderhaar BK. Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2002 Jan;7(1):17-38. doi: 10.1023/a:1015766322258. PMID: 12160083.
- Humlevik ROC, Svanøe AA, Aas T, Heie A, Sæle AKM, Akslen LA, Wik E, Hoivik EA. Distinct clinicopathological features and treatment differences in breast cancer patients of young age. *Sci Rep*. 2025 Feb 15;15(1):5655. doi: 10.1038/s41598-025-90053-9. PMID: 39955428; PMCID: PMC11830014.
- Ingthorsson S, Traustadottir GA, Gudjonsson T. Breast Morphogenesis: From Normal Development to Cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2025;1464:29-44. doi: 10.1007/978-3-031-70875-6_3. PMID: 39821019.
- International Agency for Research on Cancer (IARC).. *Cancer Tomorrow*. Acceso el 19 de mayo de 2025. Disponible en: https://gco.iarc.fr/tomorrow/graphic-isotype?type=0&population=900&mode=population&sex=0&cancer=39&age_group=value&apc_male=0&apc_female=0
- Ipulan-Colet LA. Sexual dimorphism through androgen signaling; from external genitalia to muscles. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Jul 27;13:940229. doi: 10.3389/fendo.2022.940229. PMID: 35983512; PMCID: PMC9379613.

- Jain VG, Goyal V, Chowdhary V, Swarup N, Singh RJ, Singal A, Shekhawat P. Anogenital distance is determined during early gestation in humans. *Hum Reprod*. 2018 Sep 1;33(9):1619-1627. doi: 10.1093/humrep/dey265. PMID: 30124868.
- Kachlik D. Changes of anatomical nomenclature must be deliberate: The female external genitalia. *Clin Anat*. 2021 Mar;34(2):320-323. doi: 10.1002/ca.23672. Epub 2020 Sep 9. PMID: 32805060.
- Kleinberg DL, Barcellos-Hoff MH. The pivotal role of insulin-like growth factor I in normal mammary development. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2011 Sep;40(3):461-71, vii. doi: 10.1016/j.ecl.2011.06.001. PMID: 21889714.
- Kleinberg DL, Wood TL, Furth PA, Lee AV. Growth hormone and insulin-like growth factor-I in the transition from normal mammary development to preneoplastic mammary lesions. *Endocr Rev*. 2009 Feb;30(1):51-74. doi: 10.1210/er.2008-0022. Epub 2008 Dec 15. Erratum in: *Endocr Rev*. 2012 Dec;33(6):1038. PMID: 19075184; PMCID: PMC5393153.
- Kos Z, Nielsen TO, Laenkholm AV. Breast Cancer Histopathology in the Age of Molecular Oncology. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2024 Jun 3;14(6):a041647. doi: 10.1101/cshperspect.a041647. PMID: 38151327; PMCID: PMC11146312.
- Lemaine V, Simmons PS. The adolescent female: Breast and reproductive embryology and anatomy. *Clin Anat*. 2013 Jan;26(1):22-8. doi: 10.1002/ca.22167. Epub 2012 Sep 19. PMID: 22997043.
- Liu C, Xu X, Huo X. Anogenital distance and its application in environmental health research. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2014 Apr;21(8):5457-64. doi: 10.1007/s11356-014-2570-z. Epub 2014 Jan 29. PMID: 24474565.

Lowry KP, Geuzinge HA, Stout NK, Alagoz O, Hampton J, Kerlikowske K, de Koning HJ, Miglioretti DL, van Ravestein NT, Schechter C, Sprague BL, Tosteson ANA, Trentham-Dietz A, Weaver D, Yaffe MJ, Yeh JM, Couch FJ, Hu C, Kraft P, Polley EC, Mandelblatt JS, Kurian AW, Robson ME; Breast Working Group of the Cancer Intervention and Surveillance Modeling Network (CISNET), in collaboration with the Breast Cancer Surveillance Consortium (BCSC), and the Cancer Risk Estimates Related to Susceptibility (CARRIERS) Consortium. Breast Cancer Screening Strategies for Women With ATM, CHEK2, and PALB2 Pathogenic Variants: A Comparative Modeling Analysis. *JAMA Oncol.* 2022 Apr 1;8(4):587-596. doi: 10.1001/jamaoncol.2021.6204. PMID: 35175286; PMCID: PMC8855312.

Lv X, Pan L, Wang J, Lu L, Yan W, Zhu Y, Xu Y, Guo M, Zhuang S. Effects of triazole fungicides on androgenic disruption and CYP3A4 enzyme activity. *Environ Pollut.* 2017 Mar;222:504-512. doi: 10.1016/j.envpol.2016.11.051. Epub 2016 Dec 21. PMID: 28012672.

Macon MB, Fenton SE. Endocrine disruptors and the breast: early life effects and later life disease. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2013 Mar;18(1):43-61. doi: 10.1007/s10911-013-9275-7. Epub 2013 Feb 17. PMID: 23417729; PMCID: PMC3682794.

Makieva S, Saunders PT, Norman JE. Androgens in pregnancy: roles in parturition. *Hum Reprod Update.* 2014 Jul-Aug;20(4):542-59. doi: 10.1093/humupd/dmu008. Epub 2014 Mar 18. PMID: 24643344; PMCID: PMC4063701.

Mann RM, Cho N, Moy L. Breast MRI: State of the Art. *Radiology.* 2019 Sep;292(3):520-536. doi: 10.1148/radiol.2019182947. Epub 2019 Jul 30. PMID: 31361209.

- McGarvey N, Gitlin M, Fadli E, Chung KC. Increased healthcare costs by later stage cancer diagnosis. *BMC Health Serv Res.* 2022 Sep 13;22(1):1155. doi: 10.1186/s12913-022-08457-6. PMID: 36096813; PMCID: PMC9469540.
- Mendiola J, Stahlhut RW, Jørgensen N, Liu F, Swan SH. Shorter anogenital distance predicts poorer semen quality in young men in Rochester, New York. *Environ Health Perspect.* 2011 Jul;119(7):958-63. doi: 10.1289/ehp.1103421. Epub 2011 Mar 4. PMID: 21377950; PMCID: PMC3222997.
- Mira-Escolano MP, Mendiola J, Mínguez-Alarcón L, Roca M, Cutillas-Tolín A, López-Espín JJ, Torres-Cantero AM. Anogenital distance of women in relation to their mother's gynaecological characteristics before or during pregnancy. *Reprod Biomed Online.* 2014 Feb;28(2):209-15. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.09.026. Epub 2013 Oct 8. PMID: 24374194.
- Mittmann N, Seung SJ, Ante Z, Liu N, Yong JH, Yusuf A, Chiarelli AM, Earle CC. Updated breast cancer costs for women by disease stage and phase of care using population-based databases. *Health Rep.* 2024 Nov 20;35(11):3-11. doi: 10.25318/82-003-x202401100001-eng. PMID: 39570813.
- O'Brien KM, Cole SR, Tse CK, Perou CM, Carey LA, Foulkes WD, Dressler LG, Geradts J, Millikan RC. Intrinsic breast tumor subtypes, race, and long-term survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Clin Cancer Res.* 2010 Dec 15;16(24):6100-10. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1533. PMID: 21169259; PMCID: PMC3029098.
- Organización Mundial de la Salud. Métodos y fuentes de datos de OMS para las causas de defunción de nivel nacional 2000-2019. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2020.

- Oñate-Celdrán J, Arense-Gonzalo JJ, Mendiola J, Samper-Mateo P, Sánchez-Rodríguez C, García-Escudero D, Torres-Roca M, Vilchez-Costas A, Adoamnei E, Torres-Cantero AM. Análisis de la distancia anogenital como herramienta diagnóstica del cáncer de próstata [Study of anogenital distance as a diagnostic tool for prostate cancer]. *Rev Int Androl*. 2019 Apr-Jun;17(2):60-67. Spanish. doi: 10.1016/j.androl.2018.03.001. Epub 2018 Jun 30. PMID: 31029439.
- Parisi F, Fenizia C, Introini A, Zavatta A, Scaccabarozzi C, Biasin M, Savasi V. The pathophysiological role of estrogens in the initial stages of pregnancy: molecular mechanisms and clinical implications for pregnancy outcome from the periconceptional period to end of the first trimester. *Hum Reprod Update*. 2023 Nov 2;29(6):699-720. doi: 10.1093/humupd/dmad016. PMID: 37353909; PMCID: PMC10628507.
- Perrot-Applanat M, Kolf-Clauw M, Michel C, Beausoleil C. Alteration of mammary gland development by bisphenol a and evidence of a mode of action mediated through endocrine disruption. *Mol Cell Endocrinol*. 2018 Nov 5;475:29-53. doi: 10.1016/j.mce.2018.06.015. Epub 2018 Jul 23. PMID: 30048677.
- Prat A, Pineda E, Adamo B, Galván P, Fernández A, Gaba L, Díez M, Viladot M, Arance A, Muñoz M. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast*. 2015 Nov;24 Suppl 2:S26-35. doi: 10.1016/j.breast.2015.07.008. Epub 2015 Aug 5. PMID: 26253814.
- Priskorn L, Petersen JH, Jørgensen N, Kyhl HB, Andersen MS, Main KM, Andersson AM, Skakkebaek NE, Jensen TK. Anogenital distance as a phenotypic signature through infancy. *Pediatr Res*. 2018 Mar;83(3):573-579. doi: 10.1038/pr.2017.287. Epub 2017 Dec 20. PMID: 29155806.

Rios-Hoyo A, Shan NL, Karn PL, Pusztai L. Clinical Implications of Breast Cancer Intrinsic Subtypes. *Adv Exp Med Biol.* 2025;1464:435-448. doi: 10.1007/978-3-031-70875-6_21. PMID: 39821037.

Risques RA, Kennedy SR. Aging and the rise of somatic cancer-associated mutations in normal tissues. *PLoS Genet.* 2018 Jan 4;14(1):e1007108. doi: 10.1371/journal.pgen.1007108. PMID: 29300727; PMCID: PMC5754046.

Russnes HG, Lingjærde OC, Børresen-Dale AL, Caldas C. Breast Cancer Molecular Stratification: From Intrinsic Subtypes to Integrative Clusters. *Am J Pathol.* 2017 Oct;187(10):2152-2162. doi: 10.1016/j.ajpath.2017.04.022. Epub 2017 Jul 19. PMID: 28733194.

Sánchez-Ferrer ML, Mendiola J, Hernández-Peñalver AI, Corbalán-Biyang S, Carmona-Barnosi A, Prieto-Sánchez MT, Nieto A, Torres-Cantero AM. Presence of polycystic ovary syndrome is associated with longer anogenital distance in adult Mediterranean women. *Hum Reprod.* 2017 Nov 1;32(11):2315-2323. doi: 10.1093/humrep/dex274. PMID: 29025054.

Santucci C, Mignozzi S, Levi F, Malvezzi M, Boffetta P, Negri E, La Vecchia C. European cancer mortality predictions for the year 2025 with focus on breast cancer. *Ann Oncol.* 2025 Apr;36(4):460-468. doi: 10.1016/j.annonc.2025.01.014. Epub 2025 Mar 12. PMID: 40074664.

Schettini F, Buono G, Cardalesi C, Desideri I, De Placido S, Del Mastro L. Hormone Receptor/Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-positive breast cancer: Where we are now and where we are going. *Cancer Treat Rev.* 2016 May;46:20-6. doi: 10.1016/j.ctrv.2016.03.012. Epub 2016 Apr 1. PMID: 27057657.

- Schlueter M, Chan K, Lasry R, Price M. The cost of cancer - A comparative analysis of the direct medical costs of cancer and other major chronic diseases in Europe. *PLoS One*. 2020 Nov 11;15(11):e0241354. doi: 10.1371/journal.pone.0241354. PMID: 33175865; PMCID: PMC7657541.
- Schwartz CL, Christiansen S, Vinggaard AM, Axelstad M, Hass U, Svingen T. Anogenital distance as a toxicological or clinical marker for fetal androgen action and risk for reproductive disorders. *Arch Toxicol*. 2019 Feb;93(2):253-272. doi: 10.1007/s00204-018-2350-5. Epub 2018 Nov 14. PMID: 30430187.
- Sebastian W, Forchette L, Donoughe K, Lun Y, Verma A, Liu T. Genetics, Treatment, and New Technologies of Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 2023 Feb 18;15(4):1303. doi: 10.3390/cancers15041303. PMID: 36831644; PMCID: PMC9954687.
- Sharpe RM. Androgens and the masculinization programming window: human-rodent differences. *Biochem Soc Trans*. 2020 Aug 28;48(4):1725-1735. doi: 10.1042/BST20200200. PMID: 32779695; PMCID: PMC7458408.
- Simsir C, Pekcan MK, Aksoy RT, Ecemis T, Coskun B, Kilic SH, et al. The ratio of anterior anogenital distance to posterior anogenital distance: A novel biomarker for polycystic ovary syndrome. *J Chin Med Assoc* 2019; 82: 782–786.
- Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Buck Louis GM, Toppari J, Andersson AM, Eisenberg ML, Jensen TK, Jørgensen N, Swan SH, Sapra KJ, Ziebe S, Priskorn L, Juul A. Male Reproductive Disorders and Fertility Trends: Influences of Environment and Genetic

Susceptibility. *Physiol Rev.* 2016 Jan;96(1):55-97. doi: 10.1152/physrev.00017.2015. PMID: 26582516; PMCID: PMC4698396.

Sociedad Española de Oncología Médica. SEOM. Las cifras del Cáncer en España 2024. (2024).

Soto AM, Briskin C, Schaeberle C, Sonnenschein C. Does cancer start in the womb? altered mammary gland development and predisposition to breast cancer due to in utero exposure to endocrine disruptors. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2013 Jun;18(2):199-208. doi: 10.1007/s10911-013-9293-5. Epub 2013 May 24. PMID: 23702822; PMCID: PMC3933259.

Soto AM, Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C. Does breast cancer start in the womb? *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2008 Feb;102(2):125-33. doi: 10.1111/j.1742-7843.2007.00165.x. PMID: 18226065; PMCID: PMC2817934.

Speroni L, Voutilainen M, Mikkola ML, Klager SA, Schaeberle CM, Sonnenschein C, Soto AM. New insights into fetal mammary gland morphogenesis: differential effects of natural and environmental estrogens. *Sci Rep.* 2017 Jan 19;7:40806. doi: 10.1038/srep40806. PMID: 28102330; PMCID: PMC5244390.

Spina E, Cowin P. Embryonic mammary gland development. *Semin Cell Dev Biol.* 2021 Jun;114:83-92. doi: 10.1016/j.semcdb.2020.12.012. Epub 2021 Jan 17. PMID: 33472760.

Szymiczek A, Lone A, Akbari MR. Molecular intrinsic versus clinical subtyping in breast cancer: A comprehensive review. *Clin Genet.* 2021 May;99(5):613-637. doi: 10.1111/cge.13900. Epub 2020 Dec 28. PMID: 33340095.

Tamimi RM, Colditz GA, Hazra A, Baer HJ, Hankinson SE, Rosner B, Marotti J, Connolly JL, Schnitt SJ, Collins LC. Traditional breast cancer risk factors in relation to molecular subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2012 Jan;131(1):159-67. doi: 10.1007/s10549-011-1702-0. Epub 2011 Aug 10. PMID: 21830014; PMCID: PMC3237947.

Tayour C, Ritz B, Langholz B, Mills PK, Wu A, Wilson JP, Shahabi K, Cockburn M. A case-control study of breast cancer risk and ambient exposure to pesticides. *Environ Epidemiol.* 2019 Oct 14;3(5):e070. doi: 10.1097/EE9.0000000000000070. PMID: 32166211; PMCID: PMC7028467

Thankamony A, Ong KK, Dunger DB, Acerini CL, Hughes IA. Anogenital distance from birth to 2 years: a population study. *Environ Health Perspect.* 2009 Nov;117(11):1786-90. doi: 10.1289/ehp.0900881. Epub 2009 Jul 13. PMID: 20049133; PMCID: PMC2801188.

US Preventive Services Task Force; Nicholson WK, Silverstein M, Wong JB, Barry MJ, Chelmow D, Coker TR, Davis EM, Jaén CR, Krousel-Wood M, Lee S, Li L, Mangione CM, Rao G, Ruiz JM, Stevermer JJ, Tsevat J, Underwood SM, Wiehe S. Screening for Breast Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA.* 2024 Jun 11;331(22):1918-1930. doi: 10.1001/jama.2024.5534. Erratum in: *JAMA.* 2024 Sep 30. doi: 10.1001/jama.2024.19851. PMID: 38687503.

Wainstock T, Shoham-Vardi I, Sheiner E, Walfisch A. Fertility and anogenital distance in women. *Reprod Toxicol.* 2017 Oct;73:345-349. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.07.009. Epub 2017 Jul 22. PMID: 28743560.

- Wang Y, Ning X, Li G, Sang N. New insights into potential estrogen agonistic activity of triazole fungicides and coupled metabolic disturbance. *J Hazard Mater.* 2022 Feb 15;424(Pt B):127479. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127479. Epub 2021 Oct 12. PMID: 34688002.
- Wei X, Mansour L, Oxley S, et al. Defining Lifetime Risk Thresholds for Breast Cancer Surgical Prevention. *JAMA Oncol.* Published online July 24, 2025. doi:10.1001/jamaoncol.2025.2203.
- Welsh M, Suzuki H, Yamada G. The masculinization programming window. *Endocr Dev.* 2014;27:17-27. doi: 10.1159/000363609. Epub 2014 Sep 9. PMID: 25247641.
- Willems SM, van Deurzen CH, van Diest PJ. Diagnosis of breast lesions: fine-needle aspiration cytology or core needle biopsy? A review. *J Clin Pathol.* 2012 Apr;65(4):287-92. doi: 10.1136/jclinpath-2011-200410. Epub 2011 Oct 29. PMID: 22039282.
- Wormsbaecher C, Hindman AR, Avendano A, Cortes-Medina M, Jones CE, Bushman A, Onua L, Kovalchin CE, Murphy AR, Helber HL, Shapiro A, Voytovitch K, Kuang X, Aguilar-Valenzuela R, Leight JL, Song JW, Burd CJ. In utero estrogenic endocrine disruption alters the stroma to increase extracellular matrix density and mammary gland stiffness. *Breast Cancer Res.* 2020 May 5;22(1):41. doi: 10.1186/s13058-020-01275-w. PMID: 32370801; PMCID: PMC7201668.
- Wu X-Y, Li Zh-L, Wu Ch-Y, Liu Y-M, Lin H, Wang Sh-H, et al. Endocrine traits of polycystic ovary syndrome in prenatally androgenized female Sprague-Dawley rats. *Endocr J* 2010; 57: 201–209.
- Wu Z, Xia F, Lin R. Global burden of cancer and associated risk factors in 204 countries and territories, 1980-2021: a systematic analysis for the GBD 2021. *J Hematol Oncol.* 2024

Nov 29;17(1):119. doi: 10.1186/s13045-024-01640-8. PMID: 39614359; PMCID: PMC11607901.

Yang Y, Chen M, Yang W. Mediation effects of metabolites and sex hormones on the relationship between body mass index and breast cancer: Mendelian randomization analysis and mediation analysis. *Front Oncol.* 2024 Nov 21;14:1449956. doi: 10.3389/fonc.2024.1449956. PMID: 39640279; PMCID: PMC11617525.

Zamani P, Hemati Z, Kelishadi R, Kollahdozan S, Dianatinasab M, Keikha M. Association between anogenital distance as a noninvasive index in the diagnosis and prognosis of reproductive disorder: A systematic review. *Int J Reprod Biomed.* 2023 Sep 20;21(8):599-618. doi: 10.18502/ijrm.v21i8.14016. PMID: 37885976; PMCID: PMC10598470.

Zhang X. Molecular Classification of Breast Cancer: Relevance and Challenges. *Arch Pathol Lab Med.* 2023 Jan 1;147(1):46-51. doi: 10.5858/arpa.2022-0070-RA. PMID: 36136295.

Zolfaroli I, Tarín JJ, Cano A. The action of estrogens and progestogens in the young female breast. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2018 Nov;230:204-207. doi: 10.1016/j.ejogrb.2018.03.057. Epub 2018 Mar 28. PMID: 29627127.

