UNIVERSIDAD DE GRANADA

Programa de Doctorado en Bioquímica y Biología Molecular

TESIS DOCTORAL

EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA IMPLANTACIÓN DE UN PANEL NGS EN LA ASISTENCIA SANITARIA DEL SÍNDROME DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIOS EN LA PROVINCIA DE GRANADA

MARÍA MOLINA ZAYAS, 2024

Directores:

M. Carmen Garrido Navas

Antonio M. Poyatos Andújar

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: María Molina Zayas
ISBN: 978-84-1195-588-1
URI: https://hdl.handle.net/10481/97591

La satisfacción radica en el esfuerzo, no en el logro.

El esfuerzo total es una victoria completa

(M. Gandhi)

A mis hijos,

Sofía y Bruno

Agradecimientos

En primer lugar, quiero dar las gracias a todo el equipo de profesionales que ha hecho posible que este trabajo haya dado sus frutos;

Quiero expresar mi gratitud al Dr. Francisco Ruiz-Cabello por su orientación y expertos consejos en el año 2017, cuando estaba indecisa sobre qué tema elegir para solicitar una beca post-residencia. También agradezco al Dr. Tomás de Haro por escuchar mis preocupaciones y ponerme en contacto con el que fue mi primer director de tesis, el Dr. José Luis García Puche.
El Dr. García Puche ha sido una de las personas más sabias y con más motivación que he conocido nunca, y aunque tristemente nos dejó durante este proceso, allá donde estés, muchísimas gracias. Espero que te sientas orgulloso de este trabajo.

Gracias a la Dra. María José Serrano por abrirme las puertas de Genyo y a la Dra. Carmen Garrido, por guiarme desde el principio, por su tesón y por su sabiduría pese a su juventud, no he podido tener mejor directora de tesis.

Al Dr. Antonio M. Poyatos, por construir este proyecto, por ser un trabajador incansable y por confiar en mi cuando ni yo misma pensaba que era capaz de conseguirlo. Me alegro que finalmente seas también mi director, te lo merecías más que nadie.

A todos mis compañeros y amigos que me habéis acompañado durante la residencia de Análisis Clínicos y años de trabajo tanto en el Hospital Virgen de las Nieves como en el Hospital San Cecilio de Granada.
A la Dra. Susana Pedrinaci, por compartir conmigo todos sus conocimientos sobre cáncer hereditario, hemos hecho un gran equipo. A la Dra. Mónica Bernal y a Vicky, por dejarme estar con vosotras en los inicios de la NGS en Granada, he sido una auténtica privilegiada. A la Dra. Susana García y a la Dra. Margarita Martínez porque vosotras también habéis vivido todo este camino conmigo y siempre habéis estado ahí cuando he necesitado una palabra de apoyo.

A mi amiga y compañera de ‘‘sufrimientos’’ María del Mar, tú mejor que nadie sabes lo que nos ha costado llegar hasta aquí. Gracias por escucharme y darme consejos, ¡mucho ánimo! Sé que tú también lo conseguirás muy pronto.

Por último, y para mí lo más importante, gracias a mi familia;

A mis padres Araceli y Manuel y a mi hermano Víctor, por enseñarme que todo en la vida conlleva un esfuerzo y aunque muchas veces las cosas se han complicado, siempre hemos salido adelante. A ellos, y también a mis suegros Mercedes y Jaime, por vuestra gran labor como abuelos, por ayudarme con los ‘‘pequeños’’ para que yo pudiera escribir esta tesis.

A Jaime, mi compañero de viaje, que siempre es capaz de sacarme una sonrisa en los peores momentos. Gracias por entender que esto era muy importante para mí y apoyarme siempre.

A mis hijos, Sofía y Bruno, por ellos y para ellos va este trabajo. Siento si me he perdido momentos importantes con vosotros, espero que os sintáis orgullosos y demostraros que con esfuerzo y dedicación podréis llegar donde queráis.

Ojalá este doctorado me ayude a dedicarme a mi pasión el resto de mi vida… la Genética.

Actividad científica

- Parte de los resultados de esta tesis doctoral han sido publicados en la siguiente revista científica:

Molina-Zayas M, Garrido-Navas C, García-Puche JL, Barwell J, Pedrinaci S, Atienza MM, García-Linares S, de Haro-Muñoz T, Lorente JA, Serrano MJ, Poyatos-Andújar A. *Identification of hereditary breast and ovarian cancer germline variants in Granada (Spain): NGS perspective*. Mol Genet Genomics. 2022 May;297(3):859-871. doi: 10.1007/s00438-022-01891-5. Epub 2022 Apr 22. PMID: 35451682; PMCID: PMC9130174.

- Otros premios y reconocimientos:

Premio SANAC 2023 (Sociedad Andaluza de Análisis Clínicos y Medicina de Laboratorio) al mejor artículo científico publicado: "*Identification of hereditary breast and ovarian cancer germline variants in Granada (Spain): NGS perspective*" presentado en el trascurso del XXIX Congreso SANAC celebrado en Granada del 16 al 18 de marzo de 2023.

Beca Post-residencia AEFA 2017 (Asociación Española del Laboratorio Clínico) al proyecto titulado: "*Nuevas variantes en genes asociados al cáncer de mama y colon hereditarios mediante Next Generation Sequencing. Revisión de variantes de significado incierto".*

Abreviaturas y siglas

ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
ACS	American Cancer Society
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AECC	Asociación Española Contra el Cáncer
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AMP	Association for Molecular Pathology (Asociación de Patología Molecular)
ASCO	American Society of Clinical Oncology (Sociedad Americana de Oncología Clínica)
BAF	Biopsia con aguja gruesa
BAM	Binary Alignment/Map format
BIC	Breast Cancer Information Core
BI-RADS	Breast Imaging Reporting and Data System
CA-125	Antígeno del cáncer 125
CAP	College of American Pathologists (Colegio americano de Patólogos)
CCR	Cáncer colorrectar
CDI	Cáncer ductal invasivo
CE	Conformité Européenne (Unión Europea)
cfDNA	ADN libre de células
Clase I/II	Variante benigna/ probablemente benigna
Clase III	Variante de significado incierto
Clase IV/V	Variante patogénica/ probablemente patogénica
CLI	Cáncer lobulillar invasivo
CM	Cáncer de mama
CMOH	Cáncer de mama y ovario hereditario
CMTN	Cáncer de mama triple negativo
CNV	Copy Number Variation (variación en el número de copias)
CO	Cáncer de ovario
COVID-19	Coronavirus disease de 2019
COX-2	Ciclooxigenasa-2

CTC	Células tumorales circulantes
ctDNA	ADN tumoral circulante
DCIS	Carcinoma ductal in situ
desc	Desconocido
EASP	Escuela Andaluza de Salud Pública
ECIS	European Cancer Information System
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ExAC	Exome Aggregation Consortium
FASTQ	Secuencia biológica en formato texto y condiciones de calidad
FIGO	Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
FIV	Fecundación in vitro
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory
GnomAD	Genome Aggregation Database
HE4	Proteína 4 del epidídimo humano
HER2	Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano
HGMD	Human Gene Mutation Database Professional
HPO	Human Phenotype Ontology
HRD	Reparación por recombinación homóloga
HUSC	Hospital Universitario San Cecilio
HUVN	Hospital Universitario Virgen de las Nieves
IARC	International Agency for Research on Cancer
IC	Intervalo de confianza
INDEL	Inserción o deleción
iPARP	Inhibidores de la poli (ADP ribosa) polimerasa
IVD	Diagnóstico In Vitro
Ki67	Marcador celular de proliferación
LCIS	Carcinoma lobulillar in situ
LOVD	Leiden Open Variation Database
MBP	Mastectomía bilateral profiláctica
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
MMR	DNA mismatch repair

MPA	Módulo de pruebas analíticas
MPC	Mastectomía profiláctica contralateral
N	Número
N/A	No aplica
NC	No consta
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NGS	Next Generation Sequencing
ns	No significativo
NUHSA	Número de Historia Única de Salud de Andalucía
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
OR	Odds ratio
PAAF	Punción aspiración con aguja fina
PCA	Porcentaje de cambio anual
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PGH	Proyecto del Genoma Humano
RE	Receptor de estrógeno
REDECAN	Red Española de Registros de Cáncer
RMN	Resonancia magnética nuclear
RP	Receptor de progesterona
SAM	Sequence Alignment/Map format
SARS-coV2	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave
sC	Sin cáncer
SEOM	Sociedad Española de Oncología Médica
SERM	Modulador selectivo de los receptores de estrógeno
SIL	Sistema de información al laboratorio
SIR	Riesgos estandarizados por edad
SNC	Sistema nervioso central
SNV	Single Nucleotide Variant (variación de un solo nucleótido)
SSPA	Sistema Sanitario Público de Andalucía
TGP	Test Genético preimplantacional

TGP-A	TGP de aneuploidias
TGP-M	TGP de enfermedades monogénicas
TGP-SR	TGP de anomalías cromosómicas estructurales o numéricas
TN	Triple negativo
TNM	Sistema de estadificación tumor, ganglio linfático, metástasis
TRH	Terapia hormonal sustitutiva
VB	Variante benigna
VCF	Variant Call Format
VP	Variante patogénica
VPB	Variante probablemente benigna
VPP	Variante probablemente patogénica
VUS	Variante de significado incierto (Variant of uncertain significance)

Índice

1 INTRODUCCIÓN 1

1.1 CÁNCER DE MAMA Y OVARIO 2

1.1.1 Epidemiología 2

1.1.1.1 Incidencia y mortalidad del cáncer de mama 2

1.1.1.2 Incidencia y mortalidad del cáncer de ovario 5

1.1.2 Clasificación y fisiopatología 7

1.1.2.1 Cáncer de mama 7

1.1.2.2 Cáncer de ovario 14

1.1.3 Factores de riesgo en el desarrollo del cáncer de mama y ovario 17

1.1.4 Genética del cáncer de mama y ovario hereditarios 20

1.1.4.1 Genes *BRCA1* y *BRCA2* 21

1.1.4.2 Nuevos genes de alta y moderada penetrancia 23

1.2 DIAGNÓSTICO GENÉTICO Y MANEJO CLÍNICO DEL CMOH 30

1.2.1 Laboratorio 30

1.2.1.1 Secuenciación Sanger 31

1.2.1.2 Multiplex Ligation dependent Probe Amplification (MLPA) 32

1.2.1.3 Next Generation Sequencing (NGS) 33

1.2.1.4 Identificación y clasificación de variantes 34

1.2.1.5 Revisión y reclasificación de las variantes de significado incierto 37

1.2.2 Consulta de asesoramiento genético 38

1.2.2.1 Consulta pre-test 39

1.2.2.2 Consulta post-test 41

2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS 52

3 MATERIAL Y MÉTODOS 57

3.1 Pacientes y estudio 59

3.1.1 Entrevista y recogida de datos 60

3.1.2 Criterios de selección 61

3.2 Externalización de pruebas genéticas (años 2013-2017) 63

3.2.1 Tecnología 63

3.2.1.1 Secuenciación Sanger 63

3.2.1.2 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 63

3.2.2 Circuito asistencial 64

3.2.2.1 Solicitud de pruebas 64

3.2.2.2 Informe de resultados 64
3.3 Desarrollo e implantación de pruebas genéticas (2017-2018) 65
3.3.1 Tecnología 65
3.3.1.1 Secuenciación de segunda generación (NGS) 65
3.3.2 Circuito asistencial 70
3.3.2.1 Petición electrónica 70
3.3.2.2 Informe de resultados 70
3.4 Variables recogidas en el estudio 70
3.5 Análisis estadístico 72
4 RESULTADOS 75
4.1 Capítulo 1: Evaluación de la epidemiología genética del síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditarios en la provincia de Granada 77
4.1.1 Análisis del rendimiento de las estrategias diagnósticas 77
4.1.1.1 Estudio genético mediante secuenciación Sanger frente a NGS 77
4.1.2 Análisis de las variantes identificadas 80
4.1.2.1 Variantes patogénicas y probablemente patogénicas 80
4.1.2.2 Variantes de significado incierto (VUS) 83
4.2 Capítulo 2: Evaluación de la epidemiología clínica del síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditarios en la provincia de Granada 88
4.2.1 A nivel epidemiológico 88
4.2.1.1 Características clínico-patológicas y genéticas de la cohorte de estudio 88
4.2.1.2 Mortalidad 90
4.2.1.3 Relación con la edad de presentación 92
4.2.1.4 Relación con el tipo tumoral/estadío 94
4.2.2 A nivel diagnóstico 95
4.2.2.1 Evaluación de los criterios de inclusión 95
4.2.2.2 Evaluación de la actividad 97
4.2.3 A nivel preventivo 98
4.2.3.1 Prevención primaria 98
4.2.3.2 Prevención secundaria 103
4.2.3.3 Prevención terciaria 104
4.2.4 A nivel económico 105
4.2.4.1 Costes de ejecución 105
5 DISCUSIÓN 108
6 CONCLUSIONES 125

7 ANEXOS 130
8 BIBLIOGRAFÍA 157

Índice de tablas

Tabla 1. Subtipos hormonales de cáncer de mama según la clasificación de Perou et al. 11

Tabla 2. Clasificación del cáncer de mama según criterios de imagen 12

Tabla 3. Principales factores de riesgo en el desarrollo del cáncer de mama y ovario. 18

Tabla 4. Genes de alta y moderada penetrancia relacionados con el CMOH..... 24

Tabla 5. Sistema de clasificación propuesto para variantes de secuencia identificadas mediante pruebas genéticas 35

Tabla 6. Criterios de inclusión para el estudio de cohortes según las directrices definidas de la SEOM..... 61

Tabla 7. Genes incluidos en el panel comercial HCS de Sophia Genetics (CE/IVD)..... 66

Tabla 8. Variantes patogénicas y probablemente patogénicas identificadas en este estudio 80

Tabla 9. Variantes patogénicas no descritas identificadas y reportadas en ClinVar (número de acceso SUB6135852) 82

Tabla 10. VUS identificadas en este estudio tras la revisión de variantes en el año 2020 85

Tabla 11. Variantes de significado incierto no descritas identificadas y enviadas a ClinVar (SUB6135852) 87

Tabla 12. Características clínico-patológicas y genéticas de la cohorte de estudio 88

Tabla 13. Clasificación de los pacientes según los criterios de inclusión obtenidos en la consulta de asesoramiento genético 95

Tabla 14. Pacientes sanas portadoras de una VP/VPP derivadas a consulta de seguimiento de alto riesgo 103

Tabla 15. Pacientes en tratamiento con olaparib portadoras de una variante patogénica en BRCA1 o BRCA2 105

Tabla 16. Costes aproximados según el tipo de estudio realizado 106

Tabla 17. Resumen de las recomendaciones ASCO 2024 sobre estudio genético en línea germinal para pacientes con cáncer de mama 115

Índice de figuras

Figura 1. Cifras estimadas de incidencia y mortalidad de cáncer de mama en mujeres (edad <80 años) 2

Figura 2. Tendencias de la incidencia del cáncer de mama en mujeres. Provincia de Granada, 1985-2018 4

Figura 3. Cifras estimadas de incidencia y mortalidad de cáncer de mama en mujeres (edad <80 años) 5

Figura 4. Tendencias de la incidencia del cáncer de ovario. Provincia de Granada, 1985-2018 6

Figura 5. Morfología de la mama 8

Figura 6. Localización de los ovarios en el aparato reproductor femenino 14

Figura 7. Clasificación y frecuencia del cáncer de mama y ovario esporádico, familiar y hereditario 20

Figura 8. Evolución en el tiempo de las técnicas de biología molecular 31

Figura 9. Ejemplo de genograma a un caso índice con cáncer de mama recogido en la consulta de asesoramiento genético pre-test 40

Figura 10. Categorías principales de prevención para el cáncer 41

Figura 11. Evolución de las técnicas de biología molecular en nuestro centro 60

Figura 12. Esquema resumen de las etapas de NGS de Sophia Genetics 67

Figura 13. Análisis bioinformático realizado por la plataforma Sophia DDM ® 68

Figura 14. Representación gráfica de la recogida de datos de los pacientes desde el momento del diagnóstico genético 72

Figura 15. Gráficos circulares que describen el diseño del estudio y la distribución de la población para las diferentes variantes genéticas 78

Figura 16. Comparación entre ambas tecnologías respecto a la patogenicidad de las variantes (A) y comparación entre ambas tecnologías respecto a la detección de variantes patogénicas en los genes BRCA1 y BRCA2 (B) 79

Figura 17. Reclasificación de variantes de significado incierto realizada en el año 2020 83

Figura 18. Evolución de las VUS detectadas en los genes BRCA1 y BRCA2 frente al resto de genes disponibles en el panel multigénico tras su primera revisión en el año 2020 84

Figura 19. Número de fallecimientos a fecha 31 de diciembre de 2023 de los pacientes portadores de una variante patogénica o probablemente patogénica 90

Figura 20. Relación de número de exitus en función del gen que presenta la alteración genética 92

Figura 21. Edad de aparición del primer tumor agrupado por variante genética. Gráficos de dispersión que muestran la distribución de la edad de aparición del cáncer teniendo en cuenta el gen en el que se encuentra la variante de línea germinal heterocigota 93

Figura 22. Evolución del número de casos en la consulta de asesoramiento genético entre los años 2013 a 2018 97

Figura 23. Comparativa entre pacientes sometidos a cirugía profiláctica reductora de riesgo frente a pacientes que optaron por seguimiento clínico 99

Figura 24. Medidas profilácticas en función del gen que porta la variante patogénica/ probablemente patogénica 100

Figura 25. Relación de la edad de realización del test genético y las medidas adoptadas 101

Figura 26. Etapas del procedimiento de TGP actualizado a fecha 17/05/2024 102

Figura 27. Comparativa económica entre la realización de secuenciación Sanger y MLPA, y la realización de paneles multigénicos mediante NGS en nuestro centro (internalización), en contraste con el envío de muestras a un laboratorio externo (externalización) 107

Figura 28. Representación gráfica de los estudios previos de pruebas genéticas en pacientes con cáncer de mama y ovario hereditario en España por regiones 110

1 INTRODUCCIÓN

1.1 CÁNCER DE MAMA Y OVARIO

1.1.1 Epidemiología

1.1.1.1 Incidencia y mortalidad del cáncer de mama

El cáncer de mama es el segundo cáncer más frecuente a nivel mundial y el primero entre las mujeres. Además, constituye una de las principales causas de mortalidad en el mundo. Según los datos del Observatorio Mundial del Cáncer (GLOBOCAN) de incidencia y mortalidad por cáncer producidas por la IARC (*International Agency for Research on Cancer*), a nivel global en el año 2020 hubo un total de 2.261.419 (11.7%) nuevos casos de cáncer de mama y 684.996 (6.9%) fallecimientos por esa causa (1). Situándose como el cáncer más incidente y con mayor número de defunciones en mujeres en todo el mundo (2).

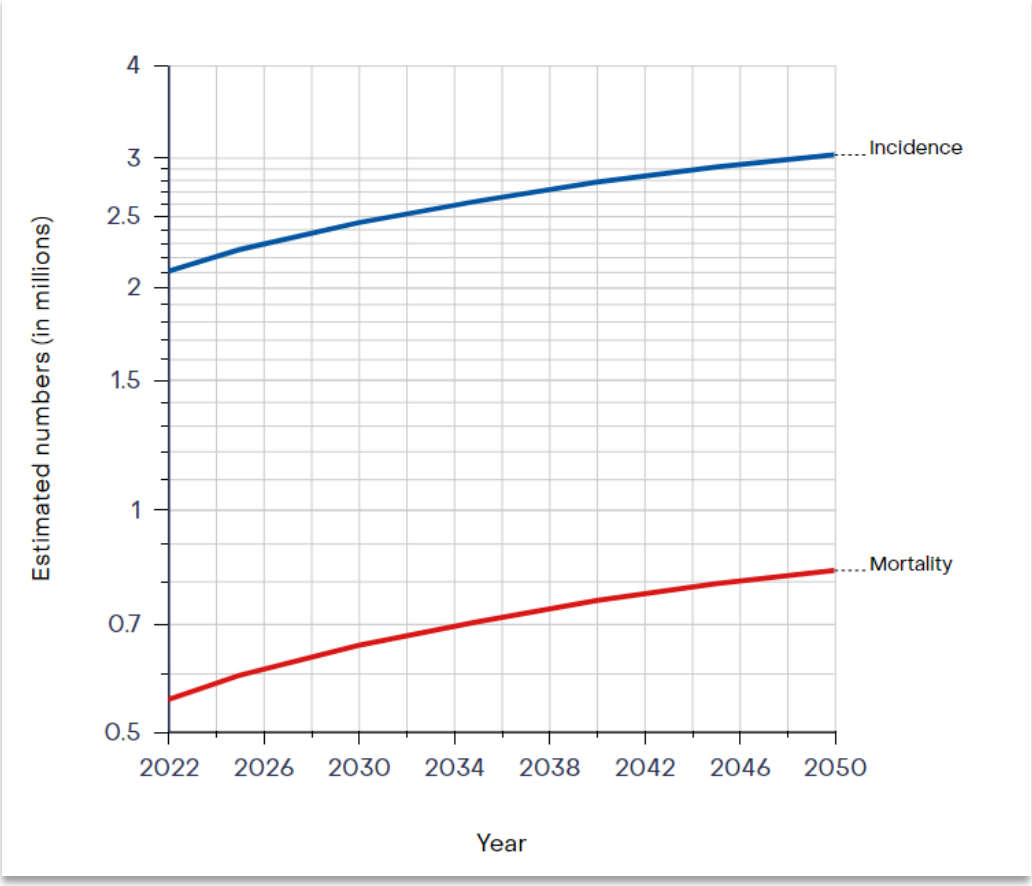


Figura 1. Cifras estimadas de incidencia y mortalidad de cáncer de mama en mujeres (edad <80 años)

Fuente: Global Cancer Observatory. Cancer tomorrow 2022-2050.

En la Figura 1, se expone la estimación de casos de cáncer de mama y de ovario en mujeres desde el año 2022 hasta el año 2050, pudiendo observarse un incremento tanto en el número de casos como en la mortalidad.

En el año 2020 se notificaron en Estados Unidos 239.612 nuevos casos de cáncer de mama en mujeres y 42.273 fallecieron a causa de esta neoplasia. Por cada 100.000 mujeres, se registraron 119 nuevos casos de cáncer de mama femenino y 19 mujeres murieron a causa de este cáncer (3). La estimación de casos para el año 2023 según la ACS (*American Cancer Society)* fue de 297.790 para cáncer de mama femenino (15,2% del total de cánceres para ambos sexos y un 31,4% para el total de tumores en mujeres) y 43.170 muertes por este tipo de cáncer (un 7,08% del total de los fallecimientos por cáncer en ambos sexos y un 15% en referencia a las mujeres). Además, se ha observado que las tasas de cáncer de mama invasivo han aumentado un 0,5% al año desde la década de los 2000, probablemente debido a problemas relacionados con el sobrepeso o a características reproductivas como disminución de la tasa de fertilidad y aumento de la edad del primer parto. Sin embargo, gracias a las técnicas de diagnóstico precoz desarrolladas en los últimos años, la tasa de mortalidad ha disminuido un 43% en el año 2020 (4).

A nivel europeo, según la predicción del Sistema Europeo de Información sobre el Cáncer (ECIS), en el año 2020, se estimaron un total de 355.457 nuevos casos de cáncer de mama en mujeres y 91.826 muertes. El riesgo estimado de desarrollar cáncer de mama a la edad de 74 años es de 1 entre 11 (5).

En nuestro país, la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) en colaboración con la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN) han elaborado recientemente un informe con carácter anual llamado “Las cifras del cáncer en España 2024” donde se recogen los últimos datos sobre la incidencia, prevalencia, mortalidad y supervivencia de cáncer en España. En el año 2022 se diagnosticaron un total de 34.722 casos de cáncer de mama. Según este documento, para el año 2024 se estima que el cáncer de mama continuará siendo el más frecuente en mujeres con 36.395 nuevos casos (6).

En la provincia de Granada con una población de más de 920.000 habitantes, existe desde el año 1985 el registro de cáncer adscrito a la Escuela Andaluza de Salud Pública (EASP) y es uno de los 14 registros de cáncer de población en España acreditados por la IARC. Según sus datos, en los años 2016-2018 se registraron un total de 1.680 casos nuevos de cáncer de mama en mujeres (1 de cada 13 mujeres), con un total de 348 defunciones (razón mortalidad-incidencia 20,7%) (7).

Con respecto a la tendencia de incidencia de cáncer de mama en mujeres por grupos de edad en la provincia de Granada desde el año 1985 hasta el año 2018, el Registro de Cáncer de Granada ha observado un aumento en el porcentaje de cambio anual (PCA) en todos los grupos de edad experimentando un PCA = +2.3% (p<0,05) (Figura 2).

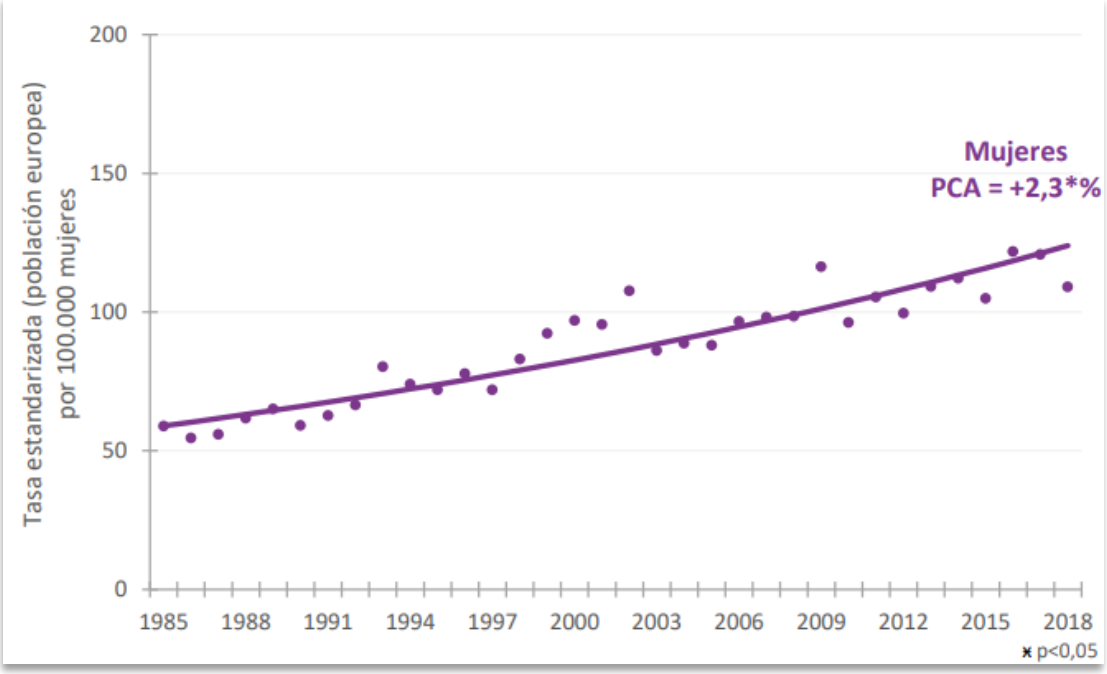


Figura 2. Tendencias de la incidencia del cáncer de mama en mujeres. Provincia de Granada, 1985-2018

Fuente: Datos de Granada del Registro de Cáncer de Andalucía, EASP.

1.1.1.2 Incidencia y mortalidad del cáncer de ovario

El cáncer de ovario, continúa siendo el tumor ginecológico que más fallecimientos provoca y constituye la octava causa más común de muerte por cáncer entre las mujeres a nivel mundial debido a la dificultad del diagnóstico precoz y que una vez que se diagnostica suele ser en estadios avanzados (8–10).

En 2020 se diagnosticaron en el mundo 313.959 nuevos casos de cáncer de ovario y un total de 207.252 nuevas muertes por este tipo de cáncer según los datos del Observatorio Mundial del Cáncer (11).

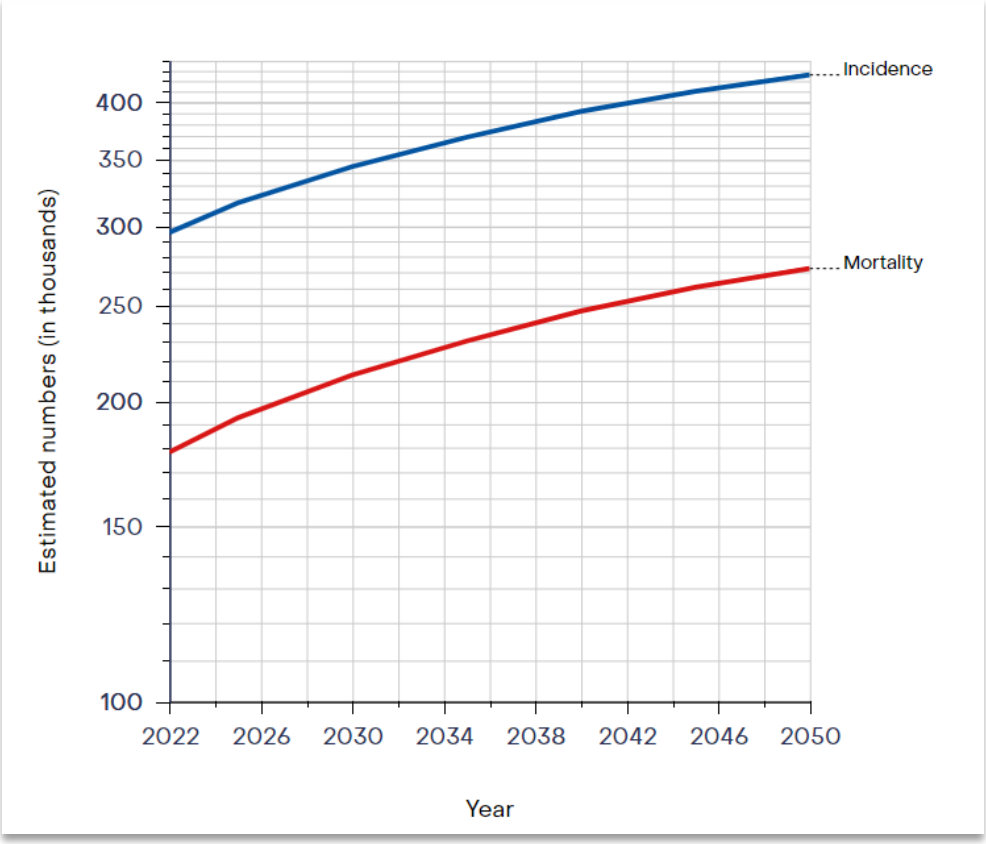


Figura 3. Cifras estimadas de incidencia y mortalidad de cáncer de mama en mujeres (edad <80 años)

Fuente: Global Cancer Observatory. Cancer tomorrow 2022-2050.

La Sociedad Estadounidense del Cáncer estima que durante el año 2024 se diagnosticarán alrededor de 19.680 nuevos casos de cáncer de ovario y 12.740 mujeres morirán de cáncer de ovario en los Estados Unidos.

En España, según la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC), en España se diagnostican una media de 3.500 casos al año. Pese a que no es el tumor más frecuente en mujeres, presenta una elevada mortalidad, estimándose una media de unas 2.000 defunciones anuales (6,12).

En la provincia de Granada, la tendencia de la incidencia de cáncer de ovario en mujeres según los datos recogidos por el Registro de Cáncer de Granada se observa que desde el año 2000 se ha producido un descenso en el total de casos hasta el año 2018 con un porcentaje PCA= -2% ($p < 0,05$) (Figura 4).

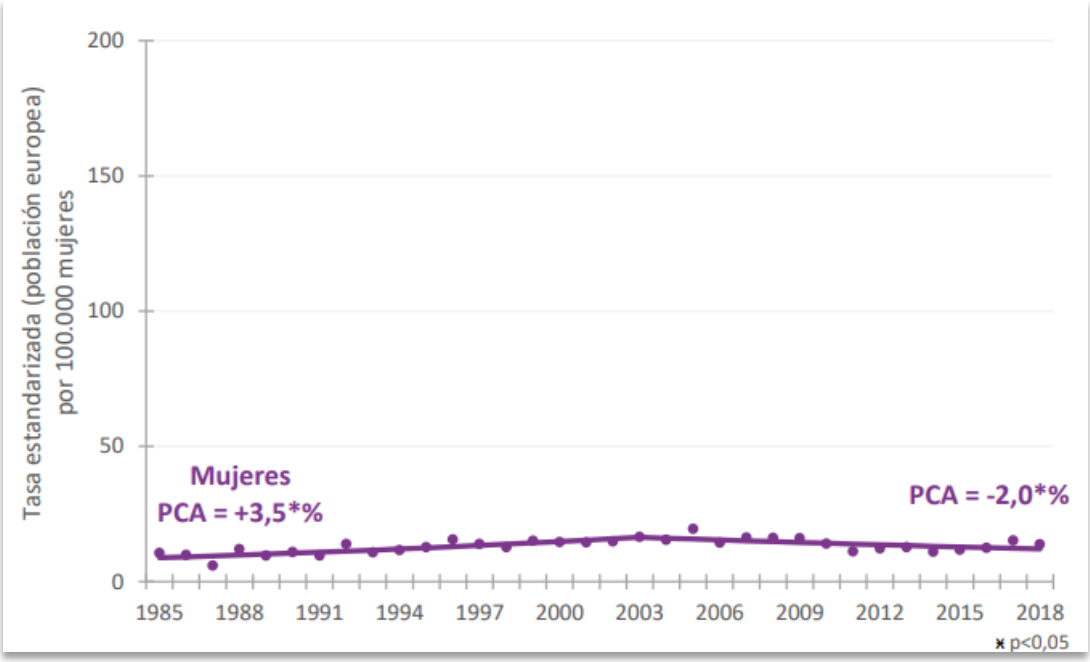


Figura 4. Tendencias de la incidencia del cáncer de ovario. Provincia de Granada, 1985-2018

Fuente: Datos de Granada del Registro de Cáncer de Andalucía, EASP.

Es importante tener en cuenta que los datos sobre la incidencia de casos de cáncer referentes al año 2020, y en menor medida en los años siguientes, pueden haber sido afectados por la pandemia mundial de COVID-19, la cual provocó un cambio radical en el abordaje médico de los pacientes. Esto pudo retrasar nuevos diagnósticos, seguimientos clínicos y tratamientos de quimioterapia. Los pacientes oncológicos constituyen un grupo vulnerable a los efectos del virus SARS-CoV-2; sin embargo, debido a los cambios en la atención médica que pudieron demorar la realización de pruebas de detección y seguimiento clínico, los datos sobre la incidencia del cáncer de mama y otros tipos de tumores pueden haber sido infradiagnosticados, registrándose durante el año 2020 un menor número de casos de los que realmente se produjeron (13,14).

1.1.2 Clasificación y fisiopatología

1.1.2.1 Cáncer de mama

La mama está compuesta por unos 15-20 lóbulos, los cuales se dividen a su vez en lobulillos. Estos lobulillos son los encargados de producir la leche durante la lactancia materna en respuesta a la estimulación hormonal. Esta leche fluye hasta el pezón por unos canales o ductos. En la mama se encuentra además tejido linfático (vasos y ganglios) que tienen la función de protección, y grasa y tejido fibroso que rellenan el interior de la mama (Figura 5).

El desarrollo del cáncer de mama suele diagnosticarse con la detección de un nódulo mediante autoexploración física de la mama o en un examen rutinario, acompañado o no de otros síntomas como deformación de la mama o secreción a través del pezón (15).

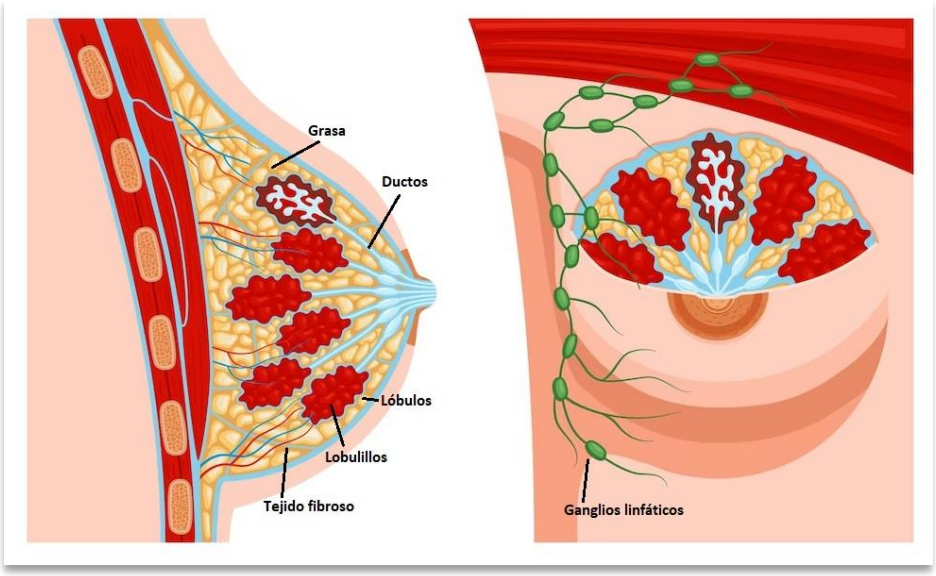


Figura 5. Morfología de la mama

Fuente: Imagen gratuita adaptada de www.freepik.es

♦ Estadiaje y tipos histológicos

Tal y como ocurre con otros tipos de tumores, el cáncer de mama se clasifica en estadios según la magnitud de la enfermedad. En este sentido, el manual desarrollado por *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) se ha convertido en el estándar para clasificar el tipo de cáncer, así como establecer un pronóstico y el tratamiento más adecuado. En concreto, en el año 1977 se publicó la primera edición del manual se estadificación del cáncer de mama donde se comenzó a utilizar el sistema TNM, donde T se refiere a tamaño del tumor, N indica extensión a los ganglios linfáticos y M presencia de metástasis (16,17). Estas categorías se combinan para determinar el estadio anatómico general, que va desde el estadio 0 o carcinoma in situ hasta el estadio IV el cual se corresponde con cáncer de mama avanzado y metástasis (18,19).

Las revisiones recientes del manual de estadificación del AJCC subrayan un cambio de paradigma hacia la integración de marcadores biológicos con criterios anatómicos tradicionales para refinar las estrategias de pronóstico y tratamiento (19–21).

La octava edición del "Manual de estadificación del cáncer" del AJCC representa una evolución significativa con respecto a sus predecesores al incorporar factores no anatómicos como el grado del tumor, el receptor de estrógeno (RE), el receptor de progesterona (RP), el estado del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), y perfiles de expresión genética en la estadificación del cáncer de mama (20,22). Esta integración reconoce la heterogeneidad dentro de cada etapa basada en características moleculares que pueden influir significativamente en el pronóstico y la respuesta a la terapia.

Además, los avances en las tecnologías genómicas han facilitado la adopción de ensayos multigénicos como Oncotype DX®, que cuantifica el riesgo de recurrencia basándose en patrones de expresión genética que permiten una mayor individualización de los planes de tratamiento, particularmente en la enfermedad con receptores hormonales positivos en etapa temprana (23–25). Estas herramientas ejemplifican cómo los principios de la medicina de precisión se están integrando en la práctica clínica a través de sistemas de estadificación.

El cáncer de mama puede clasificarse en dos tipos principales según su comportamiento en relación con los tejidos circundantes: invasivo (también conocido como infiltrante) y no invasivo (también llamado *in situ*). El cáncer de mama no invasivo se divide a su vez en carcinoma lobulillar in situ (LCIS) y carcinoma ductal in situ (DCIS).

El LCIS presenta lesiones en la glándula mamaria (lobulillos) constituyendo un factor de riesgo para desarrollar cáncer de mama invasivo. El DCIS es más heterogéneo desde el punto de vista morfológico y afecta a los conductos galactóforos que aún no se han propagado por el resto del tejido mamario, por lo que constituye también un estado preinvasivo. Este incluye 4 subtipos: papilar, cribiforme, sólido y comedón.

Los tumores de mama invasivos se caracterizan por presentar infiltración de células al azar que van formando láminas alterando la forma y función de la glándula. Pueden clasificarse según su localización en cáncer ductal invasivo (CDI) y cáncer lobulillar invasivo (CLI).

El CDI representa entre el 50-70% del total de los cánceres invasivos. Este tipo tiende a crecer como una masa cohesiva, palpándose como un bulto de pequeño tamaño, que puede pasar desapercibido al examen físico o incluso a una mamografía. El CLI representa aproximadamente el 10% de los tumores de mama invasivos, sin embargo, es muy común encontrar informes anatomopatológicos donde se describen cánceres ductales y lobulillares mixtos (15).

♦ Inmunohistoquímica

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, la clasificación más aceptada se basa en la expresión de ciertos receptores hormonales: estrógenos, progesterona y HER2. Otro marcador inmunohistoquímico utilizado para clasificar la evolución del cáncer de mama es el Ki67. Este marcador nuclear se expresa en todas las fases del ciclo celular distintas de la fase G0, por lo que está fuertemente relacionada con la proliferación y el crecimiento de células tumorales y se evalúa de forma rutinaria como marcador de proliferación (26).

De acuerdo a la expresión o ausencia de receptores hormonales mencionados previamente, según la clasificación de Perou et al., se distinguen en 4 grupos: Luminal A, Luminal B, HER2 positivo y triple negativo (TN) (27). En la Tabla 1 se indican las principales características de cada subtipo histológico.

Tabla 1. Subtipos hormonales de cáncer de mama según la clasificación de Perou et al.

Adaptada de: Orrantia-Borunda et al., 2022 (28).

	LUMINAL A	LUMINAL B	HER2	TRIPLE NEGATIVO
Receptor Estrógenos	+	+	+/-	-
Receptor Progesterona	+	+/-	+/-	-
HER2	-	-	+	-
Marcador de proliferación (Ki67) (29)	<20%	>20%	Elevado	Elevado
Crecimiento	Lento	Rápido	Más rápido que subtipos luminales	Muy rápido
Pronóstico	Bueno	Peor que Luminal A	Peor que subtipos luminales	Malo
Respuesta a tratamiento	Sí, tratamiento hormonal (inhibidores de la aromatasa, tamoxifeno) No a quimioterapia	Sí, tratamiento hormonal y quimioterapia	Sí, terapias dirigidas a HER2: Anticuerpos monoclonales (trastuzumab, pertuzumab)	Muy limitada. Quimioterapia sola o en combinación con cirugía (mastectomía)
Frecuencia (%)	50	15	20	15

Otro sistema muy utilizado para la clasificación de las alteraciones mamarias es el llamado BI-RADS (del inglés: *Breast Imaging Reporting and Data System*), este sistema establece diferentes categorías según el grado de sospecha obtenido tras una prueba de imagen, en este caso mamografía, aunque también puede aplicarse a ecografía y resonancia magnética nuclear. La mamografía constituye uno de los principales pilares para el diagnóstico del cáncer de mama, sin embargo, su sensibilidad puede verse reducida en función de la densidad mamaria que depende a su vez del tejido fibrótico y del tejido graso. El sistema BI-RADS fue desarrollado por el Colegio Americano de Radiología en el año 1993 para estandarizar los informes mamográficos, por lo que constituye un sistema universal y de calidad para los informes de patología mamaria (30).

La clasificación BI-RADS incluye categorías de 0 a 6 en función de los hallazgos obtenidos en la prueba de imagen, tal y como se resume en la Tabla 2 (31):

Tabla 2. Clasificación del cáncer de mama según criterios de imagen

BI-RADS 0	Evaluación incompleta	Requiere imágenes adicionales
BI-RADS 1	Resultado negativo	No se observan masas ni calcificaciones sospechosas
BI-RADS 2	Hallazgos benignos	Se incluyen quistes simples, fibroadenomas calcificados, lipomas…
BI-RADS 3	Probablemente benigno	Revisiones periódicas
BI-RADS 4	Hallazgos sospechosos. Generalmente se confirma a través de una biopsia	4A: Baja sospecha de malignidad (2 a 10% riesgo de cáncer)
		4B: Moderada sospecha de malignidad (11 a 50% riesgo de cáncer)
		4C: Alta sospecha de malignidad (51 a 95% riesgo de cáncer)
BI-RADS 5	Alto riesgo de cáncer. Realizar biopsia	Riesgo de desarrollar cáncer del 95%
BI-RADS 6	Lesión maligna conocida	Pacientes que ya tienen diagnóstico de cáncer

♦ Diagnóstico

El diagnóstico del cáncer de mama (CM) ha evolucionado significativamente con los avances en las tecnologías de imágenes. El objetivo principal sigue siendo la detección temprana y la caracterización precisa de las lesiones mamarias para guiar las estrategias de tratamiento adecuadas.

La mamografía es el método más utilizado para el cribado del cáncer de mama, pero tiene algunas limitaciones, especialmente en mujeres con mamas densas donde su sensibilidad disminuye (32). Para superar estas limitaciones se han explorado modalidades de detección complementarias, como la tomosíntesis digital de mama, la resonancia magnética nuclear (RMN) y la ecografía automatizada. Una revisión sistemática destacó que la RMN es superior a otras modalidades complementarias para detectar cánceres que la mamografía no es capaz de identificar en mujeres con alta densidad mamaria (32).

En España, la situación general para el cribado poblacional del cáncer de mama del Ministerio de Sanidad establece desde el año 1990 la realización de mamografías en todas las mujeres cada dos años entre los 50 y 69 años como medida para reducir la mortalidad en mujeres en este grupo de edad (33). En el año 2022, la Unión Europea a través del "Plan Europeo de Lucha Contra el Cáncer" recomendó la inclusión en los programas de cribado a las mujeres entre los 45 y los 74 años (34). Desde entonces, algunas Comunidades Autónomas de España están ampliando los rangos de edad de cribado poblacional del cáncer de mama.

La biopsia de tejido sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico del cáncer de mama. Técnicas como la aspiración con aguja fina (PAAF), la biopsia con aguja gruesa (BAG) o la escisión quirúrgica se emplean según el criterio clínico después de que las pruebas de imagen iniciales como la mamografía o la ecografía muestran hallazgos sospechosos (35). El examen histológico posterior a la biopsia proporciona información detallada sobre el tipo de tumor, el grado y el estado del receptor hormonal, entre otros marcadores esenciales para adaptar los planes de tratamiento específicos del paciente.

El futuro más prometedor en el diagnóstico del cáncer de mama es la biopsia líquida, ya que ofrece medios no invasivos para detectar biomarcadores circulantes como células tumorales (CTC), ADN libre de células (cfDNA) y ADN tumoral circulante (ctDNA). Publicaciones recientes destacan el potencial de las CTC como un enfoque novedoso para la prevención y tratamiento del cáncer en poblaciones en riesgo durante etapas pretumorales (36–38).

1.1.2.2 Cáncer de ovario

Los ovarios son las gónadas femeninas encargadas de producir los óvulos para la reproducción y hormonas femeninas (estrógenos y progesterona). Estas hormonas están relacionadas con la ovulación y la fecundación. Además, son responsables de los rasgos sexuales femeninos, como el desarrollo de las mamas.

Como se puede observar en la Figura 6 se localizan a ambos lados del útero, a la altura de la pelvis.

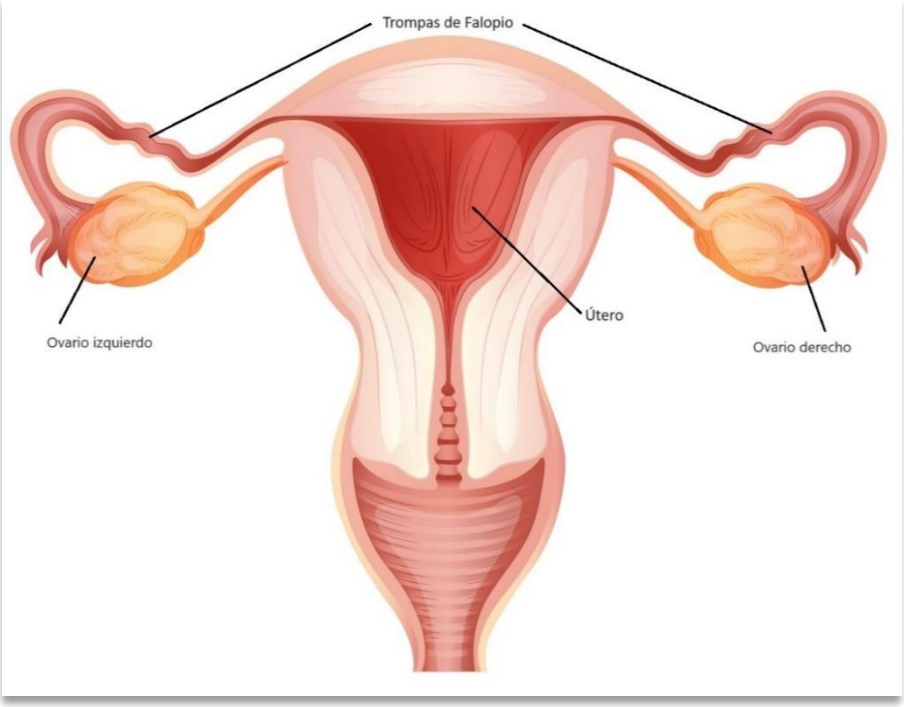


Figura 6. Localización de los ovarios en el aparato reproductor femenino

Fuente: Imagen gratuita adaptada de www.freepik.es

En cuanto a su estructura interna se dividen en corteza y médula. La corteza incluye el cuerpo lúteo, el cuerpo albicans y los folículos ováricos, y la médula que contiene los vasos sanguíneos y los nervios.

♦ Tipos y estadificación

La Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) definió inicialmente la estadificación del cáncer de ovario en 1988, con importantes revisiones realizadas en 2014 (39,40). Estos cambios reflejan avances en la comprensión de la fisiopatología, la genética y los patrones de propagación del cáncer de ovario, incluido su origen, a menudo relacionado con las trompas de Falopio o el peritoneo (41). Esta revisión fue crucial ya que incorporó nuevos conocimientos científicos sobre los patrones de propagación de la enfermedad, en particular reconociendo que muchos carcinomas serosos de alto grado, el subtipo más común de cáncer de ovario, probablemente se originan en las trompas de Falopio distales en lugar de en los ovarios mismos (40).

La categorización clásica de la FIGO incluye cuatro etapas de la I a la IV en función del grado de propagación del cáncer, que además se subdividen en otras etapas denominadas mediante letras (A, B y C). Las modificaciones significativas incluyeron la subdivisión del estadio IC en tres categorías según criterios específicos relacionados con la ruptura del tumor o la presencia fuera del ovario antes de la cirugía y el estadio IIIC se perfeccionó para distinguir entre afectación de los ganglios linfáticos retroperitoneales sin diseminación intraperitoneal (40,42).

Según el tipo de célula afectada, los tumores de ovarios pueden ser de tres tipos (43):

- ✓ Epiteliales, cuyas células recubren la superficie exterior del ovario. Constituyen entre el 85-90% de todas las neoplasias de ovario (42).
- ✓ Germinales, los cuales tienen su origen en las células reproductoras (óvulos).
- ✓ Estromales, son los que se originan en los tejidos que soportan los ovarios. Generalmente, se observan en pacientes más jóvenes, a menudo en etapas tempranas, lo que suele asociarse con mejores pronósticos (44).

Dentro del grupo mayoritario, que son los cánceres epiteliales, se conocen varios subtipos: seroso, mucinoso, endometrioide y de células claras. El carcinoma seroso de ovario es el subtipo más común, aproximadamente un 90% puede catalogarse como de alto grado, es decir, que presentan alta actividad proliferativa con progresión rápida y agresiva. El mucinoso suele tener una naturaleza heterogénea, pudiendo coexistir tumores malignos y benignos en una misma muestra, suele presentar mejor pronóstico que el tipo seroso. El endometrioide, se considera que proviene de la endometriosis, generalmente se diagnostica en una etapa temprana por lo que suele tener buen pronóstico. Los tumores de células claras son los menos prevalentes (<5%) y generalmente presentan buen pronóstico al diagnosticarse en etapas precoces (45).

♦ Diagnóstico

El diagnóstico de cáncer de ovario (CO) sigue siendo un desafío importante debido a su naturaleza asintomática en etapas tempranas y la falta de herramientas de detección efectivas (8,10). A pesar de los avances en las técnicas de imagen y la identificación de biomarcadores, las tasas de mortalidad se han mantenido relativamente sin cambios a lo largo de los años (9,46).

La ecografía transvaginal y los niveles séricos del marcador tumoral CA-125 son actualmente los métodos de diagnóstico más utilizados para la detección del cáncer de ovario. Sin embargo, su especificidad y sensibilidad no son suficientes para la detección temprana ni como herramientas de detección eficaces (47,48). Por esta razón, a diferencia del cáncer de mama, no se recomienda la realización del cribado poblacional para la detección del cáncer de ovario.

Se han logrado avances recientes en la identificación de nuevos biomarcadores como la proteína 4 del epidídimo humano (HE4) dentro de la familia de proteínas del suero/cuatro disulfuros. HE4 muestra una sensibilidad mejorada con respecto al CA-125 para la detección del CO en etapa temprana, pero aún carece de especificidad suficiente cuando se usa solo (49). El uso de múltiples biomarcadores, como el uso del índice ROMA que combina CA-125, HE4 junto con el estado pre o postmenopáusico de la mujer

puede predecir el riesgo de malignidad, pero no proporciona ningún beneficio adicional como herramienta de detección (47).

Es por ello que existe una necesidad importante de desarrollar pruebas no invasivas capaces de realizar una detección temprana eficaz para mejorar significativamente los resultados de supervivencia. Los marcadores basados en orina representan una de esas áreas prometedoras que se están investigando debido a su potencial facilidad de uso en comparación con métodos de muestreo más invasivos como ultrasonido transvaginal o análisis de sangre (46).

Al igual que ocurre en el caso del cáncer de mama, las perspectivas de futuro se centran en el análisis de ctDNA y CTC mediante biopsia líquida. Esta técnica pretender abordar la detección precoz, diagnóstico, pronóstico, estadificación, respuesta al tratamiento, monitorización del seguimiento y posibles recaídas de la enfermedad, para que junto con otros marcadores puedan utilizarse de manera rutinaria en el cáncer de ovario (50–52).

1.1.3 Factores de riesgo en el desarrollo del cáncer de mama y ovario

Tanto el cáncer de mama como el cáncer de ovario suponen un importante problema de salud pública a nivel mundial, con etiologías multifactoriales que involucran predisposiciones genéticas y diversos factores ambientales y de estilo de vida.

En la actualidad se conocen numerosos factores de riesgo que pueden aumentar la predisposición a sufrir cáncer de mama y ovario. Estos pueden agruparse según causas demográficas, causas relacionadas con el embarazo y lactancia, causas hormonales, estructura propia de la mama y enfermedades mamarias, estilo de vida y factores genéticos y hereditarios. De manera más específica, en la Tabla 3 se detallan los principales factores de riesgo que se asocian tanto al desarrollo del CM como al CO (53,54):

Tabla 3. Principales factores de riesgo en el desarrollo del cáncer de mama y ovario.

Fuente: Tabla adaptada de Momenimovahed Z et al. 2019 y Whelan E et al. 2022

FACTORES DE RIESGO		CÁNCER MAMA	CÁNCER OVARIO
DEMOGRÁFICOS	Edad avanzada	Constituye el factor de riesgo más conocido para desarrollar cáncer	Mujeres postmenopáusicas y >65 años (55,56)
	Sexo femenino	Menos frecuente en hombres (<1%)	No en hombres
HORMONALES Y REPRODUCTIVOS	Menarquia temprana	Algunos estudios han relacionado que una menarquia temprana se relaciona con un mayor riesgo de CM (57,58)	En un metaanálisis la edad de la menarquia se asoció inversamente con el riesgo de cáncer de ovario (59)
	Menopausia tardía	Por encima de los 50 años se asocia con mayor riesgo de cáncer de mama (58)	La menopausia tardía podría estar asociada con un mayor riesgo de cáncer de ovario, (mayor exposición a hormonas sexuales a lo largo de la vida reproductiva) (60,61)
	Edad primer embarazo	El riesgo aumenta a mayor edad materna del primer embarazo (62)	Aumento del riesgo en mujeres nulíparas y cuyo primer embarazo fue >35 años (63,64)
	Fármacos anticonceptivos orales	Se ha relacionado con un aumento del riesgo relativo de CM (65)	Cada 5 años adicionales de uso puede reducir el riesgo un 20%, con una reducción del 50% a largo plazo (65,66)
	Terapia hormonal sustitutiva (TRH)	Varios estudios relacionan el uso de terapia hormonal postmenopáusica con un aumento de desarrollar cáncer de mama (67,68)	Las mujeres que utilizan TRH tienen un mayor riesgo de sufrir cáncer de ovario (69)
FISIOLOGÍA MAMARIA	Densidad mamaria	Una alta densidad mamaria se ha relacionado con un mayor riesgo de presentar cáncer de mama (70,71)	N/A

	Duración lactancia materna	Una mayor duración de la lactancia materna parece conferir mayor efecto protector frente al CM y en concreto con receptores hormonales negativos (72,73)	La lactancia materna se asocia con una disminución en el riesgo de CO en general y para el subtipo seroso de alto grado (60,74)
ESTILO DE VIDA O FACTORES MODIFICABLES	Obesidad	Aumento en el riesgo de desarrollar CM principalmente en mujeres postmenopáusicas (75). Además, las mujeres obsesas con CM presentan peor supervivencia global y más complicaciones (76)	La obesidad también se ha relacionado con un mayor riesgo de padecer CO (77)
	Tabaquismo	Relación dosis-respuesta entre el tabaquismo y el aumento de riesgo de desarrollar cáncer de mama (78,79)	La asociación entre el tabaquismo y el riesgo de cáncer de ovario puede variar según el subtipo histológico del tumor. Parece que hay un aumento del riesgo de cáncer de ovario mucinoso (80,81)
	Alcohol	El efecto carcinógeno del alcohol puede contribuir al riesgo de desarrollar cáncer de mama (82,83)	Según un metaanálisis integral no proporcionó evidencia de una asociación entre el consumo de alcohol y el riesgo de CO (84)
FACTORES GENÉTICOS Y HEREDITARIOS	Antecedentes familiares de CM y/o CO	La historia familiar de CM y/o CO es uno de los principales factores de riesgo para desarrollar cáncer de mama y ovario. Según diferentes estudios, mujeres que presentan familiares de primer grado afectos de CM/CO tienen mayor probabilidad de desarrollar estos tipos de cáncer, aunque no sean portadoras de variantes patogénicas en genes de predisposición al CMOH (85,86)	
	Variantes patogénicas en genes de predisposición al cáncer	El riesgo acumulado de cáncer de mama hasta los 80 años es alrededor del 70% en mujeres portadoras en *BRCA1* y del 69% para las portadoras en *BRCA2* (87)	El riesgo acumulado de cáncer de ovario hasta los 80 años es alrededor del 40% para las portadoras en *BRCA1* y del 17% para *BRCA2* (87)

1.1.4 Genética del cáncer de mama y ovario hereditarios

El cáncer puede clasificarse en tres categorías principales en función de su relación con la genética y los antecedentes familiares. Según su etiología el cáncer de mama y ovario se puede clasificar en tres tipos (Figura 7):

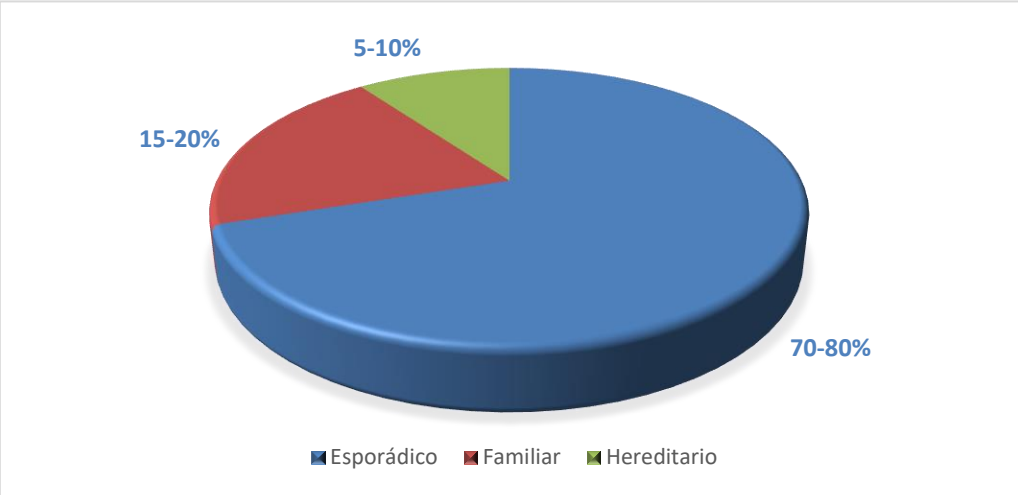


Figura 7. Clasificación y frecuencia del cáncer de mama y ovario esporádico, familiar y hereditario

Fuente: Adaptado de "Cáncer de mama y ovario hereditario: consejo genético, seguimiento y reducción del riesgo" por Graña et al. 2012 (88)

El cáncer esporádico es el tipo más común de cáncer y ocurre de manera aleatoria sin una predisposición genética conocida o un historial familiar significativo de la enfermedad. En estos casos, se desarrolla debido a mutaciones somáticas, que son el resultado de errores aleatorios en la replicación del ADN, la exposición a factores ambientales dañinos o una combinación de ambos. Esta condición no se transmite a la descendencia y constituye aproximadamente 70-80% de todos los cánceres de mama y ovario (88).

En el cáncer familiar, puede haber una incidencia ligeramente elevada de cáncer en una familia, pero no se observa un patrón claro de herencia genética. Los miembros de la familia pueden compartir ciertos factores de riesgo ambientales o de estilo de vida que

contribuyen al desarrollo del cáncer. Constituye aproximadamente un 10-20% del total de casos de cáncer de mama y ovario (89).

El síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario (CMOH) es una condición genética que aumenta significativamente el riesgo de desarrollar cáncer de mama y de ovario, y en menor medida, otros tipos de cáncer como el de páncreas y próstata. En estos casos, se identifica una variante patogénica en línea germinal, es decir, que ha sido heredada de uno de los progenitores generalmente de forma autosómica dominante por lo que puede transmitirse a la descendencia con una probabilidad del 50%. Se estima que el 5-10% de los casos de cáncer de mama tiene carácter hereditario mientras que para cáncer de ovario puede llegar hasta el 25% (90).

1.1.4.1 Genes *BRCA1* y *BRCA2*

Los genes que más comúnmente se han asociado al cáncer de mama y ovario hereditario son *Breast Cancer 1* (*BRCA1*) que se localiza en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21) y consta de 24 exones y *Breast Cancer 2* (*BRCA2*) localizado en el brazo largo del cromosoma 13 (13q12) con 27 exones. Estos genes se incluyen en la familia de genes supresores de tumores cuya función es reparar los daños producidos en el ADN y mantener el ciclo celular, cuando se produce una mutación en alguno de estos genes estos pierden su función por lo que aumenta la probabilidad de desarrollar el tumor.

Según el estudio epidemiológico de portadores de mutaciones *BRCA1* y *BRCA2* (EMBRACE) publicado en 2013, mujeres portadoras de una variante patogénica en heterocigosis en *BRCA1* presentan un riesgo de desarrollar cáncer de mama a los 70 años del 60 % (IC 95% = 44-75 %) del 59 % (IC 95% = 43-76 %) para el cáncer de ovario. En el caso de *BRCA2*, se estima un riesgo del 55% (IC 95% = 41-70%) de CM y del 16,5% (IC 95% = 7,5-34%) de CO (91).

Pacientes afectas de cáncer de mama primario en las que se ha detectado una variante patogénica en *BRCA1* o *BRCA2* presentan mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama contralateral. Según un estudio multicéntrico, el riesgo acumulado de cáncer de mama contralateral 25 años después del primer cáncer de mama fue del 47,4% (IC 95% = 38,8-

56,0%) para pacientes de familias con mutaciones en *BRCA1* o *BRCA2* (92). Otra revisión de estudios publicados mostró rangos del 24% al 31% antes de los 40 años (*BRCA1*: 24% al 32%; *BRCA2*: 17% al 29%) y del 8% al 21% después de los 40 años (*BRCA1*: 11% al 52%; *BRCA2*: 7% a 18%), respectivamente (93).

En referencia a los varones, aunque el cáncer de mama es mucho menos común que en mujeres, variantes patogénicas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* también pueden aumentar el riesgo de cáncer de mama. Los hombres con mutaciones en *BRCA1* tienen un riesgo estimado de por vida de desarrollar cáncer de mama de alrededor del 1%, mientras que para los hombres con mutaciones en *BRCA2*, este riesgo es aún mayor, estimado en aproximadamente 6-8%. Aunque el riesgo absoluto es bajo en comparación con las mujeres, sigue siendo significativo y más alto que el riesgo general de cáncer de mama en hombres (94).

La prevalencia de portar variantes en alguno de estos genes, varía en función de poblaciones raciales o grupos étnicos. Así para la población general, la prevalencia de portadores se estima entre 1:400 y 1:500, aumentando hasta 1:10 a 1:100 para población Inuit de Ammassalik (Groenlandia) o 1:40 para los individuos de ascendencia judías askenazi debido a la presencia de variantes fundadoras. Las mujeres judías presentan una tasa de cáncer de mama diagnosticado a cualquier edad del 10% y del 21 al 31% antes de los 40 años (95,96).

Portadores de variantes patogénicas en *BRCA1/BRCA2* se han asociado además con mayor predisposición de desarrollar otros tipos de cáncer como cáncer de páncreas y cáncer de próstata en varones (97). El cáncer de páncreas constituye una de las neoplasias más agresivas, y su tasa ha aumentado en los últimos años, mutaciones en línea germinal en estos genes aumenta significativamente el riesgo de desarrollar cáncer de páncreas y se pueden encontrar hasta en el 8% de los pacientes con cáncer de páncreas esporádico (98). El cáncer de próstata es uno de los tumores más frecuente en varones, un metaanálisis y un estudio de cohorte prospectivo recientes establecen un mayor riesgo de desarrollar este tipo de cáncer a portadores de variantes en genes *BRCA* principalmente a los portadores de *BRCA2*. Así, la frecuencia de portadores de *BRCA1* se estima en un 0.9% mientras que para *BRCA2* es del 2,2%, asociándose *BRCA2* con un

mayor riesgo de cáncer de próstata (OR = 2,64, IC 95% = 2,03-3,47) frente a *BRCA1* (OR = 1,35, IC 95% = 1,03-1,76). En referencia al riesgo de desarrollar cáncer de próstata, se estima del 21% (IC 95% = 13-34 %) a los 75 años y del 29% (IC 95% = 17-45%) a los 85 años para los portadores de *BRCA1* y del 27% (IC 95% = 17-41%) y del 60% (IC 95% = 43-78%) para portadores de *BRCA2* a los 75 y 85 años respectivamente (99,100).

Otro tipo de cáncer que se debe mencionar en relación con estos genes es el melanoma. El melanoma cutáneo representa el 4% de todos los cánceres de piel, pero constituye entre el 75-80% de muertes por cáncer cutáneo (101). Según varios estudios ser portador de una variante patogénica en *BRCA2* confiere entre 2,5-2,7 veces más probabilidades de desarrollar melanoma en comparación con la población general (101,102).

1.1.4.2 Nuevos genes de alta y moderada penetrancia

Como se ha indicado anteriormente los genes *BRCA1* y *BRCA2* son los principalmente implicados en el desarrollo del CMOH, estos genes se pueden clasificar, por tanto, como genes de alta penetrancia (portadores de mutaciones germinales en heterocigosis presentan una probabilidad superior al 50% de desarrollar cáncer) que se transmiten mediante un patrón de herencia autosómico dominante.

Gracias a los avances en las técnicas de biología molecular, se han descubierto otros genes que también presentan una elevada penetrancia en relación con el CMOH, como son: *PALB2*, *TP53*, *PTEN*, *CDH1*, *STK11*, *RAD51C* y *RAD51D* y genes que presentan una penetrancia moderada (aumentan entre un 20-50% las probabilidades de desarrollar cáncer): *ATM*, *CHEK2* o *BRIP1.* Sin embargo, hasta la fecha no se dispone de información precisa y consensuada sobre el grado de penetrancia y riesgo asociado a cada gen de los que se incluyen en los paneles de técnicas de secuenciación masiva, y por lo tanto, para la mayoría de ellos no existe aún consenso para la creación de guías clínicas dificultando así el asesoramiento genético a pacientes y familiares (103). A continuación, se resumen las principales características de los genes de elevada y moderada penetrancia en el cáncer de mama y ovario hereditario (Tabla 4).

Tabla 4. Genes de alta y moderada penetrancia relacionados con el CMOH

Tabla adaptada de: Petrucelli et al (95).

GENES DE ALTA PENETRANCIA PARA CMOH			
GEN	**SÍNDROME**	**RIESGO CÁNCER MAMA 70 AÑOS**	**OTROS CÁNCERES ASOCIADOS**
BRCA1	CMOH	60%	Próstata, páncreas
BRCA2	CMOH	55%	Próstata, páncreas, melanoma
CDH1	Cáncer gástrico difuso hereditario	>40%	Cáncer gástrico difuso
PALB2	CM	35%	Páncreas
PTEN	Síndrome de Cowden	>70%	Endometrio, cáncer colorrectal (CCR), tiroides, renal, piel, neurológico
TP53	Síndrome de Li-Fraumeni	70-90%	SNC, sarcoma, CCR, glándulas adrenocorticales
STK11	Síndrome de Peutz-Jeghers	57%	Cáncer de colon, estómago, intestino delgado, páncreas, cérvix, testículo
GENES DE MODERADA PENETRANCIA PARA CMOH			
ATM	Ataxia-teleangiectasia (AR), CM	20%	
BRIP1	CO	N/A	
CHEK2	CM	20-40%	Próstata, colorrectal
MSH6	Síndrome de Lynch	>30% (104)	Cáncer de ovario, endometrio, próstata, páncreas, cerebro, piel
RAD51C/ RAD51D	CO	CMTN (21% para *RAD51C* y 20% para *RAD51D*)*	

* Riesgo estimado a los 80 años (Yang X. et al., 2020, J Natl Cancer Inst).

CDH1

Este gen codifica la proteína cadherina epitelial o E-cadherina cuya función principal es la adhesión celular para formar los diferentes tejidos, además participa en la transmisión de señales en las células y como proteína supresora de tumores, evitando el crecimiento rápido y descontrolado de las células.

Variantes patogénicas en el gen *CDH1* se relacionan con mayor predisposición al síndrome de cáncer gástrico difuso hereditario. El cáncer gástrico difuso es un adenocarcinoma generalmente indiferenciado que se infiltra en la pared del estómago. Las personas portadoras de una variante patogénica en el gen *CDH1* presentan un riesgo acumulado estimado de cáncer gástrico del 56 y el 70% (mujeres y hombres respectivamente) a los 80 años. Además, las mujeres portadoras tienen un riesgo del 42% de sufrir cáncer de mama de tipo lobulillar, con una edad promedio de aparición del cáncer de mama de 53 años (105).

PALB2

Este gen se localiza en el cromosoma 16 (16p12.2) y presenta una función similar a los genes *BRCA* ya que participa conjuntamente en la vía de reparación del ADN por recombinación homóloga. Según los datos de un estudio reciente internacional, el riesgo de desarrollar cáncer de mama hasta los 80 años fue del 53 % (IC 95% = 44-63%) para el cáncer de mama en mujeres y del 5 % (IC 95% = 2-10%) para el cáncer de ovario (106).

En relación con otros tipos de cánceres, el riesgo de desarrollar cáncer de ovario, páncreas o cáncer de mama masculino antes de los 50 años es menor al 1% para cada uno de ellos, aumentado el riesgo a los 80 años hasta un 5% para cáncer de ovario y 2-3% para cáncer de páncreas (106).

La relación entre las mutaciones en *PALB2* y el riesgo de cáncer es particularmente significativa en personas con antecedentes familiares de cáncer de mama y/o cáncer de ovario, siendo el riesgo de cáncer de mama para los portadores de una mutación en *PALB2* similar al que presentan los portadores de una mutación en *BRCA2* (107).

Hasta el año 2021, las guías clínicas no contemplaban las actuaciones que debían seguir las portadoras de una variante patogénica en *PALB2*, sin embargo, ese año la *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) publicó que el manejo debía ser equivalente al recomendado para portadores de mutaciones en *BRCA1/BRCA2* (108).

PTEN

El gen *PTEN* es otro gen supresor de tumores que desempeña un papel crucial en la regulación del crecimiento celular y la prevención del desarrollo de tumores. Las mutaciones en el gen *PTEN* pueden conducir al síndrome de Cowden, un trastorno genético hereditario que se caracteriza por un mayor riesgo de desarrollar varios tipos de tumores, incluido el cáncer de mama.

En el síndrome de Cowden existe un riesgo de desarrollar cáncer de mama hasta del 85% a lo largo de la vida, con una penetrancia del 50% a los 50 años. Además, pacientes que son portadores de una variante patogénicas en *PTEN* presentan mayor susceptibilidad de presentar otros tipos de tumores como cáncer epitelial de tiroides con un riesgo del 35% a lo largo de la vida, cáncer de endometrio con 28% de riesgo, carcinoma de células renales (35% riesgo), cáncer colorrectal con un riesgo a lo largo de la vida del 9% y en menor proporción, melanoma y tumores cerebrales. Todos ellos suelen aparecer en edades jóvenes, generalmente antes de los 40 años (109).

TP53

El gen *TP53* codifica una proteína supresora de tumores y está relacionado con el síndrome de Li-Fraumeni el cual se caracteriza por presentar una elevada predisposición a diferentes tipos de cáncer como son osteosarcomas, sarcomas de tejidos blandos, carcinomas adrenocorticales, tumores del Sistema nervioso central y cáncer de mama, entre otros (110).

Las mujeres portadoras de mutaciones en línea germinal en el gen *TP53* presentan un riesgo muy elevado de desarrollar cáncer de mama (hasta el 85% a los 60 años). La mayoría de estos cánceres de mama aparecen a una edad temprana, generalmente por debajo de los 35 años (111). Además, estos tumores frecuentemente muestran

características como patología de alto grado y pueden clasificarse en subtipos HER2+ o de tipo luminal B según el perfil molecular (112).

A lo largo de varios años se han ido desarrollando terapias avanzadas dirigidas sobre la proteína TP53 mutante, capaces de restaurar y reactivar sus funciones, encontrándose varios compuestos en fase de ensayo clínico para valorar su eficacia (113).

STK11

El gen *STK11* codifica la proteína LKB1 que actúa como supresora tumoral. Variantes patogénicas en el gen *STK11* se asocian al síndrome de Peutz-Jeghers, el cual se caracteriza por presentar pólipos hamartomatosos de localización gastrointestinal, pigmentación mucocutánea principalmente en la zona bucal y mayor predisposición a diferentes tipos de cáncer (colorrectal, intestino delgado, mama, gástrico, páncreas, ovario y pulmón). En concreto, las mujeres portadoras de una variante patogénica en el gen *STK11* presentan un riesgo de desarrollar cáncer de mama del 32-54% a los 37-59 años y de cáncer de ovario del 21% a los 28 años (114).

ATM

El gen *ATM* (Ataxia Telangiectasia Mutated) codifica una proteína serina/treonina quinasa que desempeña un papel crucial en la reparación del ADN y en la regulación del ciclo celular. Las mutaciones en el gen *ATM* están asociadas con la ataxia telangiectasia, un trastorno genético autosómico recesivo poco común que se caracteriza por presentar dificultades en la coordinación motora (ataxia), telangiectasias (pequeñas dilataciones de los vasos sanguíneos en la piel y las membranas mucosas), inmunodeficiencia, mayor susceptibilidad a infecciones recurrentes y un mayor riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer.

Los individuos heterocigotos para una variante patogénica en el gen *ATM* no tienen riesgo de desarrollar AT, sin embargo, presentan mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama pudiendo alcanzar un riesgo acumulado del 60% a los 80 años (115,116).

BRIP1

El gen *BRIP1* (proteína C-terminal helicasa 1) codifica una proteína que interactúa con *BRCA1* interviniendo en el proceso de reparación del ADN. Variantes patogénicas bialélicas en este gen se han encontrado en individuos afectos de anemia de Fanconi, un trastorno multisistémico poco frecuente caracterizado por presentar malformaciones congénitas, pancitopenia progresiva con insuficiencia medular y mayor predisposición de desarrollar tumores hematológicos o sólidos. Variantes monoalélicas se han asociado con un aumento moderado de riesgo de cáncer de ovario, con un riesgo acumulado con una OR de 4,94 (IC 95% = 4,07–6,00; $p < 0,0001$) (117).

CHEK2

El gen *CHEK2* (Checkpoint Kinase 2) es un gen supresor de tumores que desempeña un papel importante en la regulación del ciclo celular y la reparación del ADN. Las mutaciones en el gen *CHEK2* han sido asociadas con un aumento moderado en el riesgo de desarrollar cáncer de mama, así como otros tipos de cáncer como el cáncer colorrectal, el cáncer de próstata y el cáncer de tiroides.

El riesgo estimado de cáncer de mama a lo largo de la vida para las portadoras de una mutación en *CHEK2* (principalmente la variante c.1100delC) varía entre el 20 y el 40% en mujeres sin y con antecedentes familiares positivos de cáncer de mama, respectivamente (118,119). Un extenso estudio llevado a cabo por el *Breast Cancer Association Consortium* (BCAC) reveló que los portadores de la mutación c.1100delC tienen un riesgo acumulado significativamente mayor de desarrollar cáncer de mama con receptores de estrógenos positivos y negativos a la edad de 80 años en comparación con la población general británica. Para las portadoras de esta mutación, el riesgo acumulado estimado es del 20% para el cáncer de mama con RE positivos y del 3% en el caso de RE negativos frente al 9% y 2%, respectivamente, en la población general (120).

Según un metaanálisis publicado en 2019, se ha estimado además una mayor probabilidad de presentar cáncer de mama contralateral con un riesgo relativo de 2,68 (IC 95% = 1,69–3,65) para portadoras de la variante c.1100delC versus no portadoras (121).

Recientemente, en el año 2023, la ACMG ha publicado las primeras directrices sobre el manejo clínico de personas portadoras de una variante patogénica en el gen *CHEK2*, donde se concluye que pese a tratarse de un gen de penetrancia moderada, los riesgos pueden ser importantes en función de los antecedentes personales y otros factores (por ejemplo; variante truncante, sin sentido). Por ello, las recomendaciones se basan en valorar el "riesgo personalizado" de cada paciente y seguir las recomendaciones de vigilancia mamaria establecidas en cada país (122).

MSH6 y resto de genes MMR

El gen *MSH6* forma parte de un conjunto de genes conocidos como *mismatch repair* (MMR) o genes de reparación de errores de coincidencia, desempeñando un papel importante en la reparación de los errores del ADN que puedan darse durante el proceso de replicación. Los MMR que incluye los genes *MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2* están relacionados con una mayor predisposición de desarrollar Síndrome de Lynch. Este síndrome se caracteriza por presentar un mayor riesgo de cáncer colorrectal y otros cánceres como endometrio, estómago, ovario, páncreas, próstata, cerebro y piel (123). Con respecto al cáncer de mama, la literatura científica establece que los riesgos estandarizados por edad (SIR) son de 2.11 (IC 95% = 1.56–2.86) para el gen *MSH6* y de 2.92 (IC 95% = 2.17–3.92) para el gen *PMS2*, asociándose con un riesgo estadísticamente significativo de cáncer de mama (104).

RAD51C/ RAD51D

Estos genes están implicados en la reparación de daños de ADN de doble cadena mediante recombinación homóloga. Variantes patogénicas en estos genes se han asociado principalmente con un aumento de riesgo de desarrollar cáncer de ovario. Según los resultados de un metaanálisis basado en un conjunto de 30.000 casos, la OR para el gen *RAD51C* fue de 5,59 (IC 95% = 4.42–7.07, p<0,0001); y para el gen *RAD51D* OR = 6.94 (IC 95% = 5.10–9.44, p<0,0001) (117). Los riesgos acumulados estimados de desarrollar CO hasta los 80 años se estiman en el 11 % (IC 95% = 6-21%) para *RAD51C* y del 13 % (IC del 95 % = 7-23%) para los portadores de una variante patógena en *RAD51D* (124).

Con respecto al cáncer de mama, algunos estudios reportan la asociación de estos genes con el cáncer de mama fenotipo triple negativo debido a que este tipo de CM suele presentar defectos en la reparación del ADN por recombinación homóloga (125,126).

1.2 DIAGNÓSTICO GENÉTICO Y MANEJO CLÍNICO DEL CMOH

La integración de las pruebas de laboratorio genético junto con el asesoramiento genético en el abordaje de los síndromes hereditarios de cáncer de mama y de ovario se ha vuelto cada vez más importante con los avances en la medicina genómica.

Las tecnologías de secuenciación de próxima generación (NGS) han facilitado el uso de paneles multigénicos que pueden detectar simultáneamente mutaciones en numerosos genes implicados en los síndromes de CMOH (127). Este enfoque integral ha identificado variantes patogénicas adicionales en otros genes de alta penetrancia, diferentes de *BRCA1* y *BRCA2*, que también contribuyen a la predisposición al cáncer hereditario, pero que anteriormente no se habían reconocido adecuadamente debido a limitaciones en las metodologías de prueba de un solo gen.

A pesar de estos avances, persisten desafíos particularmente relacionados con las variantes de significado incierto (VUS). Las VUS representan alteraciones cuyo impacto sobre el desarrollo de la enfermedad no está claro en la actualidad; complicando así la toma de decisiones clínicas.

1.2.1 Laboratorio

Los métodos para la detección de genes relacionados con la susceptibilidad al CMOH ha evolucionado enormemente a lo largo de los años. Desde el descubrimiento de la secuenciación Sanger y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha desarrollado un especial interés en determinar la secuencia génica humana.

Inicialmente, la secuenciación de Sanger fue el método fundamental para la secuenciación de ADN durante más de tres décadas. Permitió completar el primer "Proyecto del Genoma Humano" (PGH) el cual fue un esfuerzo internacional de investigación científica que se llevó a cabo entre 1990 y 2003 con el objetivo principal

de secuenciar y cartografiar todos los genes humanos, pero implicó un largo periodo del tiempo y el coste por base fue muy elevado.

La llegada de las tecnologías de secuenciación de segunda generación (NGS), a principios de la década de los 2000, marcó un importante avance, al ofrecer una secuenciación paralela masiva que permite secuenciar millones o incluso miles de millones de cadenas de ADN simultáneamente, la cual pudo utilizarse en las etapas finales del PGH (128,129) (Figura 8).

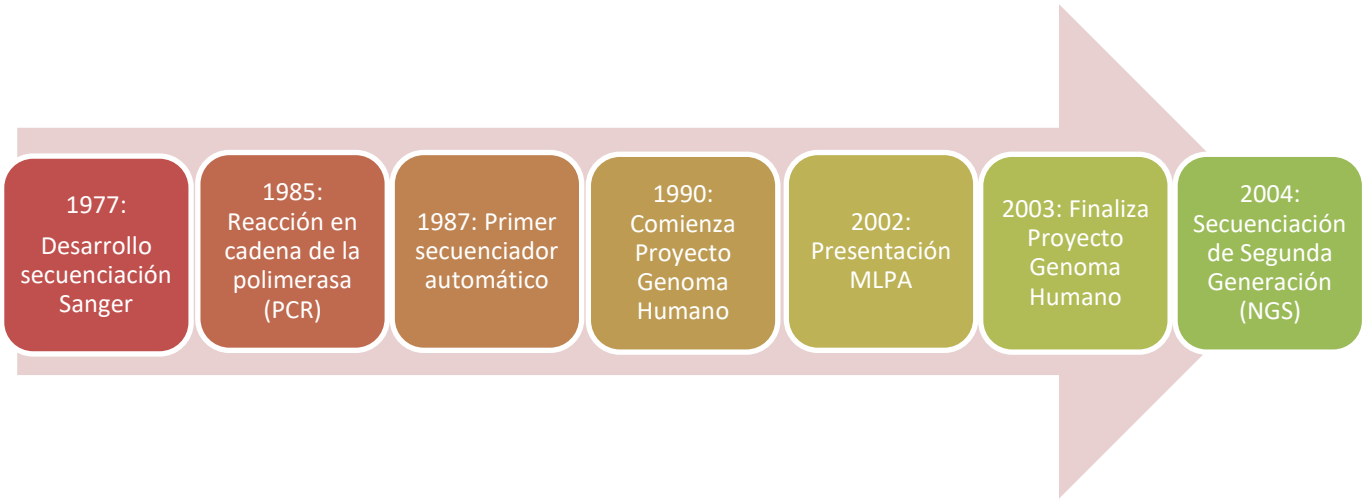


Figura 8. Evolución en el tiempo de las técnicas de biología molecular

Fuente: Elaboración propia

1.2.1.1 Secuenciación Sanger

La secuenciación Sanger, también conocida como secuenciación de terminación de cadena, es una técnica desarrollada por Frederick Sanger y su equipo en la década de 1970. Esta técnica permitió la determinación secuencial de nucleótidos en fragmentos de ADN individualmente (130).

Esta técnica ofrece la ventaja de identificar la composición exacta de nucleótidos de los fragmentos de ADN previamente amplificados mediante PCR, de forma sencilla tanto en su realización como en la interpretación de los resultados. Además, sigue siendo considerada el estándar de oro en secuenciación. Sin embargo, presenta limitaciones,

incluyendo la incapacidad de secuenciar grandes regiones de ADN y su capacidad limitada para detectar mutaciones más allá de sustituciones o pequeñas deleciones e inserciones (SNV).

A partir de los años 90, los primeros estudios publicados vinculan los genes *BRCA1* y *BRCA2* con un mayor riesgo de cáncer de mama u ovario hereditarios (131,132). Más tarde, la secuenciación de estos genes comenzó a llevarse a cabo en laboratorios y entornos clínicos, aplicada a diversos grupos de población. En 1999, se publicó un estudio que incluyó el análisis de la región codificante del gen *BRCA1* en 70 familias de alto riesgo en Francia (133) Asimismo, en el año 2000, se realizó la secuenciación automática de los genes *BRCA1* y *BRCA2* en población turca (134).

Entre las aplicaciones clínicas actuales más comunes de la secuenciación Sanger relacionadas con CMOH se encuentran la detección de variantes genéticas específicas dentro de una familia y la confirmación de variantes genéticas obtenidas previamente mediante técnicas de secuenciación masiva (135).

1.2.1.2 Multiplex Ligation dependent Probe Amplification (MLPA)

La técnica MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) fue desarrollada por primera vez en la década de 1990 por los investigadores M. Schouten y F. van der Veer, en los Países Bajos. Fue presentada al público científico en 2002 donde sus primeras aplicaciones incluyeron la detección de deleción de exones en los genes *BRCA1*, *MSH2* y *MLH1* relacionados con el cáncer de mama y de colon hereditarios (136). Esta técnica revolucionaria permitió, por tanto, detectar copias anormales o ausentes de secuencias específicas de ADN, convirtiéndola en una herramienta valiosa para la detección variaciones en el número de copias (CNV), incluidas deleciones y duplicaciones en el ADN genómico.

El uso de esta técnica se extendió y comenzó a aplicarse principalmente en pacientes de alto riesgo de CMOH en los que no se había detectado una variante patogénica mediante los métodos convencionales. Así, un estudio publicado en 2003, donde se estudiaron 661 familias que habían obtenido un resultado no informativo en los análisis previos, se

detectaron cinco CNV en el gen *BRCA1* mediante MLPA (137). Después, diversos estudios han empleado esta técnica para identificar reordenamientos genéticos, como se describe en una revisión publicada en 2009 sobre los aspectos moleculares de los reordenamientos de *BRCA1* y *BRCA2*, así como su frecuencia en diferentes poblaciones. Esta revisión indica que la técnica MLPA ofrece una mayor sensibilidad, eficiencia, simplicidad y menor costo en comparación con otras técnicas para detectar variantes en el número de copias (138).

Actualmente, se ha descrito que aproximadamente un 11-13% de las variantes patogénicas para *BRCA1* y un 2-3% para *BRCA2* son CNV (139,140) por lo que es importante que la técnica utilizada sea capaz de detectar este tipo de reordenamientos genéticos. Entre las aplicaciones destacadas de MLPA destaca su uso como complemento a la secuenciación Sanger para detectar deleciones/duplicaciones de gran tamaño que no pueden ser identificadas mediante la secuenciación de manera aislada, o para validar variantes de número de copias detectadas mediante técnicas de secuenciación masiva.

1.2.1.3 Next Generation Sequencing (NGS)

La secuenciación masiva, también conocida como secuenciación de próxima generación (NGS por sus siglas en inglés), ha revolucionado el campo de la genética del cáncer, incluido el cáncer de mama y ovario hereditario.

La NGS permite secuenciar miles de genes o el genoma completo en un corto periodo de tiempo y se basa principalmente en cuatro etapas: preparación de muestras, preparación de librerías, secuenciación y análisis de datos (141).

A partir de los años 2012-2014, comenzaron a surgir trabajos publicados que abarcaban series de pacientes sometidos a análisis genético de múltiples genes, además de *BRCA1* y *BRCA2*, mediante el empleo de las nuevas plataformas de secuenciación de segunda generación. En un trabajo realizado en Francia publicado en el año 2014 se detectan variantes patogénicas en otros genes predisponentes como *PALB2, CHEK2, MSH2, ATM* y *TP53* por lo que la implementación de la tecnología NGS en laboratorios médicos

aumenta significativamente el rendimiento, reduce el retraso y optimiza el diagnóstico molecular de CMOH (142). En 2018 se publicaron los resultados del estudio GENESIS, el cual fue diseñado con el propósito de identificar nuevos genes de susceptibilidad al cáncer de mama en mujeres francesas que asisten a clínicas de genética oncológica y que no presentan mutaciones en *BRCA1*/*BRCA2*, donde se especifican los riesgos relativos del cáncer de mama asociados con variantes patogénicas en los genes *PALB2, ATM* y *CHEK2* (143,144). En España, en el año 2018, se publicó el estudio realizado por Bonache et al., uno de los primeros estudios que incluía un panel de genes potencialmente relacionados con el CMOH donde se detectaron variantes patogénicas en *PALB2* , *ATM* , *RAD51D* , *TP53* , *APC* , *BRIP1* , *PTEN* y *PMS2* (145).

1.2.1.4 Identificación y clasificación de variantes

Después de completar el análisis genético, se requiere llevar a cabo la identificación y clasificación clínica de las variantes detectadas. Esto implica asociar cada variante con los fenotipos de enfermedad correspondientes, teniendo en cuenta la evidencia de estudios clínicos, antecedentes familiares y datos poblacionales.

Debido a la importancia de establecer un sistema universal para clasificar las variantes genéticas, en el año 2008 se propuso un sistema de clasificación que transmitiera más claramente información sobre la relevancia de una variante para la práctica clínica que incluyera la probabilidad de ser patogénico y la necesidad de estudios futuros. A continuación, se recogen las 5 categorías que continúan en vigor en la actualidad para clasificar la mayoría de variantes obtenidas en los estudios genéticos (Tabla 5).

Tabla 5. Sistema de clasificación propuesto para variantes de secuencia identificadas mediante pruebas genéticas

Tabla adaptada de Plon et al. 2008. Hum Mutat.

CLASE	DESCRIPCIÓN	PROBABILIDAD DE SER PATOGÉNICO	ESTUDIO DE PORTADOR	RECOMENDACIONES DE VIGILANCIA SI EL TEST GENÉTICO ES POSITIVO
V	**Patogénica**	>0,99	Sí	Medidas completas vigilancia alto riesgo
IV	**Probablemente patogénica**	0,95-0,99	Sí	Medidas completas vigilancia alto riesgo
III	**Significado incierto o desconocido**	0,05-0,949	No	Medidas basadas en la historia personal/familiar
II	**Probablemente benigna**	0,001-0,049	No	Medidas basadas en la historia personal/familiar
I	**Benigna**	<0,001	No	Medidas basadas en la historia personal/familiar

En el año 2013 el Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (ACMG- *American College of Medical Genetics and Genomics*) convocó a la Asociación de Patología Molecular (AMP) y al Colegio Americano de Patólogos (CAP) para crear un grupo de trabajo para revisar las directrices necesarias para la clasificación de variantes utilizando la evidencia disponible. Esto permitió la utilización de una terminología estándar específica que se continúa utilizando en la actualidad en los laboratorios clínicos para clasificar las variantes genéticas obtenidas a partir de las diferentes técnicas de biología molecular. Este grupo de trabajo propuso dos conjuntos de criterios: uno para la clasificación de variantes patogénicas o probablemente patogénicas (**Anexo I**), y uno para la clasificación de variantes benignas o probablemente benignas (**Anexo II**). Cada criterio patogénico se pondera como muy fuerte (PVS1), fuerte (PS1–4); moderado (PM1–6) o de apoyo (PP1–5) y cada criterio benigno se pondera como independiente

(BA1), fuerte (BS1–4) o de apoyo (BP1–6). Posteriormente, los criterios se combinan de acuerdo con las reglas de puntuación para definir una clasificación del sistema en 5 niveles (**Anexo III**).

Para la clasificación de variantes en cáncer de mama y ovario hereditario, existen varias bases de datos y recursos específicos disponibles que proporcionan información sobre la relevancia clínica y funcional de las variantes en genes asociados con el CMOH, a continuación, se describen algunas de ellas:

- *Breast Cancer Information Core* (BIC): Es una base de datos mantenida por el *National Human Genome Research Institute* que recopila información sobre variantes genéticas en genes relacionados con el cáncer de mama y ovario. Proporciona información sobre la patogenicidad de las variantes y su asociación con el cáncer de mama hereditario. URL: https://research.nhgri.nih.gov/bic/
- *ClinVar*: Base de datos mantenida por el *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) que recopila información sobre variantes genéticas y su asociación con enfermedades, incluido el cáncer. Proporciona información sobre la interpretación clínica de las variantes y su relevancia para la salud humana. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
- *BRCA Exchange*: Es una plataforma que integra datos sobre variantes en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, que están asociados con un alto riesgo de cáncer de mama y ovario hereditario. Proporciona información sobre la frecuencia de las variantes en diferentes poblaciones y su asociación con el cáncer. URL: https://brcaexchange.org/
- *Database of Curated Mutations*: Esta base de datos recopila información sobre mutaciones somáticas y variantes hereditarias asociadas con el cáncer. Proporciona información sobre la patogenicidad de las variantes y su relevancia clínica en el cáncer de mama y otros tipos de cáncer. URL: http://docm.info/

Además de las bases de datos existen otras herramientas que pueden contribuir a la clasificación de variantes. Los programas *in silico* utilizan algoritmos para estimar el efecto de una variante de secuencia a nivel de nucleótidos y aminoácidos, así como el efecto potencial de la variante en la proteína. Algunos de estos programas son: *MutationTaster, PolyPhen-2, SIFT, ConSurf, Align GVGD, MAPP, CADD*, entre otros.

1.2.1.5 Revisión y reclasificación de las variantes de significado incierto

Las variantes de significado clínico incierto (VUS) o también llamadas variantes de clase III son aquellas en las que el conocimiento actual no permite establecer una clasificación en patogénicas o benignas, por lo que no es posible atribuir o excluir un determinado fenotipo de un paciente como consecuencia de esa variante. Esto puede deberse a la falta de evidencia científica suficiente para determinar su impacto, a la presencia de resultados contradictorios en la literatura científica o a la ausencia de datos clínicos y funcionales que respalden su interpretación (146).

Con el avance en las técnicas de secuenciación masiva, que facilitan la detección de variantes en un espectro cada vez más amplio de genes, ha resultado en un aumento notable en la frecuencia de VUS, superando la proporción de variantes patogénicas identificadas (147). En 2014 Kurian et al., identificaron 428 VUS en 39 genes entre 175 participantes del estudio (148). Posteriormente, en un estudio de cohortes multicéntrico de 2984 pacientes publicado en 2021, se obtuvo un 47.4% de variantes de significado incierto frente a un 13.3% en los que se halló una variante patogénica (149).

La detección de estas VUS crea cierta incertidumbre en el ámbito clínico, tanto al personal de laboratorio y médico como a los pacientes ya que no se conoce qué implicación podrían tener sobre su enfermedad y, por tanto, que riesgos podrían sufrir sus familiares. Actualmente, se están llevando a cabo numerosos esfuerzos para encontrar sistemas eficaces que permitan interpretar estas VUS. Entre estos esfuerzos se incluye el uso del “modelo de probabilidad posterior”, el cual combina medidas de causalidad detectadas mediante programas de alineamiento de secuencias con probabilidades establecidas entre las VUS y el cáncer (150,151) o la realización de

ensayos funcionales (152). Recientemente, un grupo de trabajo español ha diseñado un algoritmo de priorización de VUS, el cual permite optimizar la realización de estudios complementarios, como análisis de cosegregación familiar, estudios de casos y controles o ensayos funcionales, en aquellas variantes con mayor potencial deletéreo, con el objetivo de determinar su efecto clínico y su posible implicación en el CMOH (153).

Por otra parte, es aconsejable llevar a cabo reevaluaciones periódicas de estas variantes, con el fin de determinar si han sido reclasificadas en categorías más definidas y accionables, como patogénicas o benignas, o si continúan siendo variantes de significado incierto. Estas reevaluaciones pueden basarse en nuevos estudios genéticos, datos clínicos adicionales, análisis funcionales u otros avances científicos que brinden una mayor comprensión del impacto de estas variantes en la salud humana, es por ello que numerosos estudios se han centrado en buscar métodos que favorezcan la clasificación de estas VUS (154). El objetivo final de estas reevaluaciones es proporcionar información más precisa y útil a los profesionales de la salud y a las personas que reciben resultados genéticos, para que puedan tomar decisiones informadas sobre la gestión de su salud y el riesgo de enfermedades genéticas.

En 2019, un grupo de expertos, estableció una declaración de consenso europeo donde se indica que las variantes de clase III deberán notificarse siempre que se indique que son variables no accionables o sin utilidad clínica. También se indica, que en la consulta de asesoramiento genético se debe abordar el hecho de poder contactar con el paciente en caso de reclasificación de una VUS (155).

1.2.2 Consulta de asesoramiento genético

El proceso de consejo genético debe incluir el asesoramiento anterior y posterior a las pruebas genéticas (pre-test y post-test respectivamente), información y evaluación de los riesgos genéticos, permitir la realización de pruebas genéticas e indicar las posibles medidas preventivas y seguimiento individualizado del riesgo de cáncer (156).

Los asesores genéticos brindan información sobre las implicaciones de los resultados de las pruebas no solo para los pacientes sino también para los familiares en riesgo que

podrían beneficiarse de los estudios genéticos de portador, un proceso en el que se realizan pruebas a los familiares de primer grado para identificar si portan la mutación familiar identificada en un probando.

Un desafío notable en este ámbito es garantizar que los pacientes comprendan plenamente la información proporcionada durante el asesoramiento. Un estudio español publicado en 2010, concluyó que un correcto asesoramiento genético aumentó los niveles de conocimiento y disminuyó la preocupación sobre el cáncer, sin modificar la calidad de vida (157). Esto subraya la importancia no sólo de transmitir información de manera efectiva sino también de brindar apoyo psicológico durante todo el proceso.

1.2.2.1 Consulta pre-test

En la primera consulta de asesoramiento genético es necesario recopilar toda la información necesaria personal y familiar para poder identificar si se trata de un posible caso de cáncer hereditario. Para ello se debe realizar el árbol genealógico o genograma que incluya al menos tres generaciones a partir del caso índice o probando que es el miembro de la familia que ha sido diagnosticado de cáncer de forma incidental.

Es necesario recoger toda la información posible personal y familiar que incluya las características específicas del tumor, su historial médico personal, la edad de diagnóstico y la historia familiar incluyendo tipos de cáncer relacionados, edad de diagnóstico y edad de fallecimiento, si procede (Figura 9). Además, es recomendable contrastar estos datos en la historia clínica del paciente, para confirmar que la información aportada es correcta.

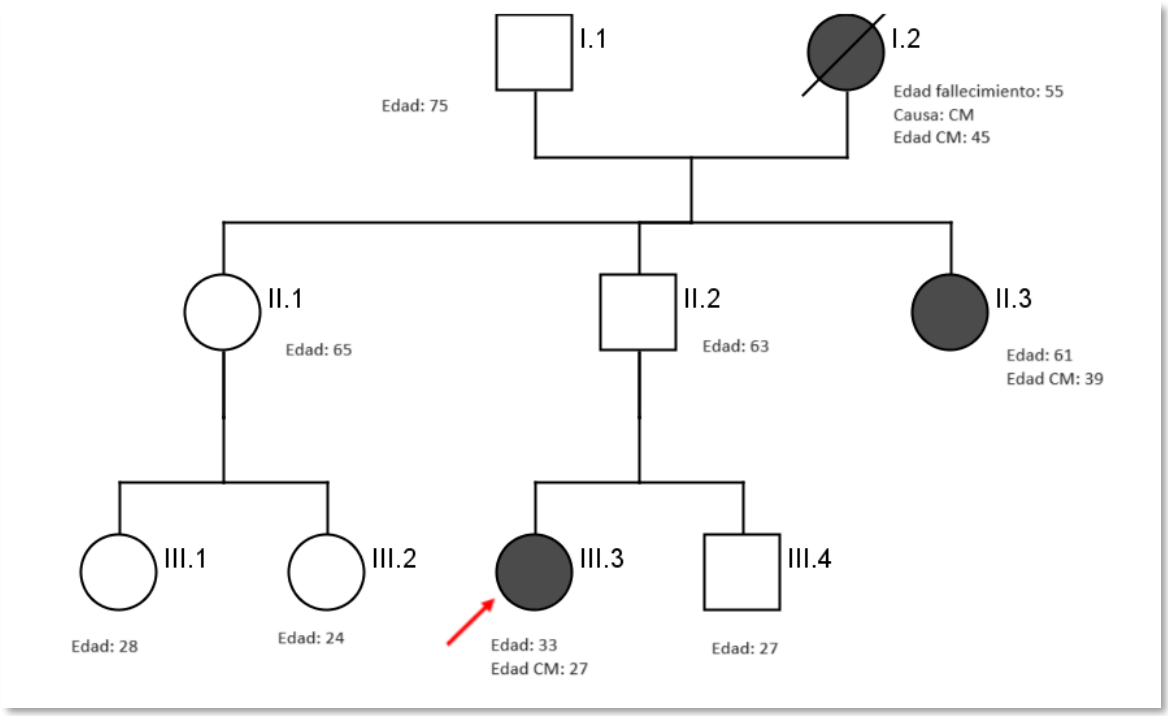


Figura 9. Ejemplo de genograma a un caso índice con cáncer de mama recogido en la consulta de asesoramiento genético pre-test

Fuente: Realizado mediante herramienta de CeGat

A continuación, se procede a valorar si el probando cumple los requisitos para considerar que se trata de un síndrome hereditario. Para ello existen diferentes criterios de inclusión y programas informáticos de estimación del riesgo. Si el paciente cumple los criterios de inclusión, se le propondrá la realización del estudio genético y se informará de los beneficios, riesgos y las limitaciones del mismo.

Para la realización del estudio genético es indispensable la firma del consentimiento informado, un documento donde el paciente tras haber comprendido la información recibida del asesor genético, da su consentimiento para realizar el análisis. Es importante destacar que el paciente puede revocar la realización del análisis genético en cualquier momento.

1.2.2.2 Consulta post-test

Después de obtener los resultados de las pruebas genéticas, el asesoramiento genético continúa para ayudar al paciente a interpretar y comprender los resultados, así como a planificar cualquier acción necesaria en función del resultado obtenido.

En referencia a las medidas preventivas para el cáncer de mama y ovario, el asesor genético debe brindar información individualizada sobre el riesgo y las medidas preventivas disponibles. Estas se pueden agrupan en tres categorías principales (Figura 10):

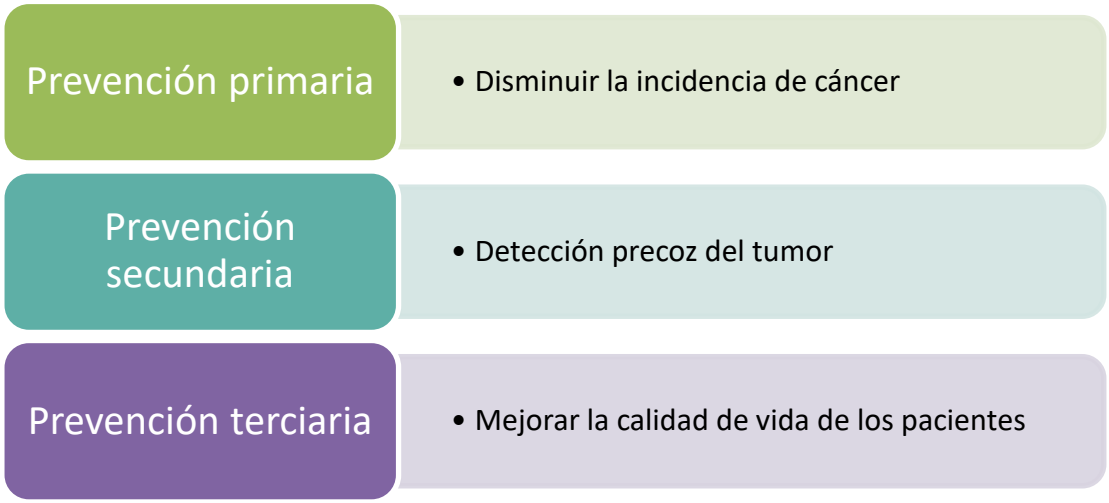


Figura 10. Categorías principales de prevención para el cáncer

♦ **Prevención primaria**

De manera general, se recomienda adoptar hábitos de vida saludables, como mejorar los hábitos alimenticios, en particular aquellos que se asemejan a la dieta mediterránea, realizar actividad física regular, mantener un peso corporal saludable y evitar el consumo excesivo de alcohol. Un estudio realizado en Italia con 2569 pacientes de caso y 2588 sujetos de control, estableció que modificando estos factores, podía obtenerse una reducción del riesgo absoluto en 20 años entre las mujeres de 65 años del 1.6% (IC 95% = 0.9-2.3%) en toda la población y del 3.2% (IC 95% = 1.8-4.8%) entre las mujeres con antecedentes familiares de cáncer de mama (158).

◊ **Quimioprevención**

La quimioprevención se basa en la administración de agentes farmacológicos que interfieren con las vías de desarrollo del cáncer permitiendo reducir la incidencia o recurrencia del cáncer de mama. Diferentes hormonas como los estrógenos participan en el crecimiento fisiológico normal, la diferenciación y proliferación de los tejidos mamarios, sin embargo, también se han relacionado con el desarrollo y proliferación maligna de las células de la mama; por ello, la modulación de la actividad de estas hormonas ha sido la base para desarrollar estrategias quimiopreventivas (159).

Algunos de los medicamentos más comúnmente utilizados para la quimioprevención del cáncer de mama incluyen (160,161):

- Tamoxifeno: Es un modulador selectivo de los receptores de estrógeno (SERM, por sus siglas en inglés) que se ha demostrado que reduce significativamente el riesgo de cáncer de mama en mujeres con alto riesgo, tanto premenopáusicas como posmenopáusicas.
- Raloxifeno: Otro SERM que también se utiliza para prevenir el cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas con alto riesgo. También se ha demostrado que reduce el riesgo de fracturas óseas en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis.
- Exemestano: Un inhibidor de la aromatasa que se utiliza en mujeres posmenopáusicas con alto riesgo de cáncer de mama. Funciona al reducir los niveles de estrógeno en el cuerpo (162).
- Anastrozol y letrozol: Otros inhibidores de la aromatasa que también se pueden usar para la quimioprevención del cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas con alto riesgo.

Es importante destacar que estos medicamentos pueden tener efectos secundarios y riesgos asociados, por lo que su uso debe ser cuidadosamente considerado y supervisado por un médico especialista en cáncer de mama. Además, la decisión de utilizar la quimioprevención del cáncer de mama debe basarse en una evaluación individualizada del riesgo y los beneficios para cada paciente.

En el 2019, el Grupo de Trabajo de Servicios Preventivos de los Estados Unidos emitió nuevas pautas sobre la quimioprevención del cáncer de mama, recomendando el uso de tamoxifeno, raloxifeno o inhibidores de la aromatasa, en mujeres ≥35 años con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama y bajo riesgo de desarrollar efectos adversos, desaconsejando su uso en mujeres que no tengas un riesgo aumentado de desarrollar cáncer de mama (163).

La quimioprevención del cáncer de ovario es un área menos desarrollada en comparación con la del cáncer de mama. A diferencia del cáncer de mama, no hay agentes quimiopreventivos aprobados específicamente para el cáncer de ovario en la actualidad. Sin embargo, se han realizado investigaciones sobre el potencial de algunos medicamentos en la reducción del riesgo de cáncer de ovario. Por ejemplo, los anticonceptivos orales se han asociado con una reducción en el riesgo de cáncer de ovario en mujeres que los han usado durante un período prolongado. Esto se debe probablemente a la supresión de la ovulación y a la reducción en la exposición a hormonas reproductivas, como los estrógenos (65,66).

Además, algunos estudios han sugerido que medicamentos como los inhibidores de la COX-2 (ciclooxigenasa-2) y los antiinflamatorios no esteroides (AINEs) podrían tener algún efecto protector contra el cáncer de ovario, aunque se necesitan más investigaciones para confirmar estos hallazgos y determinar la seguridad y eficacia de estos enfoques (164,165).

◊ **Cirugía profiláctica reductora de riesgo**

La cirugía profiláctica reductora de riesgo, es una opción para mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama u ovario debido a antecedentes familiares o variantes genéticas heredadas. En concreto, estas técnicas quirúrgicas incluyen la mastectomía profiláctica y la salpingooforectomía bilateral profiláctica.

- Mastectomía profiláctica

Es una estrategia quirúrgica cada vez más extendida para reducir el riesgo de desarrollar cáncer de mama principalmente en mujeres portadoras de una variante genética patogénica o probablemente patogénica en determinados genes. La mastectomía profiláctica puede ser bilateral en mujeres sanas con alto riesgo de cáncer de mama, o contralateral en mujeres que han sido diagnosticadas de cáncer de mama unilateral y deciden someterse a una mastectomía preventiva en la otra mama.

La mastectomía bilateral profiláctica (MBP) puede reducir el riesgo de desarrollar cáncer de mama en un 90-95% en portadores de variantes patogénicas o probablemente patogénicas en los genes *BRCA1* o *BRCA2* (166). En referencia a la supervivencia, el beneficio de la MBP no ha podido demostrarse, así en un estudio publicado en 2019 por Heemskerk-Gerriten et al., donde se estudió la supervivencia en mujeres sanas portadoras de una variante patogénica en *BRCA1/BRCA2* que se realizaron MBP frente a mujeres que solo se realizaron vigilancia, se concluye que en el caso de *BRCA1* sí existe un beneficio en cuanto a supervivencia en mujeres que se realizan mastectomía profiláctica, sin embargo, en portadoras en *BRCA2*, la supervivencia es equivalente entre realizar MBP o seguimiento clínico (167).

En mujeres con cáncer de mama primario que presentan una variante patogénica o probablemente patogénica (VP/VPP) en *BRCA* existe un riesgo anual del 2-3% de desarrollar cáncer de mama contralateral, es por ello, que la mastectomía profiláctica contralateral (MPC) de la mama sana es cada vez más demandada entre las pacientes (168), sin embargo, no hay evidencia suficiente de que la MPC mejore la supervivencia y se recomiendan estudios que controlen múltiples variables de confusión (169).

- Salpingooforectomía bilateral profiláctica

Una salpingooforectomía o anexectomía es una intervención quirúrgica en la que se produce la extirpación de los ovarios y las trompas de Falopio, puede ser unilateral si se extirpa un ovario y su correspondiente trompa de Falopio y bilateral si se extraen ambos ovarios y ambas trompas de Falopio. Por histerectomía entendemos el procedimiento en que se extirpa además el útero.

El cáncer de ovario es hasta la fecha muy complicado de detectar en sus etapas tempranas, es por ello que, en mujeres con un elevado riesgo de desarrollar cáncer de ovario, la realización de una salpingooforectomía bilateral es una medida profiláctica recomendada a nivel internacional (170).

Esta intervención quirúrgica puede reducir el riesgo de cáncer de ovario en más del 96% y también reduce la mortalidad general específica del cáncer (171). Además, aunque se disminuya el riesgo de padecer cáncer no se elimina por completo, por lo que es importante continuar con un seguimiento médico a través de una ecografía pélvica anual y una determinación analítica de CA125 sérico después de la cirugía reductora de riesgo (171).

Es importante conocer los efectos secundarios derivados de esta intervención, tales como, la limitación de la fertilidad y la menopausia precoz en mujeres premenopáusicas, la cual puede relacionarse con problemas sexuales, osteoporosis, síntomas vasomotores o enfermedades cardiovasculares, por lo que es muy importante el asesoramiento preoperatorio en mujeres candidatas a realizarse una salpingooforectomía profiláctica (172).

Según la Guía clínica SEOM en cáncer de mama y ovario hereditario (2019), se recomienda realizar esta intervención una vez completado los deseos reproductivos, en concreto entre los 35-40 años para mujeres portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* y entre 40-45 años para portadoras de VP en *BRCA2* (173).

◊ **Consejo reproductivo**

La capacidad reproductiva es una preocupación importante para las mujeres en edad fértil que han sido diagnosticadas de cáncer de mama o de ovario, ya que a menudo se ve perjudicada debido al uso de tratamientos gametotóxicos o actuaciones que impliquen un fallo ovárico prematuro. Es por ello que es posible ofrecer medidas que permitan preservar la fertilidad a través de técnicas de reproducción asistida (174).

En el Sistema Sanitario Público de Andalucía (SSPA), la técnica aceptada para la preservación de la fertilidad es la criopreservación mediante extracción y vitrificación de ovocitos maduros, en mujeres que hayan sido diagnosticadas de cáncer antes de comenzar el tratamiento quimioterápico o radiológico. Otras técnicas como la criopreservación de tejido ovárico se encuentran en fase experimental por lo que no suelen ofrecerse en el entorno clínico (175). La preservación de la fertilidad se basa, por tanto, en la congelación de ovocitos y su preservación para poder utilizarlos en el futuro.

Cuando además del diagnóstico de cáncer, la paciente es portadora de una variante patogénica en línea germinal, existe además una probabilidad del 50% de transmitirlo a la descendencia, hecho que no podría evitarse con el uso de las técnicas clásicas de preservación de la fertilidad.

En la actualidad, los avances en el campo de la biología molecular y la embriología, han permitido dar un paso más en las técnicas de reproducción asistida, mediante el desarrollo de procedimientos que permiten la transferencia de embriones libres de una determinada enfermedad genética hereditaria como es el caso del Test Genético Preimplantacional.

- Test genético preimplantacional

El Test Genético Preimplantacional (TGP) es una herramienta que permite analizar el material genético de embriones obtenidos mediante técnicas de reproducción asistida, para seleccionar y transferir aquellos que no sean portadores de una determinada condición genética.

Los primeros casos de éxito de esta técnica se remontan a los años 90 donde Handyside et al. informaron de los primeros nacimientos vivos tras la realización de pruebas de diagnóstico genético preimplantacional para identificar el sexo de los trastornos ligados al cromosoma X. En este caso se identificaron los embriones masculinos, para posteriormente transferir únicamente los embriones femeninos libres de enfermedad o portadores para evitar determinadas enfermedades monogénicas ligadas al sexo (176).

El uso del TGP está regulado por la Ley 14/2006 sobre Técnicas de Reproducción Asistida. Dicha ley autoriza en el artículo 12, la práctica del diagnóstico genético

preimplantacional siempre que se realice en centros debidamente autorizados. Para fines preventivos está aceptado en los casos de anomalías cromosómicas estructurales o numéricas (TGP-SR), detección de aneuploidías (TGP-A) y alteraciones monogénicas hereditarias presentes en la madre o el padre (TGP-M) (177,178).

En el caso de pacientes portadores de una variante patogénica en los genes *BRCA1* o *BRCA2* en línea germinal podría aplicarse TGP-M con la finalidad de evitar la transmisión de dicha variante a la descendencia. De manera general, este proceso implica:

- ✓ Estudio de informatividad que se basa en la caracterización genética de las enfermedades a diagnosticar, mediante el análisis genético de los padres portadores y los familiares, para evaluar la viabilidad y fiabilidad de las técnicas utilizadas en la detección de la variante familiar y del haplotipo asociado a la enfermedad en células individuales de la pareja. Esto permitirá posteriormente realizar el estudio de ADN en las muestras de biopsia embrionaria.
- ✓ Realización de técnicas de fecundación in vitro (FIV) independientemente de que la pareja presente o no anomalías reproductivas.
- ✓ Biopsia del embrión puede ser el tercer día después de la fecundación o en el quinto día de cultivo, en el estadio de blastocisto.
- ✓ Estudio genético generalmente mediante el análisis de mutaciones o haplotipado de marcadores vinculados que rodean los genes *BRCA1/BRCA2* (179).

Aunque actualmente la aplicación de esta técnica varía según las políticas de cada país, los resultados clínicos informados en varios centros revelan resultados alentadores con tasas de embarazo aceptables entre los portadores de variantes patogénicas en *BRCA* que optan por PGT-M. Por ejemplo, Barrett et al. documentaron que una proporción sustancial (86%) de los pacientes lograron al menos un embrión euploide *BRCA* negativo por cada ciclo de FIV (180).

En concreto en el SSPA, solo dos hospitales están designadas para la realización del TGP; la Unidad de Genética, Reproducción y Medicina Fetal del Hospital Universitario Virgen del Rocío desde el año 2007 donde se albergan ya resultados prometedores, por

ejemplo, se consiguió el nacimiento de 12 bebés sanos en 10 de 34 parejas afectas de hemofilia (29,4%) (181) y la reciente incorporación de la Unidad de Reproducción Humana Asistida del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, donde se ha registrado el nacimiento de dos bebés libres de enfermedad (182).

♦ Prevención secundaria

◊ Seguimiento para pacientes de alto riesgo

Ser portador de una variante patogénica (VP) o una variante probablemente patogénica (VPP) en determinados genes puede aumentar la probabilidad de desarrollar cáncer de mama, cáncer de mama bilateral, cáncer de ovario y otros tipos de cáncer como páncreas o próstata. Es por ello, que se recomienda realizar una vigilancia exhaustiva a través de pruebas de imagen como mamografía o RMN, así se han establecido guías de seguimiento según el tipo de gen que presente una variante patogénica/ probablemente patogénica (ver **ANEXO IV:** Recomendaciones NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) versión 2.2024 en función del gen que presenta una VP/VPP).

♦ Prevención terciaria

◊ Nuevos tratamientos: Inhibidores de la PARP (iPARP)

El tratamiento del cáncer de mama y de ovario hereditario ha evolucionado significativamente en las últimas dos décadas, con un cambio hacia enfoques más personalizados impulsados por los avances genéticos. Hace años, el tratamiento disponible para pacientes con cáncer de mama y/o cáncer de ovario portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1/BRCA2* era similar al que se podía aplicar a pacientes que presentaba cáncer esporádico.

El olaparib (y otros como niraparib y rucaparib), es un fármaco de reciente descubrimiento, cuyo mecanismo de acción de basa en la inhibición de las proteínas PARP. Las proteínas PARP (poli ADP Ribosa Polimerasa) son una familia de enzimas que tienen un papel clave en controlar una de las vías de reparación del ADN, en concreto,

detectar e iniciar una respuesta celular frente a roturas de ADN monocatenario mediante la reparación por escisión de bases. Por su parte, las mutaciones que se producen en los genes *BRCA1* y *BRCA2* provocan una deficiencia de recombinación homóloga que les impide reparar las roturas de doble cadena, dando lugar a la muerte celular. Los inhibidores de la PARP tendrán una diana de acción en las células que presentan variantes en estos genes, las cuales van a ser más sensibles y accionables por estos fármacos que las células salvajes (183,184).

Basándose en su mecanismo de acción se ha propuesto una estrategia para su utilización descrita como "letalidad sintética". La inhibición de PARP impediría la reparación del daño producido en la cadena de ADN, esto colapsaría la horquilla de replicación y produciría una rotura de ADN de doble cadena. Las células que tienen un déficit de recombinación homóloga (HRD) sistema de reparación de roturas de doble cadena de DNA, hallazgo que está presente en los tumores que se desarrollan en los portadores de mutaciones en los genes BRCA, no pueden repararlo y da lugar a la muerte celular (185).

Este fármaco presenta, por tanto, un futuro prometedor en el tratamiento dirigido frente al cáncer hereditario. Se han realizado numerosos ensayos clínicos para comprobar la eficacia de este fármaco, en concreto, el ensayo OlympiA de fase III donde se evaluó la eficacia y la seguridad de olaparib en comparación con la quimioterapia estándar en mujeres con cáncer de mama metastásico HER2 negativo y mutaciones en los genes *BRCA1* o *BRCA2*. El resultado más destacable de este estudio fue que con una mediana de seguimiento de 3.5 años, existe una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia global de pacientes tratados con olaparib adyuvante en comparación con placebo en pacientes con variantes patogénicas en *BRCA1/BRCA2* (186). Otro ensayo clínico en fase III fue el SOLO1, donde se investigó el uso de olaparib como terapia de mantenimiento en mujeres con cáncer de ovario endometrioide o seroso de alto grado, avanzado, de reciente diagnóstico, con mutaciones en *BRCA1/BRCA2* y con respuesta clínica completa o parcial después de quimioterapia a base de platino, donde se concluyó que la eficacia de olaparib como terapia de mantenimiento durante dos años se tradujo en beneficios sostenidos incluso después de la finalización del tratamiento, lo que resultó en una extensión significativa de la mediana de

supervivencia libre de progresión a más de 4.5 años (187). Un tercer ensayo destacable fue el PAOLA-1 donde se demostró que la combinación de olaparib y bevacizumab presentaba una mejora clínicamente significativa en la supervivencia global en pacientes con cáncer de ovario en primera línea y una mutación *BRCA1/BRCA2* o una deficiencia de recombinación homóloga (188).

En España, según se indica en la última actualización de mayo de 2024 del Ministerio de Sanidad, el fármaco olaparib bajo el nombre comercial de Lynparza®, está autorizado y financiado en los siguientes casos (189,190):

- "En combinación con bevacizumab está indicado para el tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial de alto grado avanzado (estadios FIGO III y IV), de trompa de falopio o peritoneal primario, que están en respuesta (completa o parcial) tras haber completado una primera línea de quimioterapia basada en platino en combinación con bevacizumab y cuyo cáncer está asociado con resultado positivo para deficiencia en la recombinación homóloga (HRD) definido por una mutación *BRCA1/2* y/o inestabilidad genómica".
- "Como monoterapia para el tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial de alto grado avanzado (estadios FIGO III y IV) con mutación *BCRA1/2* (germinal o somática), de trompa de Falopio o peritoneal primario, que están en respuesta (completa o parcial) tras haber completado una primera línea de quimioterapia basada en platino".
- "Como monoterapia para el tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial de alto grado, trompa de Falopio, o peritoneal primario, en recaída, sensible a platino, que están en respuesta (completa o parcial) a quimioterapia basada en platino".
- "En monoterapia o en combinación con terapia endocrina para el tratamiento adyuvante de pacientes adultos con cáncer de mama temprano HER2-negativo, de alto riesgo, con mutaciones germinales en BRCA1/2 y que hayan recibido previamente tratamiento con quimioterapia neoadyuvante o adyuvante".

También está autorizado, aunque sin financiación pública, en los casos de cáncer de páncreas metastásico, con variantes patogénicas en *BRCA*1 o *BRCA2*, y no ha empeorado después de al menos 4 meses de tratamiento quimioterápico con platino. En referencia al cáncer de próstata, se encuentra en estudio la indicación para cáncer de próstata metastásico en hombres portadores de una variante patogénica en alguno de los genes *BRCA*, en los que el tratamiento médico o quirúrgico para reducir los niveles de testosterona no funcionó o la quimioterapia no es una opción.

2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El cáncer de mama es el tipo de cáncer que presenta mayor incidencia en mujeres de todo el mundo. Por su parte el cáncer de ovario, aunque es menos común, se considera una de las principales causas de muerte por cáncer entre las mujeres. Existen numerosos factores de riesgo asociados al desarrollo de estos tumores, y se estima que entre el 5 y el 10% de los casos son atribuibles a causas genéticas.

Gracias al Registro de Cáncer de Granada adscrito a la Escuela Andaluza de Salud Pública, podemos conocer en detalle cuáles son las cifras de cáncer de mama y de cáncer de ovario en cuanto a incidencia, prevalencia, mortalidad y tendencias de supervivencia bruta y neta en la provincia de Granada, sin embargo, no existe hasta la fecha bibliografía científica que recoja cual es la epidemiología genética del Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (CMOH) en esta área geográfica.

Debido a la transición que se ha producido durante el período de este estudio, desde la secuenciación dirigida de los genes *BRCA1* y *BRCA2* hasta la utilización de paneles multigénicos con tecnología de secuenciación de segunda generación, se plantea la hipótesis de que se mejorará la identificación de genes asociados a un mayor riesgo de CMOH. Esto, a su vez, permitirá una mejor estratificación de los pacientes que acuden a la consulta de consejo genético.

Finalmente, esto se traducirá en una detección precoz del tumor que permita ofrecer un seguimiento más exhaustivo, así como opciones preventivas o procedimientos específicos con el fin de proporcionar un tratamiento personalizado según la variante patogénica que presenten.

Objetivos principales

- ✓ Evaluar la epidemiología genética del síndrome de CMOH en la provincia de Granada.
- ✓ Evaluar la epidemiología clínica del síndrome de CMOH en la provincia de Granada.

Objetivos específicos

1. Estudiar la prevalencia de los genes implicados en CMOH en la provincia de Granada.
2. Describir indicadores epidemiológicos en relación a los datos genéticos del CMOH.
3. Evaluar el rendimiento de la tecnología NGS frente a Sanger.
4. Evaluación de medidas preventivas de profilaxis primaria en CMOH.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Pacientes y estudio

Este estudio retrospectivo de cohortes incluye 824 pacientes de origen caucásico de alto riesgo para el cáncer de mama y/o de ovario hereditario (CMOH) referidos a la Unidad de Asesoramiento Genético del Hospital Universitario San Cecilio (HUSC) y al Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) de Granada para su evaluación genética desde enero del año 2013 hasta diciembre de 2018.

Este trabajo se divide a su vez en dos periodos claramente diferenciados:

- Externalización de las pruebas genéticas, este primer periodo abarca desde el inicio de la realización de estudios genéticos para el CMOH en el ámbito hospitalario de Granada en el año 2013 hasta mediados del año 2017. Durante estos años, se realizó la externalización de la totalidad de las muestras a un laboratorio de referencia por no disponer de las técnicas de secuenciación dirigida (secuenciación Sanger) y MLPA en el laboratorio de genética para el análisis genético de los genes *BRCA1* y *BRCA2*.
- Desarrollo e implantación de las pruebas genéticas, este segundo periodo comprende desde el segundo semestre del año 2017 hasta diciembre del año 2018, donde se produce la transición del análisis genético mediante secuenciación dirigida a secuenciación de segunda generación (NGS) coincidiendo con la instauración de dicha técnica de secuenciación en el laboratorio de genética.

Por lo tanto, los individuos de este estudio fueron analizados mediante secuenciación Sanger para los genes *BRCA1* y *BRCA2* (438/824; 53%) o mediante NGS (386/824; 47%) tal y como se indica en la Figura 11.

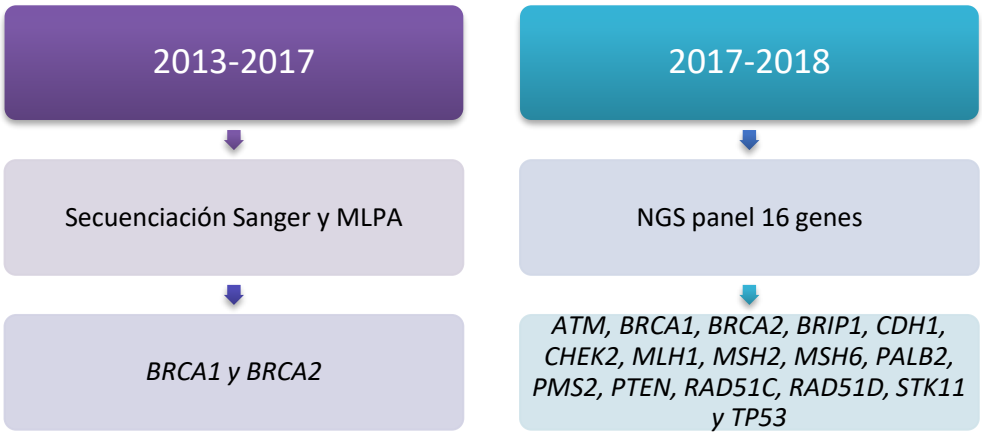


Figura 11. Evolución de las técnicas de biología molecular en nuestro centro

3.1.1 Entrevista y recogida de datos

En la consulta de asesoramiento genético pre-test, se recopilaron todos los datos necesarios para la elaboración del genograma incluyendo tres generaciones, y se recogieron los siguientes datos:

- Historia familiar: especificando todos los familiares sanos y afectos de cáncer, las edades de los diagnósticos de cáncer, así como la causa y edad aproximada de los familiares fallecidos.
- Historia personal: tipo de cáncer, edad de presentación.
- Datos sobre el tipo de tumor: estadio, clasificación.

Los subtipos de cáncer histológico se evaluaron en la unidad provincial intercentros de Anatomía Patológica de Granada después de una biopsia sólida seguida de inmunodetección de tejidos. Los subtipos moleculares para cáncer de mama se denominaron según la clasificación de Perou et al. (Tabla 1): luminal A, luminal B, HER2 positivo y basal. En el 14.9% de todos los pacientes con CM no se obtuvo la caracterización histológica debido a que dicha información no venía indicada en la historia clínica.

Con respecto al cáncer de ovario, los subtipos histológicos recogidos fueron seroso, endometrioide, epitelial, mucinoso y otros subtipos englobados en un único subgrupo. En un 19.7% de los casos de cáncer de ovario no se localizó el resultado del estudio anatomopatológico, por no disponer de dicha información en la plataforma de historia clínica.

3.1.2 Criterios de selección

Los criterios de selección de pacientes se definieron de acuerdo con los que establece la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) (191,192) (Tabla 6).

Tabla 6. Criterios de inclusión para el estudio de cohortes según las directrices definidas de la SEOM

n	Características clínico-patológicas
1 cáncer familiar (independiente de la historia familiar)	- Cáncer de mama y cancer de ovario sincrónico o metacrónico. - Cáncer de mama diagnosticado antes de los 35 años. - Cáncer de mama bilateral, uno de ellos diagnosticado antes de los 40 años. - Cáncer de mama triple negativo diagnosticado antes de los 50 años. - Carcinoma de ovario de alto grado no mucinoso.
2 afectos en la familia, familiar de primer grado	- Cáncer de mama bilateral y cáncer de mama diagnosticado antes de los 50 años. - Cáncer de mama en hombre y un cáncer de mama/ cáncer de ovario en mujer. - Cáncer de mama y cáncer de ovario. - 2 casos de cáncer de mama diagnosticados antes de los 50 años.
≥3 afectos en la familia, al menos dos familiares de primer grado	≥3 casos de cáncer de mama y/o cáncer de ovario, cáncer de pancreas, cáncer de próstata, independiente de la edad.

La cohorte de estudio ha consistido en pacientes con cáncer de mama (n = 650) y cáncer de ovario (n = 66), así como individuos libres de cáncer de alto riesgo (n = 108), la mayoría cumpliendo con los criterios de inclusión definidos anteriormente. Una parte de estos individuos (37.5%) no cumplía estrictamente con ninguno de los criterios de inclusión de la SEOM. Sin embargo, fueron evaluados debido a que en la consulta de consejo genético se consideró que, en ocasiones, la falta de información familiar o la presencia de familias poco informativas no debían ser factores de exclusión para que también fueran candidatos de portar una VP/VPP. Los criterios más flexibles aplicados fueron los siguientes: antecedentes familiares de cáncer de mama, cáncer de mama sin antecedentes familiares, antecedentes familiares de cáncer de ovario, cáncer de ovario sin antecedentes familiares, y antecedentes desconocidos de cáncer de mama/ovario.

A los pacientes que cumplieron alguno de los criterios de inclusión mencionados anteriormente se les ofreció la posibilidad de someterse al estudio genético. Todos los sujetos evaluados recibieron información detallada sobre el análisis genético y sus posibles implicaciones, y otorgaron su consentimiento para participar en el estudio genético mediante la comprensión y firma del correspondiente formulario de "consentimiento informado" (ver **anexo V**).

Los criterios de exclusión para participar en el estudio genético incluyeron lo siguiente: no cumplir con ninguno de los criterios de inclusión previamente mencionados, tener menos de 18 años de edad y aquellos pacientes que no aceptaron someterse al estudio genético o no firmaron el formulario de consentimiento informado.

Este estudio fue aprobado por el “Comité de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía” (ver **Anexo VI**) y se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes, para la recogida de muestra y análisis genético, así como para el uso de sus muestras con fines de investigación.

3.2 Externalización de pruebas genéticas (años 2013-2017)

Desde el año 2013 hasta mediados del año 2017, las muestras de los pacientes seleccionados en la consulta de asesoramiento genético se externalizaron a un laboratorio externo de referencia para su análisis genético. En este caso se enviaron las muestras de sangre total para su análisis.

Durante ese tiempo, se estudiaron únicamente los genes *BRCA1* y *BRCA2* mediante secuenciación dirigida para la detección de variantes puntuales o SNV (*Single Nucleotide Variant)*. Aquellos pacientes en los que no se había detectado variante patogénica, probablemente patogénica o variante de significado incierto se amplió el análisis con el fin de detectar pequeñas inserciones/deleciones, es decir, detección de variantes de número de copias o CNV (*Copy Number Variation)* no detectables por la técnica de secuenciación Sanger. La técnica empleada para el análisis de CNV fue la amplificación de sonda tras ligación múltiple o MLPA.

3.2.1 Tecnología

3.2.1.1 Secuenciación Sanger

La secuenciación Sanger realizada por el laboratorio externo se basó en la amplificación de los genes *BRCA1* y *BRCA2* utilizando un set de *primers* específicos para la amplificación por PCR y posterior secuenciación de las regiones codificantes de estos genes.

3.2.1.2 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)

Esta técnica se basa en la técnica de PCR multiplex la cual permite amplificar varias secuencias de ADN simultáneamente.

En este caso el laboratorio externo utilizó el ensayo de MRC Holland; SALSA MLPA Probemix P002 BRCA1 que contiene 48 sondas MLPA con productos de amplificación de entre 130 y 469 nucleótidos (nt) y SALSA MLPA Probemix P045 BRCA2 que contiene 51 sondas MLPA con productos de amplificación de entre 130 y 500 nucleótidos (nt).

3.2.2 Circuito asistencial

3.2.2.1 Solicitud de pruebas

Durante estos años, no se disponía de un formato establecido para realizar la solicitud del estudio genético. La petición de las pruebas genéticas se realizaba en formato físico (mediante un volante o P10, una plantilla rellenable o un documento en papel) solicitando de manera manual la realización del análisis genético para los genes *BRCA1* y *BRCA2* (ejemplo de plantilla para solicitud de estudio genético en **Anexo VII**). También se disponía del consentimiento informado en formato impreso para la correspondiente firma del paciente.

Los datos recogidos sobre la historia familiar y personal del paciente en la consulta de consejo genético, se archivaba en carpetas depositadas en armarios bajo llave.

Previo a la realización del estudio genético, era necesario realizar una solicitud justificada a la dirección médica del hospital de cada una de las pruebas genéticas solicitadas, para que autorizara el coste del estudio genético y así poder enviarlo al laboratorio externo para su análisis.

Una vez que la muestra sanguínea llegaba al laboratorio, se procedía a enviarla a un laboratorio de referencia para realizar la secuenciación de los genes *BRCA1* y *BRCA2*. En los casos en los que no se detectó ninguna variante patogénica o probablemente patogénica mediante secuenciación Sanger se solicitó al laboratorio externo de referencia la ampliación del estudio genético mediante la técnica MLPA para la identificación de posibles CNV no detectables mediante secuenciación dirigida.

3.2.2.2 Informe de resultados

Los resultados del estudio genético, así como la interpretación de las variantes detectadas fueron realizados por el laboratorio externo. Los resultados obtenidos se exportaban a una plantilla donde se recogían los datos del paciente y se anexaba el informe de resultados enviado por el laboratorio externo.

3.3 Desarrollo e implantación de pruebas genéticas (2017-2018)

A lo largo del segundo trimestre de 2017 se desarrolló la fase de equipamiento de la nueva tecnología con la recepción de instrumentación, configuración y puesta en marcha. El secuenciador de nueva generación Miseq® se ubicó en el área de laboratorios del Hospital Virgen de las Nieves. A continuación, se realizó un período de formación del personal tanto técnico como facultativo, al que le siguió una etapa de validación de resultados, donde primeramente se realizó un "training" con 12 muestras con los responsables de la casa comercial y posteriormente se validaron 24 muestras con resultado ya conocido. Las primeras muestras clínicas procesadas después de realizar el período de validación del método se analizaron durante el mes de agosto de 2017.

3.3.1 Tecnología

3.3.1.1 Secuenciación de segunda generación (NGS)

- **Extracción de ADN**

Para la obtención de la muestra a analizar, generalmente se realizó una extracción sanguínea mediante punción venosa o venopunción en tubos con el anticoagulante EDTA. Una vez obtenida la muestra, se procedió a la extracción del material genético en nuestro laboratorio mediante el sistema automatizado en el equipo QIAcube® siguiendo el protocolo indicado por el fabricante.

Una vez realizada la extracción de ADN, se cuantificó el ADN obtenido mediante un espectrofotómetro (NanoDrop®, Thermo Scientific). La calidad de nuestras muestras estaba entre las relaciones de absorbancia recomendadas 1.8-2.0 para la relación 260/280 y entre 1.6-2.4 para 260/230.

Al ADN extraído, se le realizó una dilución inicial con agua libre de DNAsas para obtener una concentración en el rango de 50 a 100 ng/µl. La concentración de ADN se confirmó mediante una cuantificación fluorométrica (Qubit®, Thermo Fisher).

♦ Secuenciación masiva

La secuenciación de segunda generación se realizó utilizando el panel multigénico *Hereditary cancer solution* (HCS) de SOPHiA GENETICS con marcado CE/IVD en el analizador MiSeq® de Illumina® ubicado en el área de laboratorios del HUVN.

Esta tecnología de secuenciación de nueva generación aprovecha el proceso químico de secuenciación por síntesis (SBS, sequencing by synthesis) basado en la secuenciación paralela masiva de miles de millones de fragmentos de ADN y la detección de bases individuales a medida que se incorporan a las cadenas de ADN en crecimiento. Este panel comercial incluye 27 genes relacionados con CMOH, síndrome de Lynch, síndrome intestinal polipósico y poliposis adenomatosa familiar (Tabla 7).

Tabla 7. Genes incluidos en el panel comercial HCS de Sophia Genetics (CE/IVD)

ENFERMEDAD	GENES
Cáncer de mama y ovario hereditario	*ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, FAM 175A, MRE11A, NBN, PALB2, PIK3CA, RAD50, RAD51C, RAD51D, TP53, XRCC2*
Síndrome de Lynch	*EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, PMS2CL*
Síndrome intestinal polipósico	*MUTYH, PTEN, STK11*
Poliposis adenomatosa familiar	*APC*

El panel HCS cubre las regiones codificantes ± 25 pb de codificante ± 25 pb de ADN no codificante en las regiones que flanquean los exones de los 27 genes clínicamente más relevantes (región diana de 105 kp).

De manera específica el protocolo utilizado para el análisis de las muestras es el *Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics* (guía del usuario versión 2.0) kit de preparación para 48 muestras. Tal y como se resume en la Figura 12:

Figura 12. Esquema resumen de las etapas de NGS de Sophia Genetics

Fuente: Elaboración propia

Una vez finalizada la secuenciación de las muestras, los resultados deben cargarse en la aplicación web SOPHiA DDM™ Web App y analizarse mediante la aplicación SOPHiA DDM™ Dx -SOPHiA DDM™ Dx HCS (Figura 13).

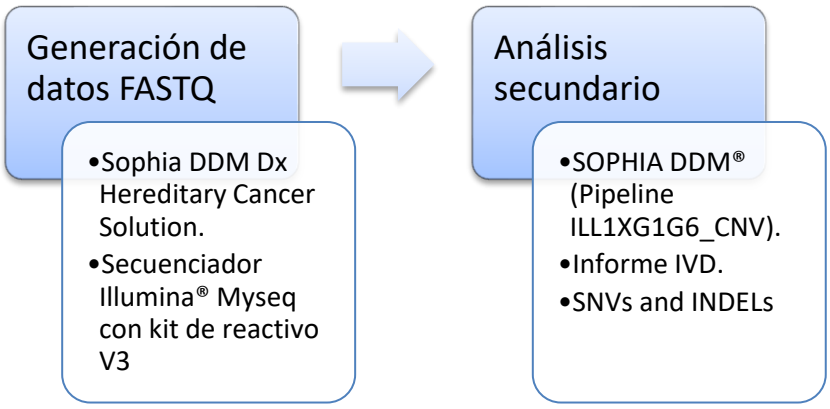


Figura 13. Análisis bioinformático realizado por la plataforma Sophia DDM ®

El programa de análisis (Sophia DDM ®) permite la creación de paneles virtuales de genes. Esto significa que, aunque se hayan secuenciado y alineado los 27 genes disponibles en el panel comercial, en este estudio se analizaron únicamente los siguientes 16 genes de alta y moderada penetrancia relacionados con cáncer de mama y ovario hereditarios según las bases de datos OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*) y HPO (*Human Phenotype Ontology*): *ATM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1, MSH2, MSH6, PALB2, PMS2, PTEN, RAD51C, RAD51D, STK11 y TP53.*

◊ **Identificación de variantes**

Una vez cargados los archivos FastQ obtenidos del secuenciador, la aplicación informática Sophia DDM realiza una preclasificación de variantes para mejorar la evaluación de la patogenicidad de las variantes basándose tanto en las puntuaciones ACMG como en predicciones basadas en machine learning (ver **Anexo VIII** donde se indican los pasos a seguir para la anotación de variantes en Sophia DDM).

En referencia a la identificación de variantes número de copias, Sophia DDM permite la detección de cualquier CNV hasta una resolución de 200 pb sin necesidad de utilizar muestras control. Para ello se analizan los niveles de cobertura de las regiones diana en

las muestras de una misma serie. Para cada muestra, el algoritmo selecciona automáticamente un conjunto de muestras de referencia de la misma en función de la similitud de los patrones de cobertura.

La patogenicidad de las variantes identificadas, así como el cambio de proteínas y la ubicación de exón/intrón se confirmaron utilizando bases de datos disponibles públicamente: HGMD (*Human Gene Mutation Database Professional*), LOVD (*Leiden Open Variation Database*), BRCA Exchange, ClinVar (Base de datos de variantes clínicas), ICC (Información sobre el cáncer de mama), ExAC (*Exome Aggregation Consortium*) y GnomAD (*Genome Aggregation Database*).

Todas las variantes patogénicas y/o probablemente patogénicas detectadas en los pacientes de este estudio fueron posteriormente validadas en un laboratorio externo mediante secuenciación Sanger o MLPA, confirmándose el 100% de las variantes identificadas mediante NGS en nuestro centro.

◊ **Interpretación de los resultados**

Las variantes se notificaron como variantes patogénicas (VP), variantes probablemente patogénicas (VPP) y variantes de significado incierto (VUS). Las variantes identificadas como benignas (VB) o variantes probablemente benignas (VPB) no se notificaron en el informe de resultados final.

Para la evaluación de la patogenicidad de las variantes de significado incierto, se siguieron las recomendaciones de ACMG, así como diferentes softwares de predicción *in silico* basados en métodos de aprendizaje supervisado: SIFT, Poliphen2, LTR y Mutación Taster.

3.3.2 Circuito asistencial

3.3.2.1 Petición electrónica

Durante esta etapa, coincidiendo con la internalización de los análisis genéticos en nuestro centro, se produjo el desarrollo de la petición electrónica en el Módulo de Pruebas Analíticas (MPA) de Diraya para los paneles de genes relacionados con CMOH. Se eliminaron, por tanto, de manera progresiva las solicitudes de estudios genéticos y la historia recogida en la consulta de asesoramiento genético, en formato papel, quedando toda la información del paciente disponible en un episodio de la base de datos hospitalaria de Diraya Clínica.

3.3.2.2 Informe de resultados

Al igual que ocurrió con la solicitud de estudios genéticos, los resultados obtenidos mediante NGS se comenzaron a notificar de manera informatizada, mediante el Sistema de Información al Laboratorio (SIL) Modulab. El informe genético contiene los siguientes datos:

- Nombre, apellidos y NUHSA (Número de Historia Única de Salud de Andalucía) del paciente.
- Prueba genética solicitada.
- Tecnología utilizada, genes disponibles en el panel comercial y genes analizados.
- Resultado.
- Interpretación de los resultados.

3.4 Variables recogidas en el estudio

De todos los pacientes incluidos en el estudio se realizó una exhaustiva recogida de datos, de manera manual, a partir de los datos recogidos tanto en los archivos en formato papel como en la plataforma de historia clínica digital del Sistema Andaluz de

Salud (Diraya), desde donde se puede acceder también a los resultados de las pruebas complementarias (laboratorio, anatomía patológica, pruebas de imagen, etc).

Se creó una base de datos en la hoja de cálculos "Excel" con las variables de interés para cada individuo, se eliminaron los datos identificativos de cada paciente (nombre, apellidos y NUHSA) y se introdujeron códigos para anonimizar a dichos pacientes, además la base de datos se protegió mediante contraseña.

Los parámetros recogidos en la base de datos son los que se indican a continuación:

- Código identificativo del paciente.
- Año del estudio genético.
- Hospital de procedencia.
- Sexo.
- Tipo de cáncer.
- Tipo histológico/ clasificación.
- Edad del cáncer (si el paciente no tiene cáncer se indica como "no aplica").
- Edad a la que se realizó el test genético.
- Antecedentes familiares.
- Tipo de estudio genético (Sanger o NGS).
- Resultado del estudio genético.
- Descripción de la variante genética (cambio c.DNA, proteína, exón, rs).
- Interpretación del resultado.

A aquellos pacientes que obtuvieron una variante patogénica o probablemente patogénica en el estudio genético, se les realizó una búsqueda en la historia digital de salud de para obtener información acerca de la evolución clínica de los mismos a fecha 31 de diciembre de 2023 (Figura 14).

Figura 14. Representación gráfica de la recogida de datos de los pacientes desde el momento del diagnóstico genético

La información recopilada y que se adicionó a la base de datos fue referente a:

- Evolución de la enfermedad, con el desarrollo de nuevos tumores o metástasis.
- Pacientes que causaron exitus durante el seguimiento.
- Medidas profilácticas adoptadas:
    - Mastectomía bilateral/ contralateral.
    - Salpingooforectomía bilateral profiláctica.
    - Mastectomía bilateral/ contralateral y salpingooforectomía bilateral profiláctica.
    - Seguimiento y revisiones periódicas.
- Otros datos de interés como el uso de tratamiento con olaparib.

3.5 Análisis estadístico

Respecto al análisis estadístico, se llevaron a cabo análisis descriptivos de las principales variables de estudio. Como variables cuantitativas que se calcularon: media, desviación típica o mediana y percentiles, según la normalidad de los datos.

Respecto a las variables cualitativas se obtuvieron: frecuencias absolutas y relativas, representando los datos en tablas y gráficos. Se comprobaron si los datos se ajustaban a una distribución normal, para ello se utilizó el test de *Shapiro-Wilk*, para determinar si posteriormente se realizarán pruebas paramétricas o no paramétricas.

Para contrastar si existen diferencias entre la distribución de los resultados de los distintos tests genéticos (NGS o secuenciación dirigida) se usaron tablas de contingencia y análisis de Chi-quadrado. Los contrastes de hipótesis entre variables distribuidas normalmente se realizaron mediante un análisis de ANOVA y se utilizó el test de Kruskal-Wallis para los casos de no-normalidad.

Si bien los análisis de supervivencia no entran dentro del marco temporal de este proyecto, se ha realizado un seguimiento del historial clínico de cada paciente como mínimo de cinco años, que posteriormente se irá actualizando para permitir realizar un análisis de supervivencia por el método de Kaplan-Meier y establecer una correlación entre la aparición del tumor y los resultados genéticos obtenidos, además de las variables analizadas más relevantes. Se comparó la incidencia de cáncer entre los distintos grupos con el método de Log-Rank. Para las correlaciones entre los distintos tipos de variables se utilizarán coeficientes de Pearson, así como para estudiar la concordancia de los perfiles mutacionales entre los distintos grupos de pacientes. El nivel de significación considerado para todos los contrastes fue de 0.05. Los dos softwares estadísticos que se utilizarán son IBM-SPSS-Statistics 25.0 y GraphPad Prism v.8.

4 RESULTADOS

4.1 Capítulo 1: Evaluación de la epidemiología genética del síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditarios en la provincia de Granada

4.1.1 Análisis del rendimiento de las estrategias diagnósticas

En este estudio se analizaron un total de 824 pacientes caso índice, mediante dos tecnologías diferentes, inicialmente entre el año 2013 y mitad del año 2017 se analizaron los genes *BRCA1* y *BRCA2* en 438 pacientes (53.2%) mediante tecnología de secuenciación dirigida (Secuenciación Sanger) y técnica MLPA en aquellos casos en los que en el estudio genético no se identificó ninguna variante Clase IV/V ni Clase III.

Desde el segundo semestre del año 2017 a diciembre del año 2018 coincidiendo con la introducción de las técnicas de secuenciación de segunda generación en nuestro centro, se estudiaron 386 pacientes (46.8%). En este caso, se analizaron 16 genes relacionados con CMOH (*BRCA1, BRCA2, PABL2, ATM, TP53, PTEN, CDH1, STR11, CHEK2, BRIP1, RAD51C, RAD51D, MSH6, MSH2, MLH1, PMS2*) (Figura 14).

4.1.1.1 Estudio genético mediante secuenciación Sanger frente a NGS

Mediante la técnica de secuenciación dirigida (Sanger) se detectaron un total de 47/438 variantes patogénicas o probablemente patogénicas que se corresponde con un **10.7%** de detección para los genes *BRCA1* (19/47; 40.4%) y *BRCA2* (28/47; 59.6%) (Figura 15).

Tras la instauración de la técnica NGS en el laboratorio se detectaron un total de 51/386 variantes patogénicas o probablemente patogénicas que se corresponde con un **13.2%** de variantes patogénicas o probablemente patogénicas identificadas. Siendo importante destacar, que 25 de ellas se identificaron en otros genes diferentes a *BRCA1/BRCA*2: *PALB2* (8/51; 15.7%), *ATM* (7/51; 13.7%), *CHEK2* (4/51; 11.8%), *MSH6* (2/51; 3.9%), *TP53* (2/51; 3.9%) y *RAD51C* (2/51; 3.9%) (Figura 15).

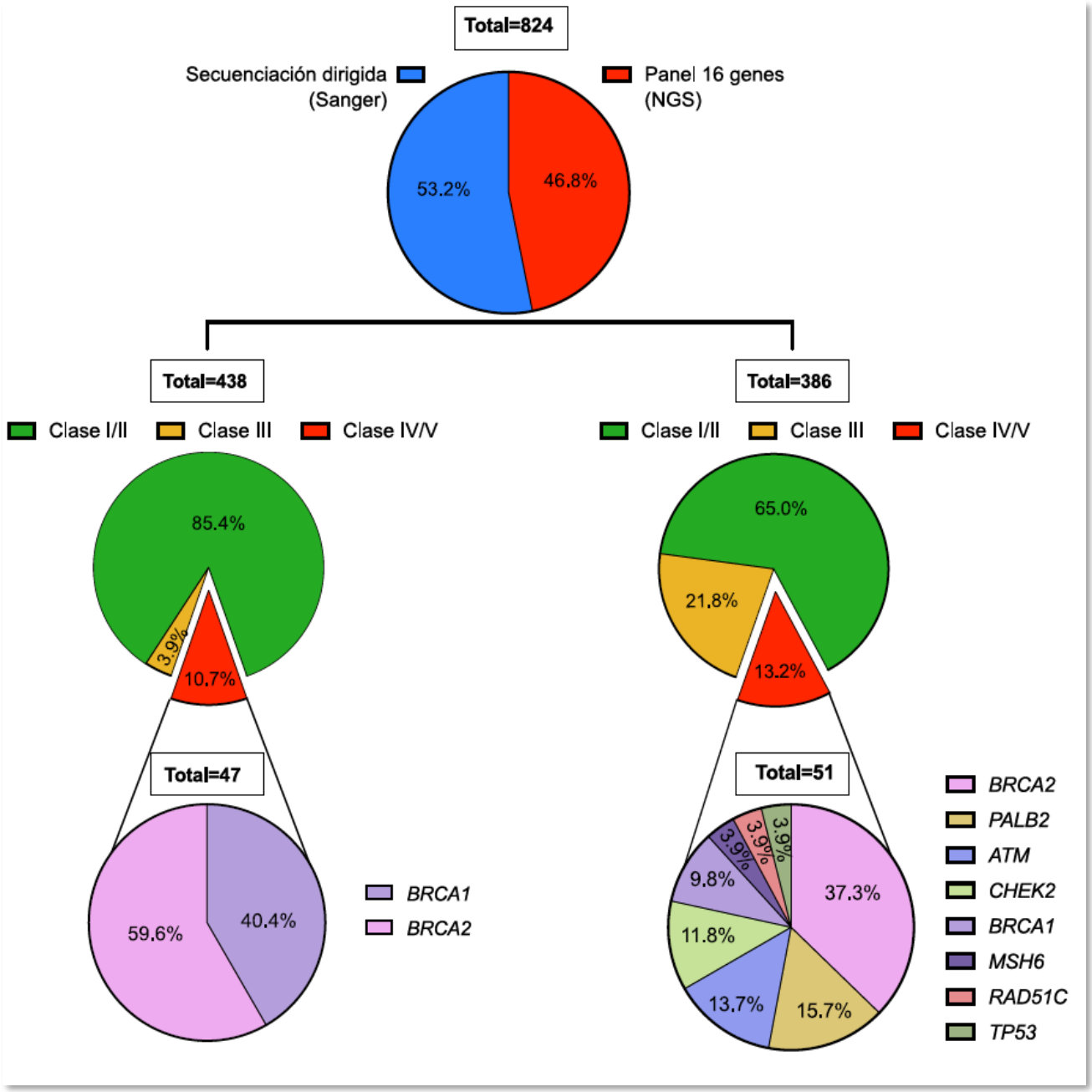


Figura 15. Gráficos circulares que describen el diseño del estudio y la distribución de la población para las diferentes variantes genéticas

Los resultados del panel multigénico se compararon con los resultados obtenidos mediante la secuenciación Sanger para dilucidar el impacto clínico del uso de paneles NGS en lugar de la secuenciación dirigida. Al comparar solo los resultados *de BRCA1/BRCA2,* no se identificaron diferencias significativas con respecto a la aparición de cáncer (OR 0,85 [0,21–2,85]) o a la patogenicidad de las variantes (OR 1,05 [0,51–2,19]). Sin embargo, al considerar todos los genes incluidos en el panel multigénico, se observaron diferencias significativas con respecto a la patogenicidad de las variantes (p <0,0001).

Por lo tanto, el panel multigénico pudo resolver significativamente más pacientes de alto riesgo (Figura 16.A) y esto dependió únicamente de la inclusión de genes adicionales, ya que no se observaron diferencias significativas en los resultados de *BRCA1/BRCA2* entre las dos tecnologías (Figura 16.B).

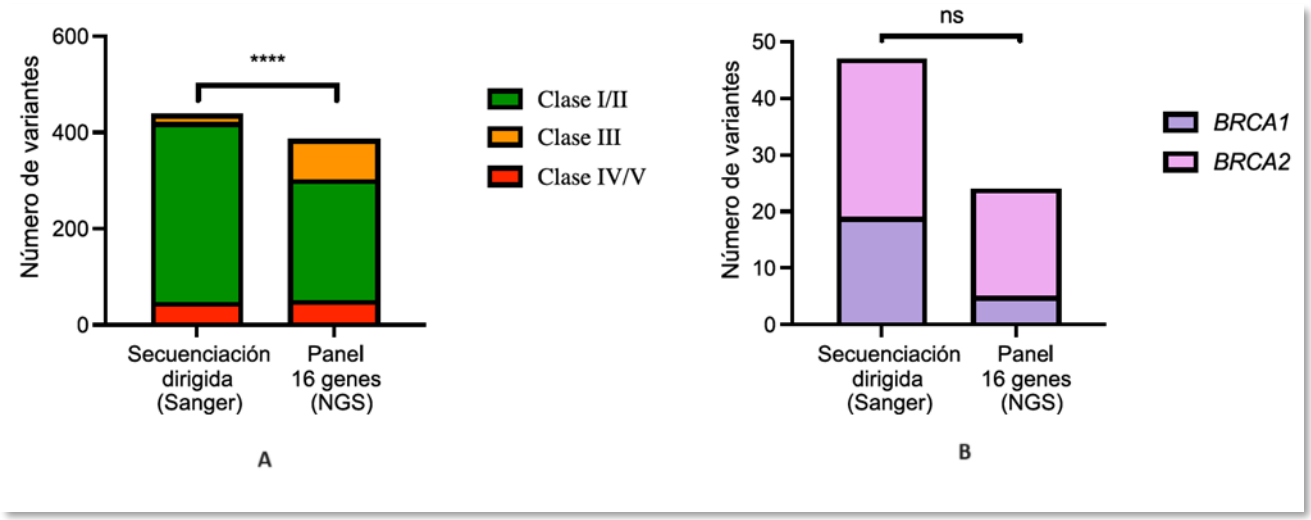


Figura 16. Comparación entre ambas tecnologías respecto a la patogenicidad de las variantes (A) y comparación entre ambas tecnologías respecto a la detección de variantes patogénicas en los genes BRCA1 y BRCA2 (B)

4.1.2 Análisis de las variantes identificadas

4.1.2.1 Variantes patogénicas y probablemente patogénicas

♦ **Identificación de variantes**

De manera global, la tasa de detección para variantes patogénicas/ probablemente patogénicas fue del **11.9%** (98/824). Las variantes patogénicas más prevalentes, ya que a la mitad de la población solo se le realizaron pruebas para esos dos genes, se encontraron en *BRCA2* (47/824; 5.7%) y *BRCA1* (24/824; 2.9%).

Con respecto a las VP/VPP en los nuevos genes disponibles mediante NGS, se detectaron 8/824 (0.97%) en *PALB2*, 7/824 (0.85%) en *ATM*, 6/824 (0.73%) en *CHEK2*, 2/824 (0.24%) en *MSH6*, 2/824 (0.24%) en *RAD51C* y 2/824 (0.24%) en *TP53* (Figura 15).

En referencia a la identificación de CNV, mediante secuenciación Sanger se identificó una deleción del exón 22 en *BRCA1* y mediante NGS se detectó una duplicación en el gen *CHEK2* (g.34850-34958_43301-43362dup) y una deleción en el gen *RAD51C* (g.614-747_1069-2562del). Todas las VP/VPP identificadas en este estudio se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Variantes patogénicas y probablemente patogénicas identificadas en este estudio

Las frecuencias se calculan en función del número total de mutaciones identificadas por gen.

Las CNV se han identificado en negrita

Gen	Cambio en ADN	Cambio de proteína	dbSNP	Frecuencia (%)	Tipo de cáncer
BRCA1	c.68_69delAG	p.Glu23Valfs	rs80357914	4/24 (16)	CM (2) / CO (1) / sC
	c.3770_3771del	p.Glu1257Glyfs	rs80357579	4/24 (16)	CM
	c.211A>G	p.Arg71Gly	rs80357382	3/24 (12)	CM
	c.5123C>A	p.Ala1708Glu	rs28897696	2/24 (8)	CM (1) / CO (1)
	Del exón 22	N/A	N/A	2/24 (8)	CM
	c.5030_5033del	p.Thr1677Ilefs	rs80357580	1/24 (4)	CM
	c.1612C>T	p.Gln538Ter	rs80356893	1/24 (4)	CM
	c.302-1G>A	N/A	rs80358116	1/24 (4)	CM
	c.4406dupC	p.Glu1470Argfs	*No descrita*	1/24 (4)	CM
	c.470_471delCT	p.Ser157Terfs	rs80357887	1/24 (4)	CO
	c.5078_5080del	p.Ala1693del	rs80358345	1/24 (4)	CO
	c. 83_84delTG	p.Leu28Argfs	rs80357728	1/24 (4)	CM
	c.5266dupC	p.Gln1756Profs	rs80357906	1/24 (4)	CM
	c.70_73dup	p.Pro25Leufs	rs397509310	1/24 (4)	CM

BRCA2	c.3922G>T	p.Glu1308Ter	rs80358638	5/47 (10.6)	CO (2) / CM (3)
	c.3264dupT	p.Gln1089Serfs	rs80359380	4/47 (8.5)	CM
	c.5720_5723del	p.Ser1907terfs	rs80359530	4/47 (8.5)	CM (3) / sC (1)
	c.1792delA	p.Thr598Hisfs	rs886040389	2/47 (4.3)	CM (1) / CO (1)
	c.5576_5579del	p.Ile1859Lysfs	rs80359520	2/47 (4.3)	CM
	c.6024dupG	p.Gln2009Alafs	rs80359554	2/47 (4.3)	CM
	c.6275_6276del	p.Leu2092Profs	rs11571658	2/47 (4.3)	CM
	c.9018C>A	p.Tyr3006Ter	rs80359154	2/47 (4.3)	CM
	c.9026_9030del	p.Tyr3009Serfs	rs80359741	2/47 (4.3)	CM (1) / sC (1)
	c.1608dupT	p.Glu537Terfs	rs276174811	1/47 (2.1)	CM
	c.1128delT	p.Phe376Leufs	rs80359263	1/47 (2.1)	CM
	c.1813dupA	p.Ile605Asnfs	rs80359306	1/47 (2.1)	CM
	c.2197_2198ins(	p.Val733Glyfs*2	*No descrita*	1/47 (2.1)	CO
	c.2376C>A	p.Tyr792Ter	rs80358503	1/47 (2.1)	CM
	c.2701delC	p.Ala902Leufs	rs397507637	1/47 (2.1)	CO
	c.3847_3848del	p.Val1283Lysfs	rs80359405	1/47 (2.1)	CM
	c.4060dupA	p.Thr1354Asnfs	*No descrita*	1/47 (2.1)	CM
	c.4263dupT	p.Glu1422Terfs	rs1555283664	1/47 (2.1)	CM
	c.4380_4381del	p.Ser1461Leufs	rs397507715	1/47 (2.1)	CM
	c.4740_4741du	p.Glu1581Valfs	rs864622401	1/47 (2.1)	CO
	c.5669_5673del	p.Met1890Argfs	rs876660311	1/47 (2.1)	CM
	c.5722_5723del	p.Leu1908Argfs	rs80359530	1/47 (2.1)	CM
	c.6034delT	p.Ser2012Profs	rs397507823	1/47 (2.1)	CM
	c.6209_6212del	p.Glu2070Valfs	rs276174866	1/47 (2.1)	CO
	c.7110dupA	p.Ser2371Ilefs	rs80359638	1/47 (2.1)	CM
	c.7618-1G>A	N/A	rs397507389	1/47 (2.1)	CM
	c.7863T>A	p.Tyr2621Ter	rs276174896	1/47 (2.1)	CM
	c.8487 + 1G>A	N/A	rs81002798	1/47 (2.1)	CM
	c.9117G>A	p.Pro3039=	rs28897756	1/47 (2.1)	sC
	c.9382C>T	p.Arg3128Ter	rs80359212	1/47 (2.1)	CM
	c.9413T>G	p.Leu3138Ter	rs886040838	1/47 (2.1)	CM
ATM	c.320dupG	p.Cys107Trpfs*	*No descrita*	1/7 (14.3)	CM
	c.790delT	p.Tyr264Ilefs	rs587781978	1/7 (14.3)	CM
	c.2921+1G>A	p.Tyr947fs	rs587781558	1/7 (14.3)	CM
	c.3046G>T	p.Gly1016*	*No descrita*	1/7 (14.3)	CM
	c.6215delG	p.Gly2072Aspfs	*No descrita*	1/7 (14.3)	CM
	c.7751_7754del	p.Thr2584Lysfs	*No descrita*	1/7 (14.3)	CM
	c.8122G>A	p.Asp2708Asn	rs587782719	1/7 (14.3)	CM
PALB2	c.2964delA	p.Val989Terfs	rs587781840	3/8 (37.5)	CM
	c.1653T>A	p.Tyr551Ter	rs118203997	3/8 (37.5)	CM (2) / sC (1)
	c.2257C>T	p.Arg753Ter	rs180177110	1/8 (12.5)	CM
	c.1535dupA	p.Tyr512*fs*1	*No descrita*	1/8 (12.5)	CM
CHEK2	c.349A>G	p.Arg117Gly	rs28909982	3/6 (50)	CM (2) / sC (1)
	c.507delT	p.Phe169Leufs	rs587780183	1/6 (16.7)	CM
	c.1427C>T	p.Thr476Met	rs142763740	1/6 (16.7)	CM
	g.34850-34958_43301-43362dup	N/A	*No descrita*	1/6 (16.7)	CM
MSH6	c.738_741delAA	p.Lys246Asnfs	*No descrita*	1/2 (50)	CM
	c.2314C>T	p.Arg772Trp	rs63750138	1/2 (50)	sC
RAD51C	**c.104dupC**	p.Glu36*fs*1	*No descrita*	1/2 (50)	CM
	g.614-747_1069-2562del	N/A	*No descrita*	1/2 (50)	sC
TP53	c.722C>G	p.Ser241Cys	rs28934573	1/2 (50)	CO
	c.848G>A	p.Arg283His	rs371409680	1/2 (50)	CM

sC=sin cáncer

♦ Variantes no descritas en las bases de datos

En nuestra cohorte se detectaron 11 nuevas variantes patogénicas, todas ellas fueron caracterizadas según los criterios de clasificación de variantes de ACMG 2015 y mediante el uso de predictores *in silico*, posteriormente fueron registradas en la base de datos ClinVar (Tabla 9).

Dos de las nuevas variantes patogénicas se identificaron en *BRCA2* y una en *BRCA1*. Las nueve variantes restantes se encontraron en *ATM* (4), *PALB2* (1), *CHEK2* (1), *MSH6* (1) y *RAD51C* (2).

Nueve de los pacientes portadores de estas nuevas variantes desarrollaron cáncer de mama, un caso mostró cáncer de ovario (BRCA2)c.2197_2198ins(157) y hubo un único individuo libre de cáncer que portaba la variante g.(9330_15513)_(46730_48604)del en el gen *RAD51C*.

Tabla 9. Variantes patogénicas no descritas identificadas y reportadas en ClinVar (número de acceso SUB6135852)

*Variante reclasificada en ClinVar como factor de riesgo

GEN	CRITERIOS ACMG 2015	CAMBIO ADN	CAMBIO PROTEINA	TIPO CÁNCER	SUBTIPO HISTOLÓGICO	EDAD INICIO
BRCA1	PVS1, PM2	c.4406dupC	p.Glu1470Argfs	CM	Luminal A	41
BRCA2	PVS1	c.2197_2198ins(157)	p.Val733Glyfs*22	CO	Seroso	60
BRCA2	PVS1, PS4	c.4060dupA	p.Thr1354Asnfs*7	CM	Luminal A	72
ATM	PVS1, PS4	c.320dupG	p.Cys107Trpfs*8	CM	Luminal A	51
ATM	PVS1, PS4	c.3046G>T	p.Gly1016*	CM	Basal	66
ATM	PVS1, PS4	c.6215delG	p.Gly2072Aspfs*10	CM	Luminal B	44
ATM	PVS1, PS4	c.7751_7754delCTAA	p.Thr2584Lysfs	CM	N/A	44
PALB2	PVS1, PS4	c.1535dupA	p.Tyr512*fs*1	CM	Luminal A	54
CHEK2	PM4	g.(27473_34849)_(43363_46929)dup	N/A	CM	*Desc*	38
RAD51C	PVS1, PM2	c.104dupC	p.Glu36*fs*1	CM	Luminal A	52
RAD51C	PM4*	g.(9330_15513)_(46730_48604)del	N/A	sC	N/A	N/A

desc=desconocido

4.1.2.2 Variantes de significado incierto (VUS)

♦ **Identificación y reclasificación de VUS**

El número de variantes de significado incierto detectadas se vio incrementado de manera significativa entre ambas técnicas, pasando de un 3.9% detectadas mediante secuenciación Sanger, a un 21.8% identificadas mediante panel multigénico (Figura 15).

Durante el periodo de seguimiento se realizaron revisiones periódicas para verificar si las VUS detectadas habían experimentado una reclasificación en otra categoría de patogenicidad. Así, en los estudios genéticos realizados en nuestra cohorte de pacientes, se identificaron inicialmente un total de 145 VUS. En el año 2020, se llevó a cabo una primera revisión exhaustiva de todas las VUS mediante su consulta en las bases de datos disponibles obteniendo los siguientes resultados: 42/145 (29%) fueron reclasificadas como benignas o probablemente benignas, mientras que 2/145 (1.4%) fueron identificadas como variantes patogénicas o probablemente patogénicas (Figura 17).

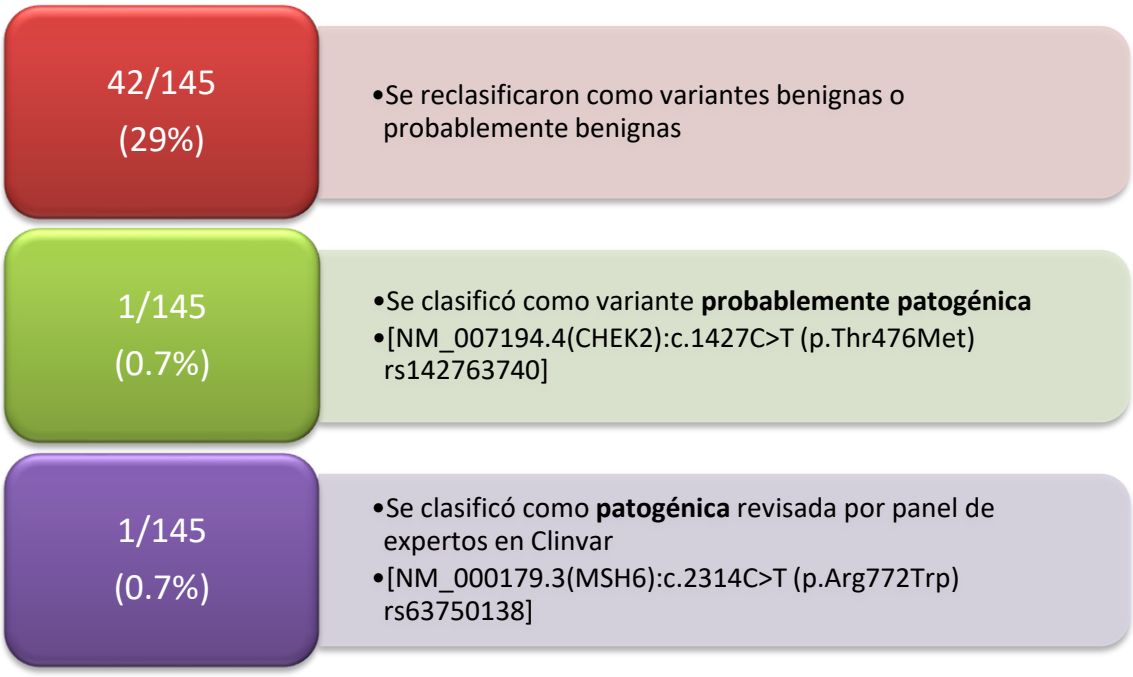


Figura 17. Reclasificación de variantes de significado incierto realizada en el año 2020

Esta reclasificación de variantes provocó una modificación importante de los resultados obtenidos, pasando de las 145 VUS identificadas al inicio a 101 VUS. Siendo principalmente relevante la identificación de una variante patogénica en el gen *MSH6* y una variante probablemente patogénica en el gen *CHEK2*, ya que estas reclasificaciones tienen una implicación directa tanto para el paciente como para sus familiares.

Si analizamos la reclasificación de variantes según el grupo de genes, es decir, en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, se detectaron inicialmente menos variantes de significado incierto en comparación con los demás genes analizados en el panel de NGS (60 VUS en *BRCA1* y *BRCA2* frente a 85 VUS en el resto de genes). Además, tras la primera revisión de variantes en el año 2020, observamos una mayor reclasificación en el grupo de genes *BRCA1*/*BRCA2* en comparación con el resto de los genes del panel multigénico (Figura 18).

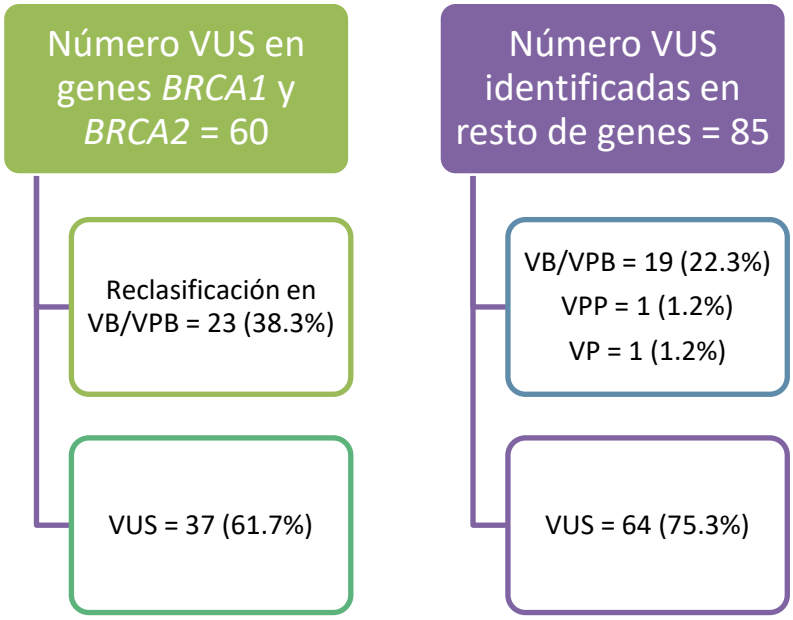


Figura 18. Evolución de las VUS detectadas en los genes BRCA1 y BRCA2 frente al resto de genes disponibles en el panel multigénico tras su primera revisión en el año 2020

De manera global, tras la reclasificación de las variantes de significado incierto indicada anteriormente, nuestra cohorte incluye un total de 101/824 (**12.25%**) VUS (Tabla 10)

Tabla 10. VUS identificadas en este estudio tras la revisión de variantes en el año 2020

*Variantes reclasificadas en Clinvar como VB/VPB en la última revisión (año 2023)

Gen	Cambio en ADN	Cambio de proteina	dbSNP	Frecuencia (%)	Tipo de cáncer
BRCA1	c.2662C>T	(p.His888Tyr)	rs80357480	2/8 (25)	CM
	c.4261C>T	(p.His1421Tyr)	rs80357013	2/8 (25)	CM
	c.4485-10G>A	N/A	*No descrita*	1/8 (12.5)	sC
	c.2522G>T	(p.Arg841Leu)	rs80357337	1/8 (12.5)	CM
	c.5036T>C	(p.Leu1679Pro)	rs760038328	1/8 (12.5)	CM
	c.4405C>A	(p.Pro1469Thr)	*No descrita*	1/8 (12.5)	CM
BRCA2	c.8411C>T	(p.Pro2804Leu)	rs876658705	3/29 (10.3)	CM
	c.526A>T	(p.Thr176Ser)	rs1214427273	3/29 (10.3)	CM
	c.4567G>A	(p.Gly1523Ser)	rs587781418	2/29 (6.9)	CM (1), CO (1)
	c.9613_9614delGCinsCT	(p.Ala3205Leu)	rs276174926	2/29 (6.9)	CM
	c.2803G>T	(p.Asp935Asn)	rs28897716	1/29 (3.4)	sC
	c.63227C>T	(p.Thr21076Ile)	N/A	1/29 (3.4)	sC
	c.280C>T	(p.Pro94Ser)	rs80358531	1/29 (3.4)	Sc
	c.7720T>C	(p.Trp2574Arg)	rs755002206	1/29 (3.4)	CM
	c.8755-11A>G	N/A	rs1371032020	1/29 (3.4)	CM
	c.3152T>C	(p.Leu1051Ser)	rs778281493	1/29 (3.4)	CM
	c.2771A>T	(p.Asn924Ile)	rs80358530	1/29 (3.4)	CM
	c.6840G>A *	(p.Val2280=)	rs1060504620	1/29 (3.4)	CM
	c.9442G>T	(p.Ala3148Ser)	rs949790323	1/29 (3.4)	CM
	c.7447A>G	(p.Ser2483Gly)	rs80358966	1/29 (3.4)	CM
	c.1555A>G	(p.Ser519Gly)	*No descrita*	1/29 (3.4)	sC
	c.7426_7428delGAA	(p.Glu2476del)	rs876659222	1/29 (3.4)	sC
	c.1717G>A	(p.Ala573Thr)	rs761411987	1/29 (3.4)	CM
	c.8850G>T	(p.Lys2950Asn)	rs146370443	1/29 (3.4)	CM
	c.6613G>A	(p.Val2205Met)	rs80358889	1/29 (3.4)	CM
	c.9275A>G	(p.Tyr3092Cys)	rs80359195	1/29 (3.4)	CM
	c.3188A>G	(p.Gln1063Arg)	rs775030825	1/29 (3.4)	CM
	c.556G>C	(p.Ala186Pro)	rs1217007370	1/29 (3.4)	CM
	c.4316C>A	(p.Ala1439Asp)	rs80358667	1/29 (3.4)	CM
ATM	c.8810T>C	(p.Val2937Ala)	rs587782149	4/22 (18.2)	CM
	c.4414T>G	(p.Leu1472Val)	rs539676759	2/22 (9.1)	CM
	c.610G>A	(p.Gly204Arg)	rs147915571	2/22 (9.1)	CM
	c.7187C>G	(p.Thr2396Ser)	rs370559102	1/22 (4.5)	sC
	c.7135C>G	(p.Leu2379Val)	rs778888033	1/22 (4.5)	sC
	c.1464G>T	(p.Trp488Cys)	rs377597949	1/22 (4.5)	CM
	c.8207A>G	(p.Asn2736Ser)	rs1190456608	1/22 (4.5)	CM
	c.2254C>G	(p.Leu752Val)	rs756522395	1/22 (4.5)	CM
	c.4060C>A	(p.Pro1354Thr)	rs145119475	1/22 (4.5)	CM
	c.8113G>A	(p.Val2705Ile)	rs587779870	1/22 (4.5)	CM
	c.7879T>C	(p.Tyr2627His)	*No descrita*	1/22 (4.5)	CM
	c.8948C>T	(p.Thr2983Ile)	*No descrita*	1/22 (4.5)	CM
	c.3478G>C	(p.Val1160Leu)	rs567344545	1/22 (4.5)	CO
	c.1595G>A	(p.Cys532Tyr)	rs35963548	1/22 (4.5)	CM
	c.2494C>T	(p.Arg832Cys)	rs2229022	1/22 (4.5)	CM
	c.2689T>A	(p.Phe897Ile)	rs147122522	1/22 (4.5)	CM
	c.8560C>T	(p.Arg2854Cys)	rs201958469	1/22 (4.5)	CM
PALB2	c.1001A>G	(p.Tyr334Cys)	rs200620434	1/4 (25)	CM
	c.13C>T	(p.Pro5Ser)	rs377085677	1/4 (25)	CM
	c.656A>G	(p.Asp219Gly)	rs45594034	1/4 (25)	CM

	c.127A>G	(p.Lys43Glu)	rs765125459	1/4 (25)	CM
CHEK2	c.320-5T>A	N/A	rs121908700	2/7 (28.6)	CM
	c.*2dupC	N/A	rs749257861	1/7 (14.3)	sC
	c.190G>A	(p.Glu64Lys)	rs141568342	1/7 (14.3)	CM
	c.246_260delCCAAGAA CCTGAGGA	(p.Asp82_Glu86del)	rs587780181	1/7 (14.3)	CM
	c.800C>T	(p.Ala267Val)	*No descrita*	1/7 (14.3)	CM
	c.1312G>T	(p.Asp438Tyr)	rs200050883	1/7 (14.3)	CM
BRIP1	c.2220G>T	(p.Gln740His)	rs45589637	4/6 (66.7)	CM
	c.316C>T	(p.Arg106Cys)	rs587780247	1/6 (16.7)	CM
	c.2497A>G	(p.Ile833Val)	rs199831248	1/6 (16.7)	CM
CDH1	c.2644G>A	(p.Asp882Asn)	rs200104963	2/3 (66.7)	CM
	c.113C>T *	(p.Thr38Met)	rs587778171	1/3 (33.3)	CM
MLH1	c.1453G>T	(p.Asp485Tyr)	rs63750314	1/2 (50)	CM
	c.896G>A	(p.Ser299Asn)	rs1553647926	1/2 (50)	CM
MSH2	c.1787A>G	(p.Asn596Ser)	rs41295288	1/3 (33.3)	sC
	c.286C>T	(p.Arg96Cys)	rs1443234544	1/3 (33.3)	CO
	c.1645G>A	(p.Val549Ile)	rs876659905	1/3 (33.3)	CM
MSH6	c.3727A>T	(p.Thr1243Ser)	rs147453999	2/7 (28.6)	CM
	c.980C>G	(p.Thr327Ser)	rs369568820	2/7 (28.6)	CM
	c.3974A>C	(p.Lys1325Thr)	*No descrita*	1/7 (14.3)	sC
	c.3104G>A	(p.Arg1035Gln)	rs730881801	1/7 (14.3)	CM
	c.2006T>C	(p.Ile669Thr)	rs555209664	1/7 (14.3)	CM
PMS2	c.2108C>T	(p.Thr703Met)	rs370196722	1/2 (50)	CM
	c.2186_2187delTC	(p.Leu729Glnfs)	rs587779335	1/2 (50)	CM
PTEN	c.1093G>A	(p.Val365Ile)	rs758542021	2/2 (100)	CM
RAD51C	c.492T>G	(p.Phe164Leu)	rs573992101	1/1 (100)	CM
RAD51D	c.355T>C	(p.Cys119Arg)	rs201313861	1/4 (25)	CM
	c.413A>G	(p.Asn138Ser)	rs201676898	1/4 (25)	CM
	c.823C>T	(p.Arg275Trp)	rs752780416	1/4 (25)	CO
	c.793G>A	(p.Gly265Arg)	rs140285068	1/4 (25)	CM
TP53	c.100C>G	(p.Pro34Ala)	rs786201968	1/1 (100)	CM

sC=sin cáncer

La reclasificación de variantes de significado incierto a variantes patogénicas o probablemente patogénicas indica que se trata de una variante con implicaciones clínicas, por lo que se gestionó su comunicación de manera prioritaria en la consulta de asesoramiento genético a los pacientes. El resto de variantes que se clasificaron a benignas o probablemente benignas fueron informadas a los pacientes en las consultas de seguimiento clínico por parte del equipo de oncología. La revisión de VUS a partir del año 2020, la solicita el facultativo de oncología en la consulta anual de seguimiento del paciente al laboratorio de genética. A fecha de 31 de diciembre de 2023, se reclasificaron únicamente 2 VUS a benignas/probablemente benignas (indicadas con * en Tabla 10).

♦ VUS no descritas en las bases de datos

En nuestro estudio se detectaron 7 variantes en 10 pacientes (1 variante en *BRCA2* se repitió en 3 pacientes) no descritas en las bases de datos que tras su análisis según los criterios ACMG 2015 y mediante el uso de predictores *in silico*, fueron clasificadas como variantes de significado incierto. Posteriormente, fueron registradas en la base de datos ClinVar número de acceso SUB6135852 (Tabla 11).

Tabla 11. Variantes de significado incierto no descritas identificadas y enviadas a ClinVar (SUB6135852)

* Variante reclasificada en Clinvar como probablemente benigna

**Variante reclasificada en Clinvar como benigna

GEN	CRITERIOS ACMG 2015	CAMBIO ADN	CAMBIO PROTEINA	TIPO CÁNCER	SUBTIPO HISTOLÓGICO	EDAD INICIO
BRCA1	PM2, BP7*	c.3027A>C	p.Ser1009Ser	CM	*Desc*	37
BRCA1	PM2	c.4405C>A	p.Pro1469Thr	CM	*Desc*	43
BRCA1	PM2	c.4485-10A>G	N/A	sC	N/A	N/A
BRCA1	PM2, BP7**	c.81-11delT	N/A	CM	Luminal A	54
BRCA2	PM2	c.1555A>G	p.Ser519Gly	sC	N/A	N/A
BRCA2	PM2	c.526A>T	p.Thr176Ser	CM (3)	Luminal A/ Basal/ Desc	41, 73, 32
ATM	PS4, PP1	c.7879T>C	p.Tyr2627His	CM	Luminal A	38
ATM	PM2	c.8948C>T	p.Thr2983Ile	CM	Luminal A	62
CHEK2	PM2	c.800C>T	(p.Ala267Val)	CM	Luminal A	43
MSH6	PM2	c.3974A>C	p.Lys1325Thr	sC	N/A	N/A

desc=desconocido

4.2 Capítulo 2: Evaluación de la epidemiología clínica del síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditarios en la provincia de Granada

4.2.1 A nivel epidemiológico

4.2.1.1 Características clínico-patológicas y genéticas de la cohorte de estudio

Los principales aspectos clínicos, patológicos y genéticos de los 824 pacientes analizados se definen en la Tabla 12.

Tabla 12. Características clínico-patológicas y genéticas de la cohorte de estudio

	N	(%)	Edad cáncer	Rango	Edad test	Rango	Clase I/II (%)	Clase III (%)	Clase IV/V (%)
Cohorte total	**824**	(100)	50.1	(21-90)	50.7	(18-92)	**625 (75.8)**	**101 (12.3)**	**98 (11.9)**
Femenino	800	(97.1)	45.5	(21-82)	50.3	(18-92)	604 (75.5)	101 (12.6)	95 (11.9)
Masculino	24	(2.9)	60.3	(36-90)	65.6	(37-92)	21 (87.5)	0 (0)	3 (12.5)
Tipo de tumor									
Cáncer de mama	**650**	**(78.9)**	**45.6**	**(21-90)**	**51.1**	**(25-92)**	**487 (74.9)**	**86 (13.2)**	**77 (11.9)**
Femenino	629	(96.8)	45.1	(21-82)	50.6	(25-92)	469 (74.5)	86 (13.7)	74 (11.8)
Masculino	21	(3.2)	60.3	(36-90)	66.3	(37-92)	18 (85.7)	0 (0)	3 (14.3)
Cáncer de ovario (femenino)	**66**	**(8.0)**	**49.2**	**(25-70)**	**56**	**(27-86)**	**49 (74.2)**	**4 (6.1)**	**13 (19.7)**
Individuos no afectos	**108**	**(13.1)**	**N/A**	**N/A**	**44.6**	**(18-71)**	**89 (82.4)**	**11 (10.2)**	**8 (7.4)**
Femenino	105	(97.2)	N/A	N/A	44.53	(18-71)	86 (81.9)	11 (10.5)	8 (7.4)
Masculino	3	(2.8)	N/A	N/A	50.7	(50-52)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
Subtipo histológico*									
Cáncer de mama	**650**	**(100)**	**45.6**	**(21-90)**	**51.1**	**(25-92)**	**487 (74.9)**	**86 (13.23)**	**77 (11.9)**
Basal	103	(15.8)	44.8	(27-75)	49.2	(28-81)	75 (72.8)	12 (11.7)	16 (15.5)
Luminal A	324	(49.8)	46.37	(25-82)	50.1	(25-86)	239 (73.8)	48 (14.8)	37 (11.4)

Luminal B	99	(15.2)	45.1	(27-74)	51.6	(30-76)	74 (74.7)	13 (13.1)	12 (7.1)
HER2 positivo	27	(4.16)	42.6	(21-59)	46	(27-60)	22 (81.5)	3 (11.1)	2 (7.4)
Desconocido	97	(14.9)	45.3	(23-90)	57.6	(29-92)	77 (79.4)	10 (10.3)	10 (9.3)
Cáncer de ovario	**66**	**(100)**	**49.2**	**(25-70)**	**56**	**(27-86)**	**49 (74.2)**	**4 (6.1)**	**13 (19.7)**
Endometrioide	6	(9.1)	49.8	(33-65)	57	(43-73)	5 (83.3)	0 (0)	1 (16.7)
Mucinoso	4	(6.1)	48.0	(36-62)	55.7	(46-72)	3 (75)	0 (0)	1 (25)
Epitelial	5	(7.6)	54.2	(35-65)	56.2	(36-72)	3 (60)	1 (20)	1 (20)
Seroso	31	(47.0)	50.2	(25-70)	54.9	(27-86)	21 (67.8)	1 (3.2)	9 (29)
Otros	7	(10.6)	46.9	(36-62)	53	(39-74)	5 (71.4)	2 (28.6)	0 (0)
Desconocido	13	(19.7)	46.1	(30-66)	59.6	(44.73)	12 (92.3)	0 (0)	1 (7.7)

La mayoría de los pacientes (650/824; 78.9%) tenían cáncer de mama (CM), mientras que sólo el 8.0% (66/824) tenían cáncer de ovario (CO). El resto de los probandos (108/824; 13.1%) fueron personas libres de cáncer que se consideraron de alto riesgo según los criterios de inclusión. En referencia al sexo, la mayoría de los pacientes con CM (629/650; 96.8%) eran mujeres con una distribución similar para la cohorte libre de cáncer (105/108; 97.2%).

La media de edad para el diagnóstico del cáncer de mama fue de 45,6 ± 10.9 años [rango 21-90] y de 49,2 ± 11,7 años [rango 25-70] para el cáncer de ovario. La media de edad de la realización del test genético en pacientes con cáncer de mama fue de 51.1 ± 12 años [rango 25-92], de 56 ± 11.7 años [rango 27-86] para cáncer de ovario y de 44.6 ± 11.1 años [rango 18-71] para pacientes sin cáncer.

El subtipo histológico predominante para cáncer de mama fue el luminal A (324/650) correspondiente al 49,8% de todos los casos, mientras que el luminal B (99/650; 15.2%) y el subtipo basal fueron menos prevalentes (103/650; 15.8%), seguidos por HER2 positivo (27/650; 4.2%).

Los subtipos histológicos del cáncer de ovario, se diferenciaron en: seroso (31/66; 47%), endometrioide (6/66; 9.1%), epitelial (5/66; 7.6%), mucinoso (4/66; 6.1%) y otros subtipos englobados en un único subgrupo (7/66; 10.6%).

Se identificaron un total de 98/824 (11.9%) variantes de clase IV/V siendo más frecuentes en cáncer de ovario (13/66; 19.7%) que en cáncer de mama (78/650; 12%). Además, se detectaron variantes patogénicas en 8/108 (7.4%) pacientes que hasta la fecha del diagnóstico genético no estaban afectados por cáncer.

No ocurre igual con las variantes de Clase III detectadas, ya que son mayoritarias en pacientes con CM (86/650; 13.2%) que en pacientes con CO (4/66; 6.06%). En los pacientes libres de cáncer se detectaron un total de 11/108 (10.2%) variantes de significado clínico incierto.

4.2.1.2 Mortalidad

Para analizar la mortalidad de los 98 pacientes portadores de una variante patogénica o probablemente patogénica se realizó una búsqueda en la base de datos de historias clínicas digitalizadas “Diraya Clínica” disponible a nivel hospitalario para la provincia de Granada a fecha 31 de diciembre de 2023.

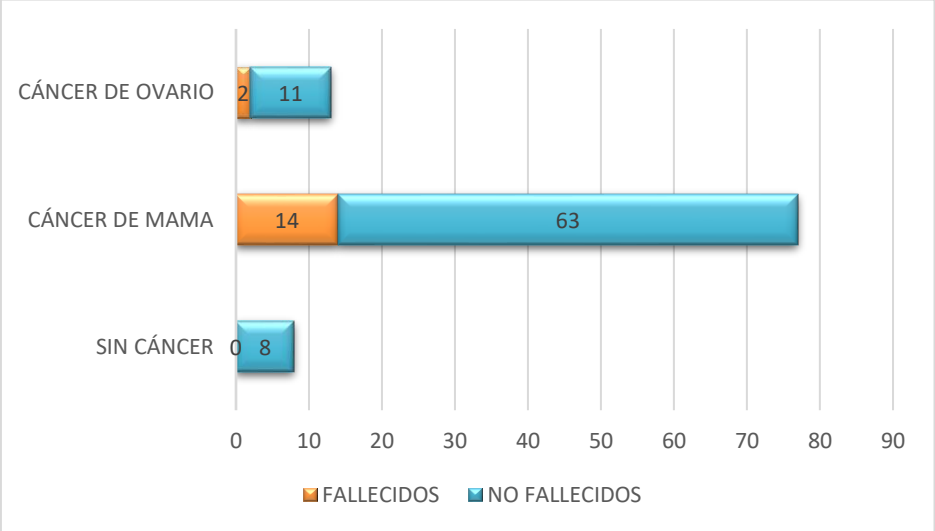


Figura 19. Número de fallecimientos a fecha 31 de diciembre de 2023 de los pacientes portadores de una variante patogénica o probablemente patogénica

Tal y como se puede observar en la Figura 19 ninguno de los 8 pacientes sanos que portaban una VP/VPP falleció durante el seguimiento.

Con respecto a los pacientes afectos de cáncer de mama, un 18.2% (14/77) de los pacientes fallecieron, uno de ellos era un hombre que falleció a causa de desarrollar un carcinoma vesicular biliar diseminado e infiltrante. El resto eran mujeres que fallecieron principalmente a causa de desarrollar metástasis hepáticas, óseas, pulmonares y/o cerebrales.

Para cáncer de ovario un 15.4% (2/13) de las pacientes causaron exitus, una a causa de metástasis cerebral y la otra debido a pancitopenia asociada a síndrome mielodisplásico secundario a tratamiento quimioterápico prolongado.

Si analizamos los casos de fallecimiento con relación al gen donde portaban la VP/VPP obtenemos la siguiente información (Figura 20):

- 50% de los casos de exitus estaban relacionados con variantes patogénicas en el gen *BRCA2*.
- 25% de los casos de exitus estaban relacionados con variantes patogénicas en el gen *BRCA1*.
- El otro 25% de los casos de exitus estaban relacionados con variantes patogénicas en otros genes:
    - 2 casos en *CHEK2*.
    - 1 caso en *ATM*.
    - 1 caso en *TP53*.

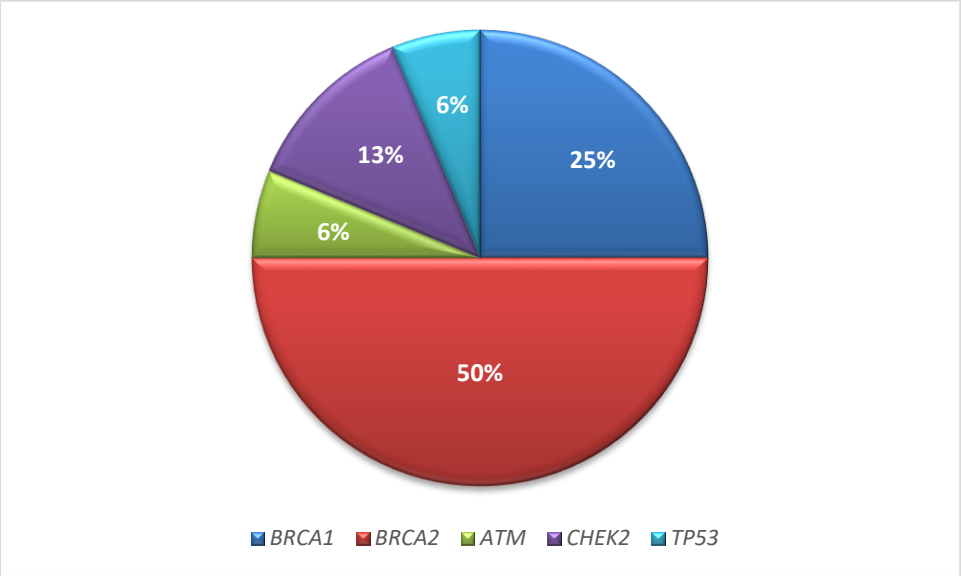


Figura 20. Relación de número de exitus en función del gen que presenta la alteración genética

Las variantes patogénicas en *BRCA2* fueron las más frecuentes de los casos de exitus, seguidas de cerca por las variantes en *BRCA1*. Además, se observa que hay casos de exitus relacionados con variantes en otros genes asociados con cáncer, como *CHEK2*, *ATM* y *TP53*, aunque estos representan una proporción menor en comparación con los casos relacionados con *BRCA1* y *BRCA2*.

4.2.1.3 Relación con la edad de presentación

La edad de aparición del cáncer de mama o cáncer de ovario fue significativamente menor en pacientes con variantes patogénicas o probablemente patogénicas en el gen *BRCA1* en comparación con aquellos que tenían variantes en *BRCA2* (p=0.001), otros genes (p=0.001) o aquellos en los que no se había identificado una variante patogénica o probablemente patogénica (p=0.001) (Figura 21).

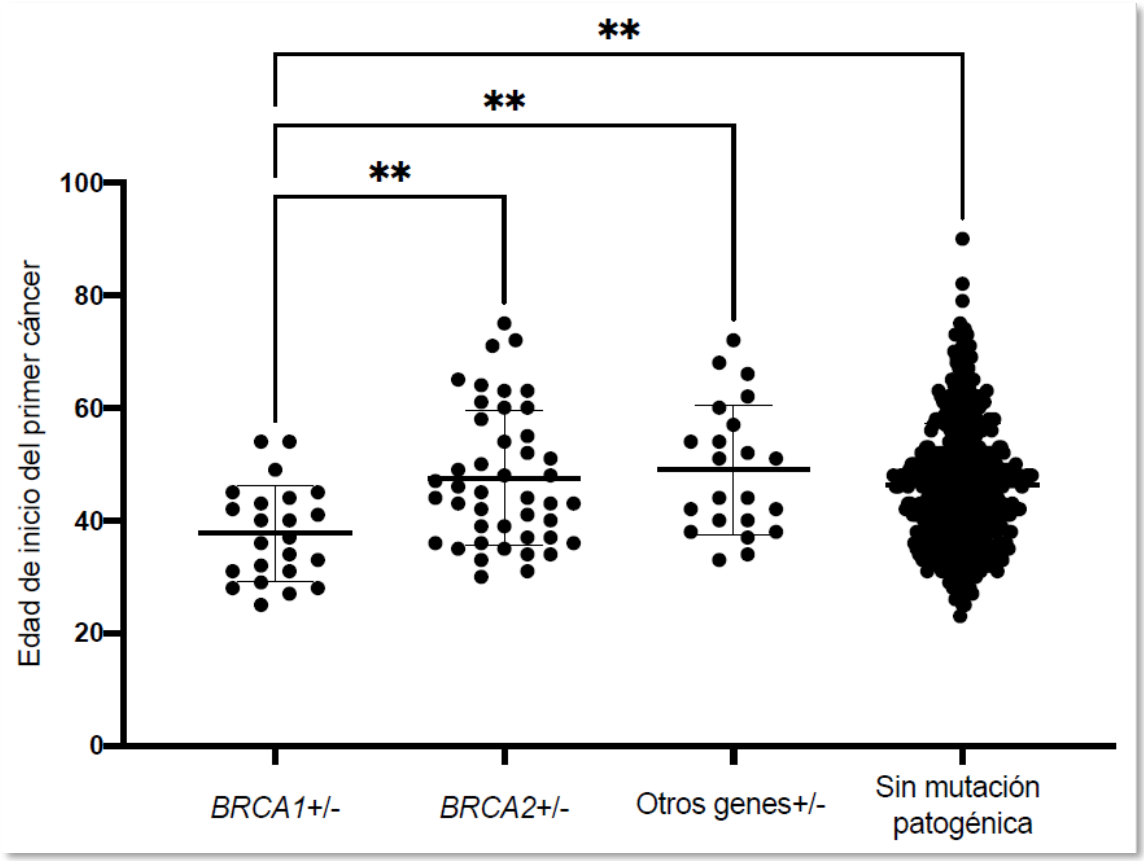


Figura 21. Edad de aparición del primer tumor agrupado por variante genética. Gráficos de dispersión que muestran la distribución de la edad de aparición del cáncer teniendo en cuenta el gen en el que se encuentra la variante de línea germinal heterocigota

El valor p para la prueba de Kruskal-Wallis es **p = 0,001.

El riesgo de tener una variante patogénica en el gen *BRCA1*, en comparación con otros genes, disminuyó en un 9% con cada aumento de unidad en la edad al diagnóstico.

La presencia de variantes patogénicas en *BRCA1* estaba fuertemente asociada con receptores hormonales positivos (p > 0.001), tanto receptores de estrógeno positivo (RE+) como receptores de progesterona positivo (RP+).

Este efecto significativo se mantuvo incluso después de ajustar por edad, lo que sugiere que la relación entre las variantes en *BRCA1* y la edad de diagnóstico del cáncer de mama persiste independientemente de la edad de la paciente.

También se observó que el riesgo de tener una variante patogénica o VUS en el gen *PALB2* aumentó en un 6% por cada aumento de unidad en la edad en el momento del diagnóstico del cáncer de mama (p = 0,023).

4.2.1.4 Relación con el tipo tumoral/estadío

En pacientes con cáncer de mama, el 23,4% (18/77) de las variantes patogénicas/ probablemente patogénicas se encontraron en *BRCA1,* mientras que el 48,1% (37/77) se localizaron en *BRCA2.* Respecto al cáncer de ovario, se encontraron variantes patogénicas en 38,5% (5/13) en *BRCA1* y 53,8% (7/13) en *BRCA2*.

Una vez establecida la etiología genética de cada tumor, era interesante investigar si existía alguna relación entre el gen que presenta la VP/VPP y el subtipo de cáncer.

El riesgo de desarrollar CM subtipo basal aumentó significativamente (11.7 veces) en pacientes con variantes patogénicas en *BRCA1* (p <0,001). Por el contrario, el riesgo de desarrollar CM basal se redujo en un 80.1% en aquellos con variantes en *BRCA2* (p = 0,011).

El riesgo de desarrollar CM luminal A se redujo en un 75.2% en pacientes con variantes patogénicas en *BRCA1* (p = 0,014). Mientras que la presencia de una VP en *BRCA1* disminuye el riesgo de desarrollar CM luminal B en un 83.8% (p = 0.035).

No se han observado asociaciones significativas entre las variantes patogénicas en *BRCA1* y el riesgo de desarrollar CM subtipo HER2, ni CO, ni en *BRCA2* con CM de tipo luminal A y B, HER2 ni con CO.

En referencia al resto de genes, se ha detectado que el riesgo de desarrollar CM subtipo luminal B aumentó 5.4 veces en pacientes con una VP en el gen *PALB2* (p = 0.023).

4.2.2 A nivel diagnóstico

4.2.2.1 Evaluación de los criterios de inclusión

Los criterios de inclusión utilizados para la selección de pacientes fueron los propuestos por la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) durante los años 2013 a 2018 y están descritos en el apartado material y métodos (Tabla 6).

Tabla 13. Clasificación de los pacientes según los criterios de inclusión obtenidos en la consulta de asesoramiento genético

Criterios de inclusion consulta consejo genético (SEOM)	**N**	**(%)**	**Edad cáncer**	**Rango**	**Edad test**	**Rango**	**Clase I/II (%)**	**Clase III (%)**	**Clase IV/V (%)**
1 cáncer familiar (independente de historia familiar)	**177**	**(21.5)**	**36.9**	**(21-75)**	**43.9**	**(25-82)**	**130 (73.4)**	**15 (8.5)**	**32 (18.1)**
CM y CO sincrónico o metacrónico.	12	(6.8)	53.5	(36-75)	65.6	(45-82)	9 (75)	0 (0)	3 (25)
CM <35 años	96	(54.2)	31	(21-34)	37.8	(25-81)	69 (71.8)	10 (10.4)	17 (17.7)
CM bilateral, uno diagnosticado antes de 40 años	11	(6.2)	36.8	(35-39)	51.4	(37-67)	9 (81.8)	1 (9.1)	1 (9.1)
CM triple negativo <50 años	45	(25.4)	41.6	(35-49)	47	(36-65)	36 (80)	4 (8.9)	5 (11.1)
CO de alto grado no mucinoso	13	(7.3)	49.6	(27-65)	52.8	(27-73)	7 (53.8)	0 (0)	6 (46.2)
2 afectos en la familia, familiar de primer grado	**242**	**(29.4)**	**44.1**	**(25-90)**	**50**	**(36-92)**	**172 (71.1)**	**37 (15.3)**	**33 (13.6)**
CM bilateral y CM diagnosticado <50 años	4	(1.6)	46.5	(43-49)	60.7	(48-89)	3 (75)	0 (0)	1 (25)
CM hombre y CM/CO mujer	7	(2.6)	66.3	(46-90)	69.6	(48-92)	5 (71.4)	0 (0)	2 (28.6)
CM y CO	24	(9.9)	48.9	(25-70)	55	(36-86)	17 (70.8)	3 (12.5)	4 (16.7)
2 CM diagnosticados <50 años	207	(85.5)	42.7	(35-49)	48.6	(36-73)	147 (71)	34 (16.4)	26 (12.6)

≥3 CM/CO en la familia (independiente de la edad)	**111**	**(13.5)**	**57.8**	**(50-82)**	**60.7**	**(43-86)**	**80 (72.1)**	**18 (16.2)**	**13 (11.7)**
Otros (no criterios SEOM)	**294**	**(35.6)**	**49.4**	**(30-79)**	**52.5**	**(18-92)**	**242 (82.3)**	**31 (10.5)**	**20 (7.1)**
Individuos no afectos con historia familiar		108	N/A	N/A	44.6	(18-71)	89 (82.4)	11 (10.2)	8 (7.4)
CM con historia familiar		65	53.7	(38-79)	58.1	(39-81)	53 (81.5)	6 (9.2)	6 (9.2)
CM sin historia familiar		76	44.8	(35-73)	50.7	(29-91)	65 (85.5)	10 (13.2)	1 (1.3)
CO con historia familiar		1	50	N/A	53	N/A	1 (100)	0 (0)	0 (0)
CO sin historia familiar		16	48.1	(30-68)	56.9	(39-73)	13 (81.2)	1 (6.3)	2 (12.5)
CM/CO con historia familiar desconocida		28	53.3	(30-72)	61.3	(42-92)	22 (78.6)	3 (10.7)	3 (10.7)

Como se puede observar en la Tabla 13, la mayoría de los pacientes estudiados (530/824; 64.3%) cumplían estrictamente los criterios de inclusión definidos por la SEOM para ser incluidos en el estudio genético.

El 35.7% restante (294/824) no se ajustaba exactamente a estos criterios, sin embargo, tras la entrevista en la consulta de consejo genético se consideró que podrían tratarse también de pacientes en riesgo, ya que la mayoría de los casos índice no conocía la historia familiar completa o se trataba de familias no informativas compuestas por un bajo número de miembros.

Si analizamos los resultados del análisis genético según ambos criterios de inclusión, de las 98/824 (11.9%) variantes patogénicas/ probablemente patogénicas identificadas en esta cohorte, en el grupo de pacientes que cumplieron estrictamente los criterios SEOM se detectaron 78/98 (9.5%) variantes de clase IV/V, mientras que el grupo que no cumplía estrictamente con estos criterios pero que finalmente fueron incluidos se detectaron 20/98 (2.4%) de las variantes patogénicas/ probablemente patogénicas de este estudio.

4.2.2.2 Evaluación de la actividad

- **Número de estudios**

Desde la implantación y desarrollo en el laboratorio de los paneles multigenes mediante la técnica de secuenciación masiva, se observó un aumento en la demanda de estudio genético de CMOH por parte de los Oncólogos.

En la Figura 22 se representa la evolución por años de la demanda del número de estudios genéticos, así desde el año 2013 hasta mitad del año 2017, se externalizaron un total de 438 estudios genéticos (esto representa una media de 109.5 estudios al año mientras que este valor se multiplica por 3.5 para el año 2017-2018). Una vez instaurada la técnica NGS en el laboratorio se realizaron un total de 386 análisis genéticos desde la segunda mitad del año 2017 hasta finales del año 2018.

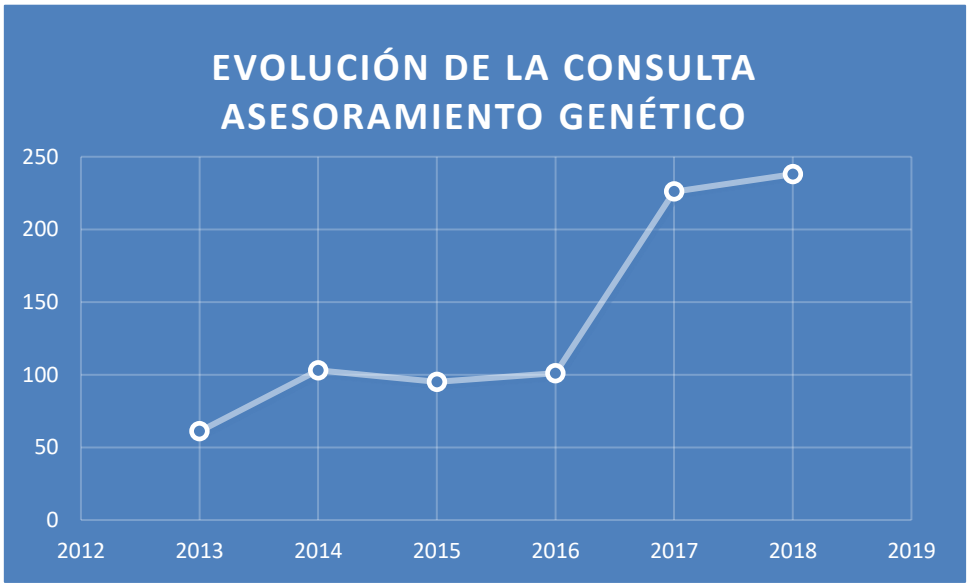


Figura 22. Evolución del número de casos en la consulta de asesoramiento genético entre los años 2013 a 2018

Durante el año 2017, coincidiendo con la transición de la secuenciación Sanger a la NGS, se observó un notable aumento en la actividad asistencial. Esto se reflejó en un incremento del número de estudios genéticos realizados, experimentando un aumento

aproximado del 120%. Este aumento se atribuye a la internalización de las pruebas genéticas, utilizando paneles multigenes mediante secuenciación masiva.

4.2.3 A nivel preventivo

4.2.3.1 Prevención primaria

- **Medidas profilácticas**

Para analizar el impacto clínico de la detección de variantes de clase IV/V respecto a las medidas profilácticas, se realizó una búsqueda en la base de datos hospitalaria hasta el 31 de diciembre de 2023. Los datos se dividieron en los siguientes grupos:

- Pacientes que se sometieron a mastectomía profiláctica bilateral o contralateral.
- Pacientes que se sometieron a salpingooforectomía bilateral.
- Pacientes que se sometieron a ambas técnicas (mastectomía y salpingooforectomía bilateral).
- Pacientes que optaron por el seguimiento y revisiones periódicas.

Como se ha indicado en el apartado anterior, el 16.3% (16/98) de los pacientes con una variante de clase IV/V fallecieron durante el seguimiento, por lo que fueron excluidos de esta evaluación de medidas profilácticas.

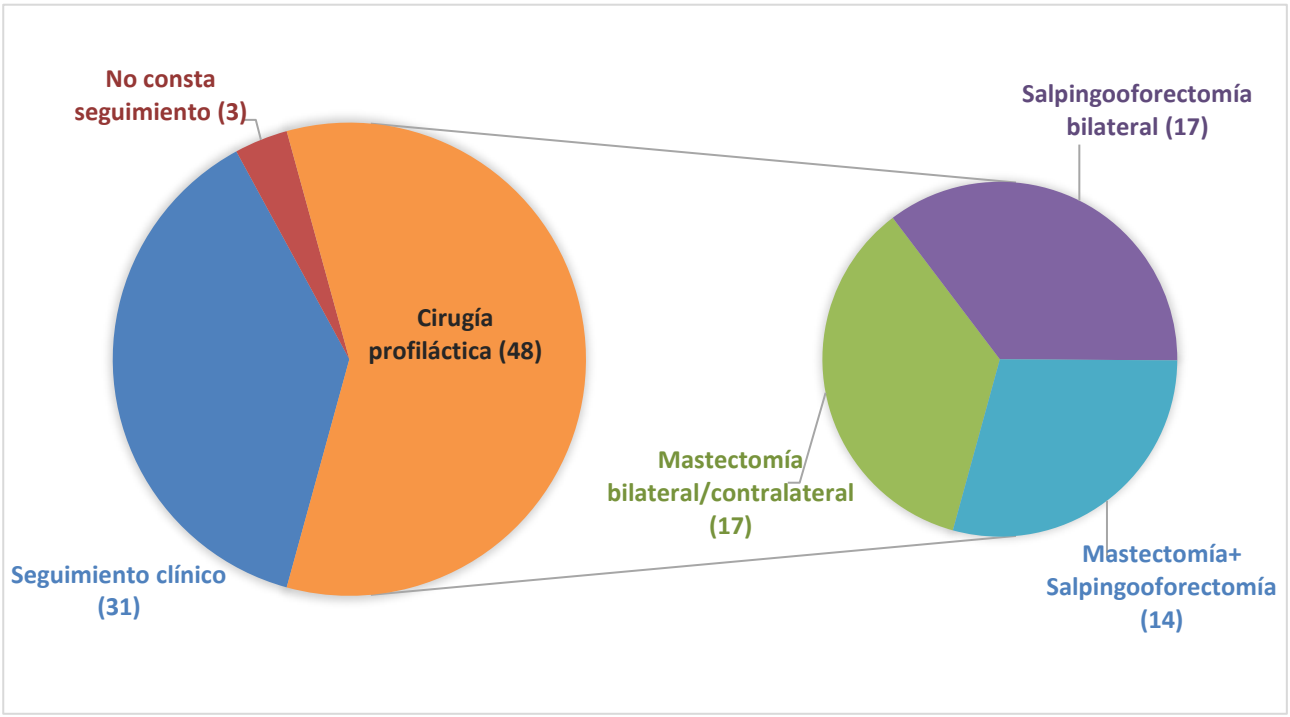


Figura 23. Comparativa entre pacientes sometidos a cirugía profiláctica reductora de riesgo frente a pacientes que optaron por seguimiento clínico

Como se observa en la Figura 23 más de la mitad de los pacientes (48/82; 59%) con una variante patogénica o probablemente patogénica se sometieron a una cirugía profiláctica para reducir el riesgo frente a un 38% (31/82) que optaron por mantener revisiones médicas de manera periódica. En el 3% de los pacientes no se encontró información sobre seguimiento clínico en la historia de salud digital.

En detalle, del total de pacientes que eligieron someterse a cirugía profiláctica, el 35% (17/48) optó por una la realización mastectomía profiláctica bilateral o contralateral en los casos en los que ya se le había extirpado la otra mama debido al cáncer, otro 35% (17/48) se decantó por la realización de una salpingooforectomía bilateral, mientras que el restante 30% (14/48) decidió realizar ambos procedimientos quirúrgicos.

La mayoría de ellos portaban una variante en el gen *BRCA2* (26/82; 31.7%), seguido de *BRCA1* (14/82; 17.1%). Además, ocho pacientes (8/82; 9.7%) optaron por someterse a

una intervención quirúrgica portando variantes de clase IV/V en genes diferentes a *BRCA1* o *BRCA2*, en concreto (Figura 24):

- 3 pacientes con variantes en *PALB2* (dos con c.2964delA y uno con c.2257C>T) y 2 pacientes con una variante en *CHEK2*(c.349A>G), optaron por la realización de mastectomía profiláctica.
- Una paciente con una variante en *MSH6* (c.738_741delAAAA) y una paciente con variante en *RAD51C* (c.104dupC) se realizaron salpingooforectomía bilateral.
- Una paciente con la variante c.1535dupA en *PALB2* optó por la realización conjunta de mastectomía y salpingooforectomía profiláctica.
- Curiosamente, ningún paciente que portaba una variante en *ATM* o *TP53* optaron por cirugía profiláctica reductora de riesgo.

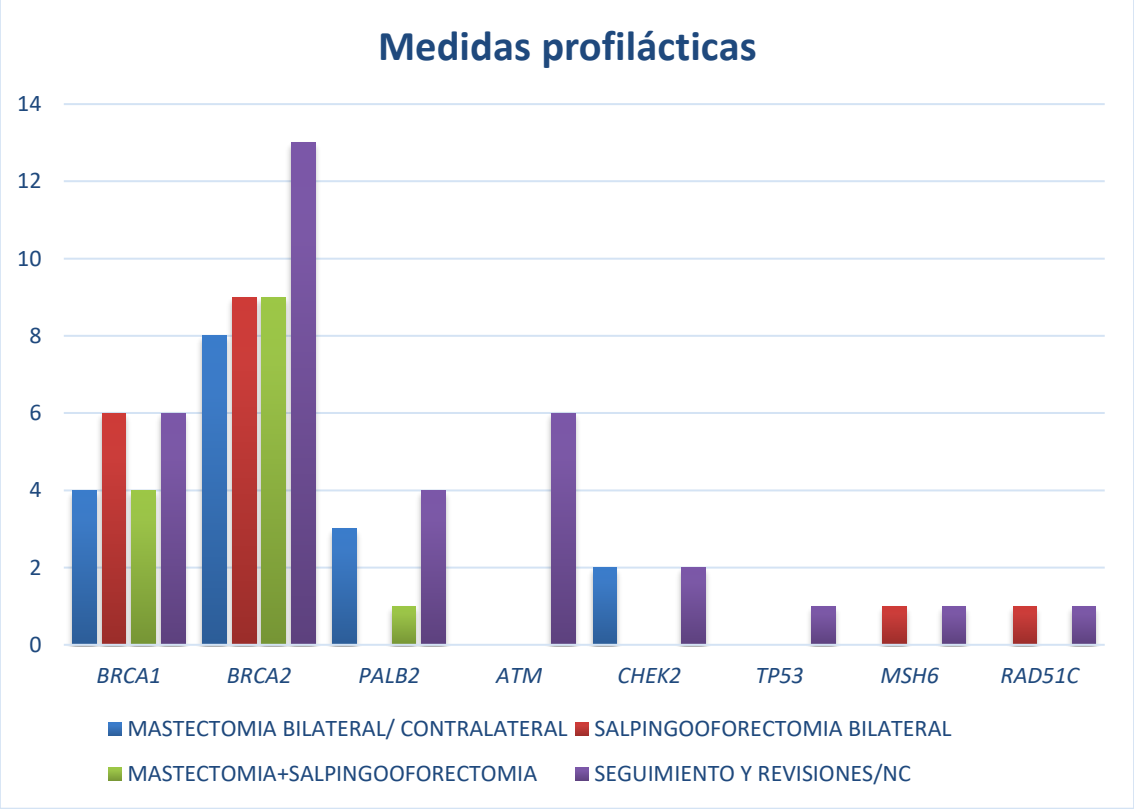


Figura 24. Medidas profilácticas en función del gen que porta la variante patogénica/ probablemente patogénica

NC (no consta información en la historia clínica)

Analizando estos datos sobre medidas profilácticas y el gen implicado, únicamente encontramos diferencias significativas entre el gen *ATM* y la opción de realizar seguimiento y revisiones periódicas frente a cirugía profiláctica (p = 0.001), así la realización de seguimiento clínico fue 15.84 veces más frecuente en pacientes que portaban una VP en el gen *ATM* frente a otros genes.

Observamos diferencias significativas en el efecto de la edad a la que se realizaron las pruebas genéticas y las decisiones tomadas, así a edades más avanzadas optan preferentemente por seguimiento clínico y revisiones periódicas (media de edad = 56.42 años) versus edades más jóvenes (media de edad = 46.60 años) (p = 0.004). Asimismo, las mujeres más jóvenes optan por cirugía profiláctica (media de edad = 44.27 años) frente a mujeres de mayor edad (media de edad = 54.92) (p = 0.0006) (Figura 25).

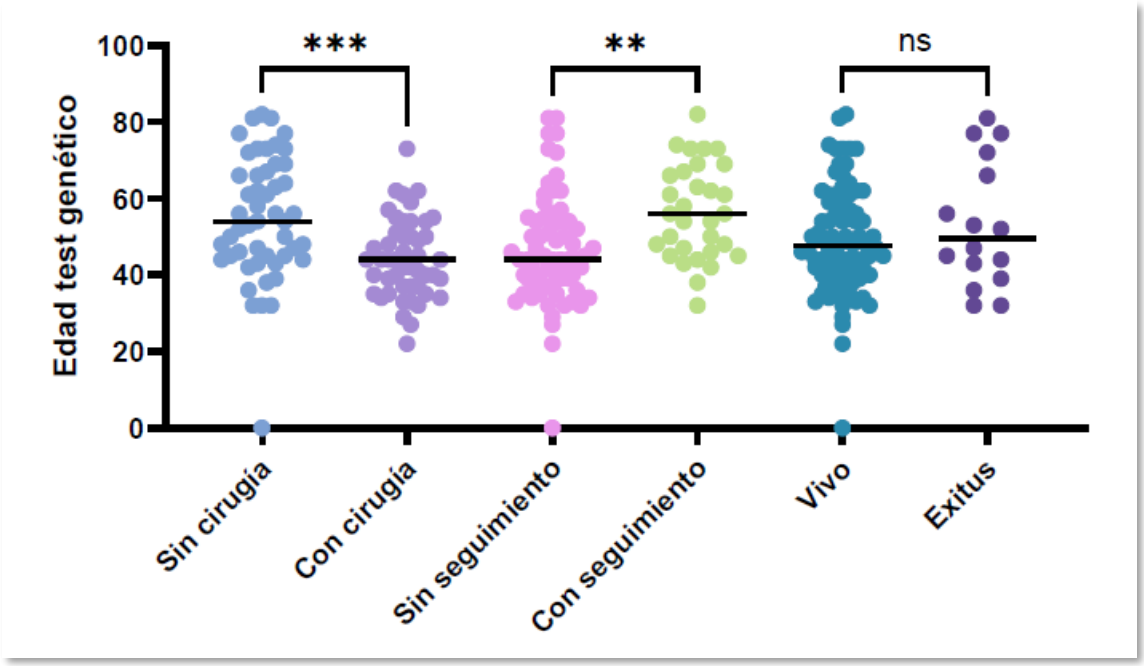


Figura 25. Relación de la edad de realización del test genético y las medidas adoptadas

ns=no significativo

♦ Test Genético Preimplantacional (TGP)

En nuestra serie de pacientes, hemos identificado a una mujer diagnosticada con cáncer de mama que presenta la variante NM_007294.4(BRCA1):c.68_69del (p.Glu23fs), la cual fue clasificada como patogénica.

Tras detectar esta variante en el año 2013, se llevó a cabo un estudio genético de portador en su hija en ese mismo año, la cual también resultó ser portadora de dicha variante genética.

10 años más tarde, presenta un nódulo en la mama izquierda en seguimiento, pero no ha desarrollado cáncer. Debido a su deseo reproductivo, y tras consultar con la Unidad de RHA ha decidido someterse a un Test Genético Preimplantacional (TGP) con la finalidad de no transmitir dicha variante genética a su descendencia. En la Figura 26 se muestra el procedimiento necesario para la realización de TGP en el SSPA, donde la lista de espera para la inclusión en esta técnica es de 1 a 2 años aproximadamente.

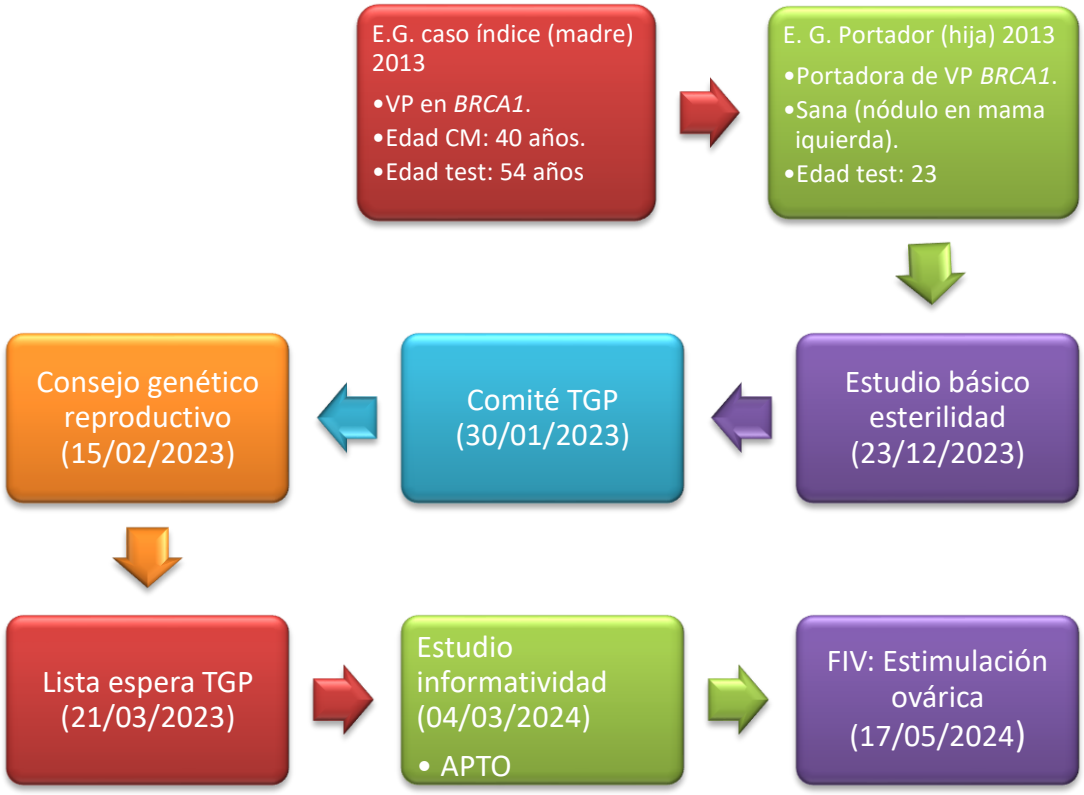


Figura 26. Etapas del procedimiento de TGP actualizado a fecha 17/05/2024

Actualmente, la paciente habiendo cumplido todos los requisitos necesarios desde el punto de vista reproductivo y obtenido un resultado "apto" en el estudio de informatividad, va a iniciar el primer ciclo de estimulación ovárica. En esta fase, el objetivo es obtener el mayor número posible de ovocitos viables para, posteriormente, biopsiarlos y transferir aquel que esté libre de enfermedad.

4.2.3.2 Prevención secundaria

En nuestra cohorte de pacientes se han estudiado un total de 108/824 (13.1%) pacientes sin cáncer en el momento del análisis genético, pero que tenían antecedentes familiares de cáncer de mama y/o cáncer de ovario. Un total de 8 pacientes femeninas obtuvieron una VP/VPP en alguno de los genes analizados por lo que se derivaron a la consulta de oncología para realizar seguimiento de pacientes de alto riesgo (Tabla 14).

Tabla 14. Pacientes sanas portadoras de una VP/VPP derivadas a consulta de seguimiento de alto riesgo

GEN	VARIANTE	Edad test	Seguimiento alto riesgo	Desarrollo de cáncer
BRCA1	c.68_69delAG (p.Glu23Valfs)	42	Sí	No
BRCA2	c.9026_9030delATCAT (p.Tyr3009Serfs)	22	Sí	No (nódulos mamarios)
BRCA2	c.5720_5723delCTCT (p.ser1907Terfs)	40	Sí	No
BRCA2	c.9117G>A (p.Pro3039=)	33	Sí	No (nódulos mamarios)
CHEK2	c.349A>G (p.Arg117Gly)	27	Sí	No
PALB2	c.1653T>A (p.Tyr551Ter)	44	Sí	No
RAD51C	Deleción exones 4 al 9	32	Sí	No

MSH6*	c.2314C>T (p.Arg772Trp)	45	Sí	Cáncer endometrio y ovario de células claras.

* Variante reclasificada de VUS a VP en la revisión de variantes de 2020.

Todas las pacientes se incluyeron en el programa de seguimiento de pacientes de alto riesgo, según el gen donde presentaban la mutación según las recomendaciones NCCN (anexo IV).

Durante el seguimiento clínico, la paciente que portaba la variante en el gen *MSH6*, que se reclasificó de VUS a patogénica en la primera revisión de variantes, ha desarrollado cáncer de endometrio y de ovario de células claras. El resto de las pacientes no ha desarrollado cáncer durante el seguimiento de alto riesgo.

4.2.3.3 Prevención terciaria

- **Pacientes en tratamiento con olaparib**

El diagnóstico genético del CMOH ha propiciado la aparición de nuevos enfoques terapéuticos, mediante la estrategia de letalidad sintética, empleando los inhibidores de la enzima poli ADP-ribosa polimerasa o PARP (iPARP). Estos fármacos, dentro de sus indicaciones, incluyen el "*tratamiento de mantenimiento en pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial de alto grado avanzado (estadios FIGO III y IV) que presenten mutaciones en BRCA1/BRCA2 (germinales o somáticas) y que muestren respuesta (completa o parcial) tras haber completado una primera línea de quimioterapia basada en platino*".

En el seguimiento clínico de los pacientes hasta el 31 de diciembre de 2023, se identificaron 5 pacientes afectas de cáncer de ovario que se encontraban en tratamiento con el iPARP olaparib, por lo que del total de pacientes (31) que tenían diagnóstico de cáncer seroso de alto grado, un 16.1% de mujeres han podido beneficiarse del tratamiento. Todas ellas habían sido diagnosticadas de cáncer de ovario tipo seroso de alto grado en estadio III o IV; tres de ellas eran portadoras de una variante patogénica en *BRCA1* y las otras dos en *BRCA2* (Tabla 14).

Tabla 15. Pacientes en tratamiento con olaparib portadoras de una variante patogénica en BRCA1 o BRCA2

TIPO CÁNCER	EDAD DIAGNÓSTICO	VARIANTE PATOGÉNICA	MEDIDAS PROFILÁCTICAS
CO	40	BRCA1:c.83_84del (p.Leu28fs)	Mastectomía
CO	44	BRCA1:c.5123C>A(p.Ala1708Glu)	Mastectomía
CO	54	BRCA1:c.470_471del (p.Leu156_Ser157insTer)	Seguimiento
CO	49	BRCA2:c.1792delA(p.Thr598Hisfs)	Seguimiento
CO	60	BRCA2:c.2197_2198ins157(p.Val733Glyfs*22)	Seguimiento

La evolución de estas pacientes en la actualidad es favorable, no habiendo desarrollado metástasis y siguiendo revisiones de manera periódica. Dos de las pacientes portadoras de una variante en *BRCA1* se sometieron además a mastectomía bilateral profiláctica.

En cuanto a los efectos adversos asociados a este tipo de fármacos, se observó que una de las pacientes desarrolló anemia severa, lo que llevó a la interrupción del tratamiento con olaparib hasta su recuperación. En ocasiones, es necesario realizar transfusiones sanguíneas para tratar este tipo de anemia.

4.2.4 A nivel económico

4.2.4.1 Costes de ejecución

En relación a los costes asociados con los análisis genéticos, se observó una evolución importante. Este cambio no solo se debió a la modificación de la técnica de análisis genético, sino también a la internalización de su realización en el laboratorio, lo que resultó en una disminución de los gastos de ejecución.

Durante los años 2013 a 2017 se realizó secuenciación Sanger de los genes *BRCA1* y *BRCA2* además de MLPA en los casos donde no se detectó VP/ VPP en dichos genes en un laboratorio externo de referencia. El coste de secuenciación varió entre los 800 y

2.400 euros en función del laboratorio y año de realización, siendo su coste superior en los primeros años del estudio. Con respecto a la técnica de MLPA, tuvo un coste entre 600 y 1.000 euros. En la Tabla 15 se recogen los datos económicos referentes a los costes de cada determinación según la técnica de análisis.

Tabla 16. Costes aproximados según el tipo de estudio realizado

Tipo estudio	Coste unitario en euros
Sanger *BRCA1* y *BRCA2*	800-2.400 (media = 1.600)
MLPA *BRCA1* y *BRCA2*	600-1.000 (media = 800)
Panel NGS laboratorio externo*	650-770 (media = 710)
Panel NGS internalización	423

*Estimación de los costes de NGS realizado por laboratorio externo si no se hubiera desarrollado la internalización de las pruebas genéticas en nuestro centro.

Previo a la implementación de la secuenciación de nueva generación en nuestro laboratorio, se realizó una comparación de costos entre llevar a cabo un panel de genes relacionados con el CMOH en un laboratorio externo de referencia y la introducción de la técnica NGS en nuestras propias instalaciones.

Para ello, se realizó una comparación analizando los resultados obtenidos durante el año 2016, ya que fue en ese año cuando se evaluó la introducción de la técnica NGS. Esta comparativa incluyó los costos de la secuenciación Sanger (y MLPA en los casos donde no se había detectado VP/VPP), así como los costos del panel de NGS realizado por un laboratorio externo, en contraposición a la implementación de la tecnología NGS en nuestro centro hospitalario.

Así, durante el año 2016 se realizaron un total de 101 estudios genéticos, en el que se detectaron 7 variantes patogénicas y 2 variantes de significado incierto. En las 92 muestras restantes no se detectó variante genética o el resultado fue una variante benigna o probablemente benigna.

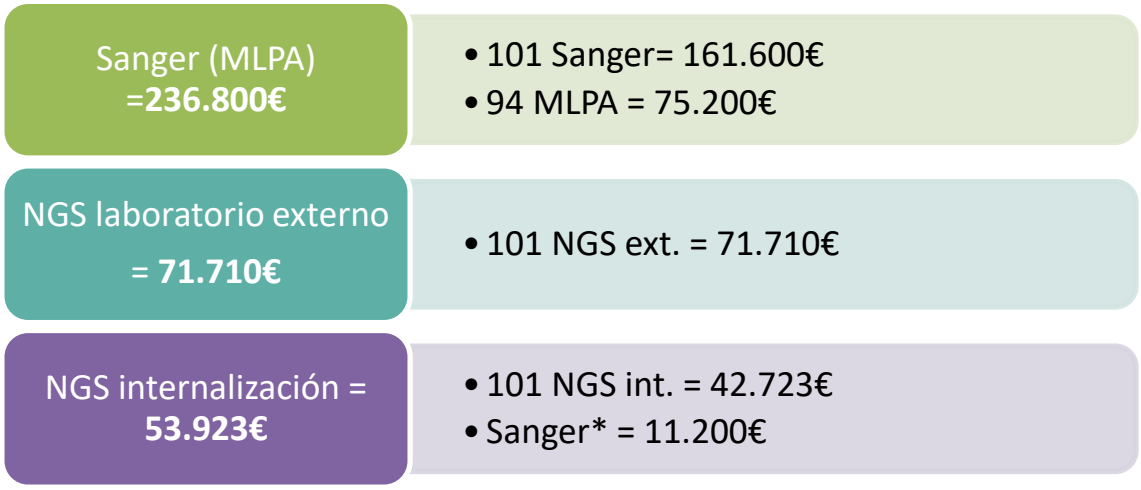


Figura 27. Comparativa económica entre la realización de secuenciación Sanger y MLPA, y la realización de paneles multigénicos mediante NGS en nuestro centro (internalización), en contraste con el envío de muestras a un laboratorio externo (externalización)

*Todas las VP/VPP obtenidas mediante NGS en nuestro centro se validaron mediante secuenciación Sanger en un laboratorio externo de referencia.

Como se puede observar en la Figura 27, el gasto realizado durante el año 2016 para el análisis de los genes *BRCA1/BRCA2* fue de 236.800€. Al considerar la introducción de los paneles multigénicos, externalizar las muestras habría costado 71.710€, frente a los 53.923€ que costaría internalizar el estudio genético en el hospital (este último cálculo incluye el costo de enviar a un laboratorio externo las muestras con una VP/VPP para su confirmación).

En resumen, si comparamos los gastos asociados a las pruebas de secuenciación Sanger y MLPA enviadas a un laboratorio externo frente a la internalización de las pruebas de secuenciación masiva en nuestro centro se experimentó un ahorro aproximado del **77.2%.**

5 DISCUSIÓN

Comparativa de la epidemiología genética del CMOH en la provincia de Granada frente a otros estudios publicados

Existen múltiples estudios de prevalencia sobre variantes genéticas en los genes *BRCA1/BRCA2* relacionados con CMOH los cuales se han llevado a cabo en diferentes regiones de España (193–201), sin embargo, Andalucía está poco representada con sólo un estudio sobre *BRCA1/BRCA2* sin incluir la población de Granada (202) (Figura 28).

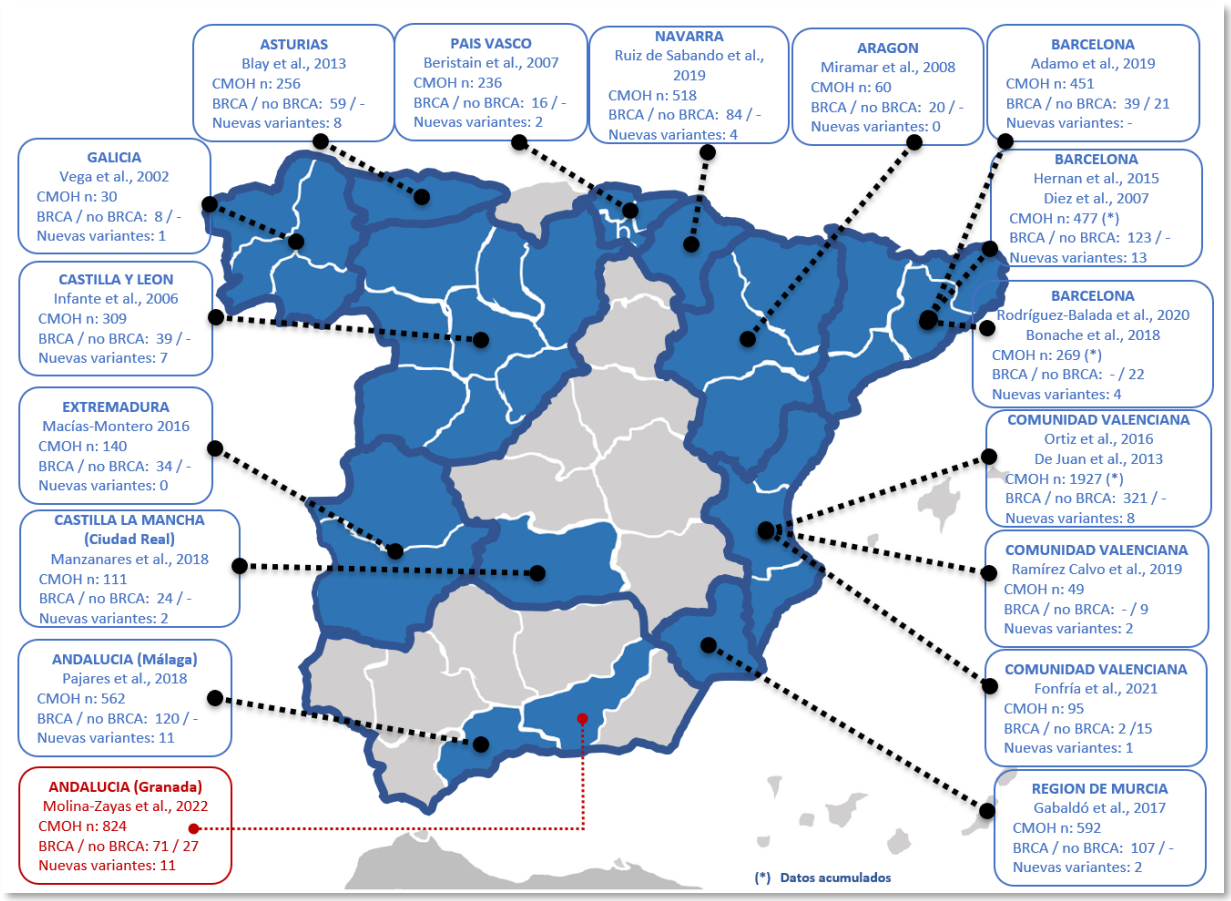


Figura 28. Representación gráfica de los estudios previos de pruebas genéticas en pacientes con cáncer de mama y ovario hereditario en España por regiones

El número de individuos incluidos en cada cohorte se muestra con una "*n*". El número de VP/VPP identificadas también se muestra dividido entre aquellos estudios que incluyen solo *BRCA1/BRCA2* u otros genes y el número de variantes nuevas identificadas también se muestra para comparar con nuestro estudio.

La mayoría de estos estudios, solo incluyen el análisis de los genes *BRCA1* y *BRCA2,* por lo que, la originalidad de este trabajo radica en el análisis de genes adicionales además de *BRCA1/BRCA2*, aumentando la proporción de variantes de clase IV/V identificadas en nuestra cohorte en comparación con estudios previos en nuestra región (202).

Además, la tasa de detección de estas variantes fue mayor que el 10% promedio recomendado para el cáncer hereditario (203,204), lo que destaca la eficiencia tanto de la selección de cohortes como de la tecnología de pruebas genéticas.

Rendimiento diagnóstico

La frecuencia de variantes patogénicas identificadas en este estudio varía en función de la técnica utilizada, así para el análisis de los genes *BRCA1/BRCA2* la tasa de detección de VP/VPP fue del 10.7% frente a un 13.2% identificadas mediante un panel de genes (**Anexo IX**. Resultados obtenidos a partir de estudios previos en España).

En relación al estudio de los genes *BRCA1/BRCA2* se han informado en España frecuencias muy heterogéneas que varían del 6.8% (199) al 33.3% (200), mientras que el resto de estudios se sitúan en un rango de detección alrededor del 16 al 24% (194,195,198,202,205,206).

Las discrepancias entre los estudios pueden deberse a varias razones, siendo los criterios de inclusión una de las principales. Por ejemplo, uno de los estudios con mayores frecuencias de mutación para *BRCA1/BRCA2* (33,3%) incluyó no sólo a las pacientes índice sino también a sus familiares, aumentando las posibilidades de detectar variantes si tenemos en cuenta que todas estas pacientes pertenecían a familias con varios casos de cáncer de mama o de ovario (200). Por el contrario, un estudio que mostró frecuencias de mutación muy bajas para *BRCA1/BRCA2* incluyó solo casos índice no relacionados con o sin antecedentes familiares de cáncer de mama y/o de ovario (199), lo que redujo la probabilidad de detectar variantes en estos genes. En un estudio realizado en Ciudad Real se indica que se incluyen pacientes afectos de CM/CO pertenecientes a familias de alto riesgo, sin indicar con claridad qué criterios de inclusión

se han tenido en cuenta para realizar el estudio genético (205). Además, las mutaciones fundadoras podrían afectar las frecuencias diferenciales de mutaciones entre regiones, como se mostró anteriormente (197) y el tamaño de la población también afecta la capacidad de detectar mutaciones que predisponen al cáncer.

En referencia a las frecuencias obtenidas en el análisis de paneles multigenes, en diferentes estudios de origen español, los resultados se presentan de manera más homogénea. Así, en un estudio realizado en 2019 en el Hospital Clinic de Barcelona, que utilizó un panel de 16 genes (15 de ellos coincidieron con los genes incluidos en nuestro panel), se obtuvo un 12.7% de variantes patogénicas (207), una cifra muy similar a la obtenida en nuestro estudio de 16 genes mediante NGS (13.2%). Otro artículo publicado en 2019 en la Comunidad Valenciana obtuvo una frecuencia superior (18%), debido a que este estudio incluye variantes monoalélicas del gen *MUTYH* (208) el cual presenta una herencia autosómica recesiva relacionado con poliposis y un mayor riesgo de cáncer colorrectal cuya implicación en el CMOH es hasta la fecha controvertida sin haber evidencias sólidas sobre su implicación con estos tipos de cáncer (209–211).

En nuestro trabajo identificamos frecuencias de mutación más altas en *BRCA2* (48,0%) en comparación con *BRCA1* (24,5%) de acuerdo con estudios recientes (202,205), sin embargo, otros autores encontraron mayores frecuencias en *BRCA1 (*53-57%) frente a *BRCA2* (43-47%) (194,197). Esta prevalencia diferencial podría verse afectada por el tamaño de la población del estudio, los criterios de inclusión o incluso el sesgo regional. A nivel global, también existen diferencias dependiendo de la población de estudio, así en un estudio realizado sobre población China se encuentra una frecuencia mayor en *BRCA2* (212), mientras que en otras poblaciones como Brasil o Boston son más frecuentes las variantes patogénicas en *BRCA1 versus BRCA2* (210,213).

Además, a diferencia de la mayoría de los estudios realizados en nuestra región, analizamos no solo la prevalencia de VP/VPP en los genes *BRCA1/BRCA2* sino también otros genes relacionados con el riesgo de CMOH. En nuestra cohorte, *PALB2* fue el gen mutado con mayor frecuencia (8/386; 2.1%) 7 mujeres afectas de CM y una sin cáncer, con una frecuencia similar a las descritas en otros estudios previos (145,207,214). Dos

de las VP detectadas en *PALB2* (c.1653T>A y c. 2964delA) se repitieron tres veces cada una y también fueron identificadas en otros estudios previos en población española (208,214), lo que sugiere el potencial efecto fundador de dicha variante en población española.

La frecuencia de variantes patogénicas en *ATM* (7/386; 1.8%) fue ligeramente superior a las frecuencias reportadas previamente para la población española (145,207,208). En cambio, las frecuencias de variantes patogénicas en *CHEK2* (1.6%) y *TP53* (0.5%) mostraron una mayor variabilidad en relación con los estudios previos publicados, ya que se han informado frecuencias tanto menores como mayores a las observadas en nuestra población (207,215). Esto podría interpretarse como que aún son escasos los estudios que incluyen estos genes y que para conocer la frecuencia real sería necesario aumentar el tamaño de las cohortes en las que se estudian estos genes.

Los datos de NGS destacaron una reducción en el número de individuos reportados de bajo riesgo (según la presencia de variantes de clase I/II) del 85,4 al 65 % (para secuenciación dirigida y NGS respectivamente), lo que sugiere que la inclusión de genes adicionales mejorará la detección de personas de alto riesgo. Es importante destacar que 27 individuos de esta cohorte habrían sido clasificados erróneamente como de bajo riesgo sino se hubiera realizado un panel genético.

Se han detectado nueve variantes con una frecuencia igual o superior a 3 entre los pacientes analizados en este estudio. Algunas de estas variantes se han detectado también en otros trabajos a nivel nacional, por lo que podrían tener un efecto fundador en nuestra área. Así, en el gen *BRCA1*, se han detectado las mismas variantes patogénicas en la Comunidad Valenciana, Murcia, Ciudad Real o Málaga: c. 68_69delAG (193,194,205), c.3770_3771delAG y c.211A>G (193,194,202). De igual manera ocurre, para el gen *BRCA2* y sus variantes más frecuentes detectadas; c.3922G>T (193,194,206), c.3264dupT (194,205) y c.5720_5723delCTCT (193,202,205).

Las variantes más frecuentemente detectadas en *PALB2*; se han detectado en población valenciana y en un estudio multicéntrico respectivamente; c.2964delA (208) y

c.1653T>A (214). Con respecto a la variante c.394A>G en *CHEK2*, se ha detectado en trabajos publicados en Portugal, Reino Unido y en un estudio multicéntrico (216–218)

Sin embargo, para confirmar si verdaderamente alguna de estas variantes presenta un efecto fundador, se deben realizar estudios complementarios como el análisis de haplotipos.

Análisis de los criterios de inclusión

En nuestro estudio, se aplicaron los criterios de inclusión establecidos por la SEOM para realizar el análisis genético. No obstante, un 35.7% de los casos analizados no cumplió estrictamente dichos criterios, pero fueron incluidos en el estudio. De las 98 VP/VPP detectadas, 78 (79.6%) se identificaron siguiendo los criterios estrictos de la SEOM, mientras que 20 (20.4%) se detectaron aplicando criterios más flexibles. Esto es relevante, ya que, de haberse considerado únicamente a los individuos que cumplían estrictamente los criterios de inclusión, estos 20 pacientes no habrían recibido un diagnóstico genético ni su subsiguiente manejo clínico. Este hecho se ha visto reflejado en algunos estudios donde han aplicado paneles de genes de predisposición al cáncer sobre población no seleccionada, es decir, pacientes afectos de cáncer de mama no seleccionados por edad ni antecedentes familiares, reportándose tasas de detección de variantes patogénicas que varían entre el 5 y el 11.1% (212,219–222).

Recientemente se ha demostrado que una proporción significativa de pacientes con CM con variantes de la línea germinal no cumplen con los criterios de prueba clásicos de la NCCN, por lo que este mismo año 2024 la ASCO (Sociedad Americana de Oncología Clínica) ha publicado una serie de cinco recomendaciones consenso sobre el análisis de variantes en línea germinal en pacientes con cáncer de mama (223,224) las cuales quedan resumidas en la Tabla 17.

Tabla 17. Resumen de las recomendaciones ASCO 2024 sobre estudio genético en línea germinal para pacientes con cáncer de mama

	Recomendaciones ASCO 2024	**Genes**
1.1	A todos los pacientes con diagnóstico reciente de CM en estadio avanzado de novo/ metastásico (≤65 años)	*BRCA1/ BRCA2*
1.2	A todos los pacientes con diagnóstico reciente de CM en estadio avanzado si: son candidatos a terapia iPARP, CMTN, con antecedentes familiares/personales de CM, sexo masculino, ascendencia judía asquenazí >65 años)	*BRCA1/ BRCA2*
1.3	Ofrecer también estudiar otros genes de predisposición CM.	Panel de genes
2.1	A todos los pacientes con CM recurrente candidatos a la terapia iPARP.	*BRCA1/ BRCA2*
2.2	Pacientes con un segundo cáncer primario contralateral o ipsilateral.	*BRCA1/ BRCA2*
3.1	A todos los pacientes con antecedentes personales CM sin enfermedad activa (≤65 años).	*BRCA1/ BRCA2*
3.2	A todos los pacientes con antecedentes personales CM sin enfermedad activa si: CMTN, antecedentes familiares/personales de CM, sexo masculino, ascendencia judía asquenazí (>65 años).	*BRCA1/ BRCA2*
4.1	Ofrecer otros genes que puedan influir en terapia médica, toma de decisiones quirúrgicas, estimaciones de riesgo, etc.	*PALB2, TP53, PTEN, STK11, CDH1*
4.2	Ofrecer también estudiar otros genes de penetrancia moderada que puedan informar sobre los riesgos de un segundo cáncer primario o evaluación de riesgos familiares.	Genes penetrancia moderada
4.3	Aplicar los paneles multigénicos a los antecedentes familiares y personales del paciente.	Panel de genes
5.1	Los pacientes deben recibir suficiente información previa a la firma del consentimiento informado.	
5.2	Los pacientes con VP deben recibir asesoramiento genético individualizado post test.	
5.3	Informar a los pacientes sobre las VUS, indicando que es necesario realizar un seguimiento periódico ya que pueden reclasificarse a patogénicas.	
5.4	Realizar un correcto asesoramiento genético, aunque no se haya identificado VP en el estudio genético.	

En resumen, el análisis de los genes *BRCA1/BRCA2*, así como otros genes de alta o moderada penetrancia puede tener beneficios para pacientes y familiares para fines terapéuticos y evaluación de riesgos, lo que sugiere que la NGS podría usarse en un futuro cercano para detectar poblaciones menos específicas a medida que bajen los costos.

Reclasificación de variantes de significado incierto

La introducción de las técnicas de secuenciación de segunda generación ha supuesto un aumento en la detección de VUS (de un 3.9% detectadas mediante secuenciación Sanger frente a un 21.8% detectadas mediante NGS), lo que supone una proporción de VUS por cada VP de 1.65, frecuencia similar a la media reportada en un metaanálisis de datos de paneles genéticos (225). Estas VUS deben revisarse periódicamente en las bases de datos ya que suponen un importante desafío en cuanto a su interpretación, de hecho, algunos grupos de investigación han desarrollado algoritmos que permitan la priorización de VUS, es decir, aquellas que presentan un mayor riesgo de ser patogénicas y que por lo tanto deben priorizarse para determinar su significado clínico (153,226). Además, actualmente, se están desarrollando ensayos funcionales que permiten evaluar el impacto de estas VUS (227,228), así, aunque este análisis no ha sido objeto de este trabajo, sí se ha considerado como una perspectiva futura para la evaluación y reclasificación de las variantes de significado desconocido.

Este estudio recoge las variantes de significado incierto revisadas en el tiempo, ya que en el año 2020 se realizó una primera reclasificación de aquellas VUS obtenidas en los estudios genéticos realizados durante los años 2013 a 2018. En dicha revisión, se reclasificaron un total de 44/145 (30%) VUS detectadas inicialmente, de las cuales un 95.5% se clasificaron como benignas o probablemente benignas, y dos de ellas (4.5%) se reclasificaron como patogénica [NM_000179.3(MSH6):c.2314C>T (p.Arg772Trp) rs63750138] y probablemente patogénica [NM_007194.4(CHEK2):c.1427C>T (p.Thr476Met) rs142763740], en una proporción similar a la descrita previamente (229).

Esta revisión de variantes es importante ya que tiene gran impacto clínico sobre el paciente caso índice y sus familiares, ya que pasaron de tener una variante "no accionable" en el estudio genético inicial a una variante genética patogénica/ probablemente patogénica. Desde la consulta de consejo genético se informó a ambas pacientes para comunicarles el nuevo resultado obtenido en la revisión de sus variantes, incluyéndose en los programas de cribado para pacientes de alto riesgo y se le propuso el estudio de portadores en el resto de familiares en riesgo.

Desde la primera reclasificación de VUS realizada en el año 2020, desde la consulta de Oncología Médica, en las revisiones rutinarias de seguimiento de los pacientes afectos de cáncer, se solicita la revisión de las mismas con una periodicidad anual. Así el facultativo responsable del paciente realiza una interconsulta al laboratorio de Genética donde solicita la revisión de la variante de significado incierto.

Relación con la edad de presentación y tipo tumoral

En este trabajo hemos detectado diferencias significativas en cuanto al gen que presenta la mutación y sus consecuencias referentes a la edad de presentación y del tipo de cáncer, así ser portador de una VP/VPP en el gen *BRCA1* se relaciona con mayor precocidad en desarrollar cáncer (edad media <40 años; p = 0.001) y con formas más agresivas y de peor pronóstico como es el subtipo basal (p <0.001). En un gran estudio de cohorte en el que participaron 1.824 pacientes con cáncer de mama triple negativo no seleccionados por sus antecedentes familiares, se encontraron mutaciones en *BRCA1* en el 8,5% de los casos, además se demostró que los pacientes con estas mutaciones fueron diagnosticados a una edad más temprana en comparación con aquellos sin mutaciones (p <0,001) y tenían tumores de mayor grado (p = 0,01) (230). De manera similar, en otro estudio en el que participaron 523 pacientes con CM subtipo basal no seleccionados de una cohorte italiana, el 21.4% de los pacientes CMTN sin antecedentes familiares presentaban una VP/VPP en *BRCA1* y además, fueron diagnosticados a una edad más temprana (37 años) que los no portadores (44 años) o los portadores de *BRCA2* (45 años) (p <0,001) (231).

Estos resultados podrían justificar las nuevas recomendaciones de la ASCO 2024, referentes a considerar pruebas genéticas integrales para todas las mujeres jóvenes diagnosticadas con CMTN para facilitar la detección temprana y estrategias de tratamiento personalizadas.

En referencia al gen *PALB2*, también hemos detectado que se relaciona con una mayor probabilidad de desarrollar CM subtipo luminal B (p = 0.023) y a mayor edad en el momento del diagnóstico (p = 0.023). En referencia a la edad de presentación del cáncer, un estudio publicado en 2023, concluye que la presencia de variantes patogénicas en los genes *PALB2*, *ATM* y *CHEK2* no se asocian con edad tan temprana de aparición del cáncer como en el caso de VP en *BRCA1/BRCA2* (232). En nuestra cohorte, no hemos encontrado diferencias significativas en referencia a las variantes patogénicas y la edad de presentación del cáncer para los genes *ATM* y *CHEK2*, probablemente por el reducido número de VP/VPP en estos genes. De igual manera, en relación con el subtipo tumoral, VP en *PALB2* se han asociado a formas agresivas de la enfermedad como es el cáncer de mama triple negativo según varios autores (233,234), sin embargo, en nuestra cohorte no hemos hallado dicha conclusión probablemente debido a la baja prevalencia de variantes en *PALB2*.

En resumen, este estudio sugiere que las variantes genéticas en el gen *PALB2* tiene un impacto clínico significativo en el riesgo de desarrollar cáncer de mama, especialmente en pacientes con receptores hormonales positivos, y que la edad en el momento del diagnóstico puede modular este riesgo.

Ventajas y limitaciones de la implantación de la tecnología NGS

El establecimiento de la unidad de “Secuenciación masiva” (NGS) en nuestra área asistencial constituye un avance significativo en la calidad científico-técnica de nuestros servicios de laboratorio. Esta iniciativa no solo mejora nuestra capacidad técnica, sino que también crea un área de desarrollo estratégico fundamental para nuestro centro.

La implementación de esta técnica ha permitido ampliar nuestra cartera de servicios al incluir estudios que anteriormente se subcontrataban a laboratorios privados. Hecho

que se ha visto reflejado en un incremento del número de solicitudes de estudio genético aproximado del 120% desde la instauración de los paneles multigénicos en nuestro laboratorio. Este cambio nos proporciona mayor control sobre la calidad y los tiempos de entrega de los resultados, además de generar un ahorro considerable en costos de externalización, alcanzando un 77.2%.

Además del beneficio económico, la creación de esta unidad de NGS nos proporciona tecnología de última generación, posicionándonos de manera óptima para enfrentar nuevos desafíos diagnósticos en el campo de la Biología Molecular con mayor eficiencia. Esto incluye la capacidad de ampliar el número de genes candidatos en distintos tipos de cáncer y el exoma clínico aplicado a diferentes enfermedades genéticas. Gracias a esta tecnología, podemos analizar secuencias genéticas con mayor precisión y velocidad, resultando en diagnósticos más rápidos y precisos para nuestros pacientes.

Sin embargo, también hay consideraciones éticas y de privacidad asociadas con la internalización de estas pruebas genéticas, como la protección de la información genética personal y la garantía de un asesoramiento genético adecuado para interpretar los resultados de manera responsable.

En resumen, la internalización de las pruebas genéticas mediante el uso de paneles multigenes mediante secuenciación masiva ofrece grandes promesas para la medicina personalizada y la salud pública, pero también plantea desafíos importantes que deben abordarse cuidadosamente (215,235,236).

Entre las limitaciones que presenta esta técnica se incluyen:

- Existen limitaciones técnicas en la detección de CNV de tamaño medio, esta técnica permite una resolución hasta de 200 pb.
- Pueden existir ciertas zonas del genoma codificante que no son cubiertas por esta técnica. Es crucial garantizar una adecuada cobertura de todas las regiones de interés, con una profundidad mínima de 20X (lo que indica que existen al menos 20 lecturas de dicha región).

- Este estudio no detecta reordenamientos o translocaciones cromosómicas, mosaicismo o mutaciones intrónicas profundas.
- La tecnología NGS basada en la captura/enriquecimiento mediante hibridación de sondas, no permite distinguir entre regiones de alta homología (genes homólogos, pseudogenes, familias de genes, etc.) pudiendo dar lugar a falsos negativos.
- Se genera una gran cantidad de datos genómicos que requiere de herramientas informáticas adecuadas para su almacenamiento, en nuestro caso fue necesario solicitar una ampliación en la capacidad de almacenamiento informática para poder almacenar todos los FastQ obtenidos del secuenciador.
- Otra limitación es en la interpretación de los resultados, ya que se basa en los conocimientos disponibles en la actualidad a través de bases de datos y herramientas de software, lo que puede ocasionar dificultades en la clasificación de las variantes, incluyendo la detección de variantes no descritas en las bases de datos o variantes de significado incierto (VUS) cuya patogenicidad aún no ha sido establecida. En nuestro centro, esta limitación se ha minimizado mediante la solicitud de revisión y reclasificación anual de las VUS.

Implementación de medidas preventivas

En nuestra cohorte, las cirugías reductoras de riesgo (mastectomía profiláctica tanto bilateral como contralateral y la salpingooforectomía profiláctica unilateral o bilateral), han sido las opciones más utilizadas, con un 59% de las pacientes optando por estas intervenciones para disminuir el riesgo de cáncer en mujeres portadoras de una variante patogénica o probablemente patogénica en genes de alto riesgo.

La mayoría de los artículos publicados hacen referencia a cirugías reductoras de riesgo basadas en variantes patogénicas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* (237), sin embargo, en nuestra cohorte, 8 de las mujeres que se sometieron a cirugía reductora de riesgo portaban una variante en genes como *PALB2, CHEK2, MSH6* y *RAD51C*. Aunque no existen muchas pautas sobre cirugía profiláctica más allá de *BRCA1* y *BRCA2*, está

aumentando el número de oncólogos y ginecólogos que reconocen el riesgo de desarrollar CMOH asociado con otros genes de penetrancia alta o intermedia.

Recientemente, el ACMG publicó una guía para pacientes con variantes de la línea germinal en *PALB2*, en la que la mastectomía reductora de riesgo es una opción a considerar para reducir el riesgo de CM, así como para incluir la vigilancia del cáncer de páncreas; sin embargo, no se recomienda la ooforectomía en pacientes menores de 50 años (108). En nuestra cohorte, 4 de 8 pacientes con variantes de clase IV/V en este gen se sometieron a una mastectomía profiláctica según lo recomendado por esta guía reciente.

Algo similar ocurre con el gen *CHEK2*, ya que hasta el año 2023 no se publicó la primera guía de recomendaciones de la ACMG donde se recomienda mastectomía para reducir el riesgo en función de las estimaciones de riesgo personalizadas y una toma de decisiones compartida, así como considerar la vigilancia del cáncer colorrectal y de próstata basándose en la evaluación de los antecedentes familiares (122). En nuestra cohorte, 2 de las pacientes con una variante clase IV/V optaron por la realización de mastectomía profiláctica, antes de la publicación de esta guía y considerando este gen como penetrancia moderada.

Es importante tener en cuenta otros factores como la edad de la mujer en el momento de la edad en el momento del diagnóstico genético. Esto es de gran importancia ya que observamos que las mujeres más jóvenes optaron preferentemente por someterse a cirugía.

Por otro lado, también se deben considerar los antecedentes familiares de cáncer y aspectos psicológicos como el miedo a la recurrencia del cáncer o su asociación con el desarrollo de otros cánceres dependiendo del gen mutado (páncreas, endometrio, síndrome de Cowden, estómago, etc.).

Limitaciones del estudio y posibles sesgos

Las limitaciones de este estudio se relacionan principalmente con la elaboración manual de la base de datos, ya que en los primeros años del estudio no se disponía de una base

de datos informatizada donde extraer la información, por lo que los principales errores pueden resumirse de la siguiente manera:

- Errores humanos: La recopilación manual de datos está sujeta a errores humanos, como errores de escritura, transcripción incorrecta de información o pérdida de datos.
- Datos incompletos: Dependiendo de cómo se recopilen los datos, puede ser difícil obtener una imagen completa de la historia clínica de un paciente. Algunos datos pueden faltar o ser incompletos, principalmente en los datos referentes a los primeros pacientes del estudio donde aún no se disponía de un sistema informatizado para la consulta de información.
- Tiempo y recursos: La recopilación manual de datos ha sido un proceso largo y laborioso.

Entre los posibles sesgos podrían encontrarse:

- Sesgo de información: Dependiendo de quién recopile los datos y cómo se recopilen, puede haber sesgos en la información registrada. Por ejemplo, si los datos se obtienen principalmente de registros médicos escritos por diferentes médicos, puede haber variabilidad en la calidad y la cantidad de información registrada.
- Sesgo de tiempo: Los datos recopilados manualmente pueden reflejar el contexto y las prácticas médicas en el momento en que se recopilaron, lo que puede sesgar los resultados como por ejemplo en el cambio en la forma de solicitar las pruebas genéticas, pasando de la solicitud manual a la petición electrónica o el paso de la externalización a la internalización
- Sesgo de reporte: Existe la posibilidad de que los pacientes o los profesionales de la salud subestimen o exageren ciertos aspectos de la historia clínica, lo que puede sesgar los datos recopilados.

Dentro de las medidas que se han llevado a cabo para minimizar los posibles sesgos, destaca que una única persona es la que ha realizado la extracción de la información y la elaboración de la base de datos por lo que se ha realizado bajo los mismos criterios.

Además, algunos de los datos más relevantes de este estudio se han corroborado en varias ocasiones en los sistemas de información disponibles.

Perspectivas futuras

Colaboración con el Registro de Cáncer de Granada para establecer el primer registro genético de la provincia

Gracias a la realización de este trabajo se ha brindado la oportunidad de colaborar con el Registro de Cáncer de Granada; donde ya se están analizando los primeros datos, relacionando los casos incluidos en este registro provincial con los datos genéticos de portadores de variantes patogénicas y probablemente patogénicas para obtener el primer Registro Genético de Cáncer de Granada.

6 CONCLUSIONES

1. El rendimiento diagnóstico en la detección de variantes patogénicas o probablemente patogénicas fue del 10,7% mediante secuenciación Sanger, en comparación con el 13,2% mediante secuenciación de nueva generación (NGS). Esto subraya la necesidad de incorporar paneles multigénicos en la práctica clínica, en consultas especializadas, junto con un adecuado asesoramiento genético tanto antes como después de las pruebas genéticas.

2. Variantes patogénicas/ probablemente patogénicas en el gen *BRCA2* fueron las más prevalentes (5.7%), seguido de *BRCA1* (2.9%), *PALB2* (0.97%), *ATM* (0.85%), *CHEK2* (0.73%), *MSH6* (0.24%), *RAD51C* (0.24%) y *TP53* (0.24%).

3. Se han detectado variantes frecuentes en nuestra cohorte, que podrían tener un efecto fundador en nuestra región, tales como: c.68_69delAG, c.3770_3771delAG y c.211A>G en *BRCA1*; c.3922G>T, c.3264dupT y c.5720_5723delCTCT en *BRCA2*; c.2964delA y c.1653T>A en *PALB2* y c.394A>G en *CHEK2*.

4. Es fundamental establecer una estrategia de seguimiento y reclasificación de las variantes de significado incierto detectadas mediante técnicas de secuenciación masiva. Aunque la mayoría se reclasifican como benignas o probablemente benignas, en nuestra serie de casos, dos VUS se reclasificaron como patogénica y probablemente patogénica, lo que conlleva importantes consecuencias personales y familiares.

5. Variantes patogénicas en gen *BRCA1* se asocian con un diagnóstico más temprano de cáncer y con formas más agresivas y de peor pronóstico, como el cáncer de mama subtipo basal.

6. Es necesario reevaluar los criterios de inclusión establecidos por las diferentes sociedades, ya que, en nuestro caso, la aplicación de criterios más flexibles permitió detectar variantes patogénicas/probablemente patogénicas en 20 pacientes que de otro modo no habrían sido estudiados.

7. La tasa de mortalidad detectada fue más elevada en pacientes que portaban VP/VPP en *BRCA2* seguido de *BRCA1*, además, se reportaron casos de fallecimientos en pacientes que portaban VP/VPP en *CHEK2*, *ATM* y *TP53*.

8. Las mujeres más jóvenes con variantes de clase IV/V en genes predisponentes al cáncer de mama y ovario hereditario (CMOH) tienden a elegir cirugías preventivas reductoras de riesgo (mastectomía, salpingooforectomía o ambas) en lugar de solo seguimiento y revisiones periódicas. En nuestra cohorte, el 25% de estas mujeres presentaban variantes patogénicas en genes distintos a *BRCA1* y *BRCA2*, lo que destaca la importancia de identificar otros genes de alta y moderada penetrancia para que también puedan beneficiarse de las medidas de cirugía profiláctica.

7 ANEXOS

ANEXO I: Recomendaciones del ACMG/AMP para la clasificación de variantes patogénicas

Evidencia de patogenicidad	Simbología	Descripción
Muy fuerte	PVS1	Variante nula (sin sentido, cambio de marco, canónico +/- 1 o 2 sitios de empalme, codón de iniciación, deleción de exón único o múltiple) en un gen donde la pérdida de función es un mecanismo conocido de enfermedad.
Fuerte	PS1	Mismo cambio de aminoácidos que una variante patogénica previamente establecida independientemente del cambio de nucleótido.
	PS2	De *novo* (confirmada tanto de maternidad como de paternidad) en un paciente con la enfermedad y sin antecedentes familiares.
	PS3	Estudios funcionales in vitro o in vivo bien establecidos que respaldan un efecto dañino sobre el gen o el producto génico.
	PS4	La prevalencia de la variante en los individuos afectados aumenta significativamente en comparación con la prevalencia en los controles.
Moderada	PM1	Ubicado en un punto caliente mutacional y/o dominio funcional crítico y bien establecido sin variación benigna.
	PM2	Ausente en los controles (o en una frecuencia extremadamente baja si es recesivo) en el Proyecto de Secuenciación del Exoma, 1000 Genomas o ExAC.
	PM3	Para trastornos recesivos, detectados en trans con una variante patogénica (determinados en los padres).
	PM4	Cambios en la longitud de la proteína debido a eliminaciones/inserciones dentro del marco en una región sin repetición o variantes de parada de pérdida.
	PM5	Nuevo cambio de sentido erróneo en un residuo de aminoácido donde antes se había observado un cambio de sentido erróneo diferente determinado como patógeno
	PM6	Asumida de *novo*, pero sin confirmación de paternidad y maternidad.
Respalda la patogenicidad	PP1	Cosegregación con enfermedad en múltiples miembros de la familia afectados en un gen que definitivamente se sabe que causa la enfermedad.
	PP2	Cosegregación con enfermedad en múltiples miembros de la familia afectados en un gen que definitivamente se sabe que causa la enfermedad.

	PP3	Múltiples líneas de evidencia computacional respaldan un efecto nocivo sobre el gen o el producto génico (conservación, evolución, impacto de empalme, etc.)
	PP4	El fenotipo o los antecedentes familiares del paciente son altamente específicos de una enfermedad con una única etiología genética.
	PP5	Una fuente confiable informa recientemente que la variante es patógena, pero el laboratorio no dispone de evidencia para realizar una evaluación independiente.

Tabla resumida y adaptada de: Richards S. et al. Genet Med. 2015.

ANEXO II: Recomendaciones del ACMG/AMP para la clasificación de variantes benignas

Tipo de evidencia	Simbología	Descripción
Independiente de impacto benigno	BA1	La frecuencia de alelos es superior al 5% en Exome Sequencing Project, 1000 Genomes o ExAC.
Fuerte evidencia de impacto benigno	BS1	La frecuencia alélica es mayor de lo esperado para el trastorno
	BS2	Observado en un individuo adulto sano para un trastorno recesivo (homocigoto), dominante (heterocigoto) o ligado al cromosoma X (hemicigoto) con penetrancia total esperada a una edad temprana.
	BS3	Estudios funcionales in vitro o in vivo bien establecidos no muestran efectos dañinos sobre la función o el empalme de las proteínas.
	BS4	Falta de segregación en los miembros afectados de una familia.
Evidencia que respalda el impacto benigno	BP1	Variante sin sentido en un gen cuyas variantes principalmente truncadas causan enfermedad.
	BP2	Observado en trans con una variante patogénica para un gen/trastorno dominante totalmente penetrante; u observado en cis con una variante patogénica en cualquier patrón de herencia.
	BP3	Eliminaciones/inserciones dentro del marco en una región repetitiva sin una función conocida.
	BP4	Múltiples líneas de evidencia computacional sugieren que no hay impacto en el gen o el producto genético (conservación, impacto evolutivo, empalme, etc.)
	BP5	Variante encontrada en un caso con una base molecular alternativa para la enfermedad.
	BP6	Una fuente confiable informa recientemente que la variante es benigna, pero el laboratorio no dispone de evidencia para realizar una evaluación independiente.
	BP7	Una variante sinónima (silenciosa) para la cual los algoritmos de predicción de empalme no predicen ningún impacto en la secuencia consenso de empalme ni la creación de un nuevo sitio de empalme Y el nucleótido no está altamente conservado.

Tabla resumida y adaptada de: Richards S. et al., Genet Med. 2015.

ANEXO III: Reglas para combinar criterios para clasificar variantes

Clasificación	Criterio 1	Criterio 2
Patogénica	1 Muy Fuerte (PVS1) *Y*	≥1 fuerte (PS1–PS4) O ≥2 Moderado (PM1–PM6) O 1 moderado (PM1–PM6) y 1 de apoyo (PP1–PP5) O ≥2 Apoyo (PP1–PP5)
	≥2 Fuerte (PS1–PS4)	
	1 Fuerte (PS1 – PS4) Y	≥3 Moderado (PM1–PM6) O 2 moderado (PM1–PM6) Y ≥2 de apoyo (PP1–PP5) O 1 moderado (PM1–PM6) Y ≥4 de apoyo (PP1–PP5)
Probablemente patogénica	1 muy fuerte (PVS1) Y	1 moderado (PM1–PM6)
	1 fuerte (PS1–PS4) Y	1–2 moderado (PM1–PM6)
	1 fuerte (PS1–PS4) Y	≥2 de apoyo (PP1–PP5)
	≥3 Moderado (PM1–PM6)	
	2 moderado (PM1–PM6) Y	≥2 de apoyo (PP1–PP5)
	1 moderado (PM1–PM6) Y	≥4 de apoyo (PP1–PP5)
Benigno	1 independiente (BA1)	
	≥2 Fuerte (BS1–BS4)	
Probablemente benigno	1 fuerte (BS1–BS4)	1 de apoyo (BP1–BP7)
	≥2 de apoyo (BP1–BP7)	

*Las variantes deben clasificarse como de Variantes de Significado Incierto (VUS) si no se cumplen otros criterios o los criterios de benignidad y patogenicidad son contradictorios.

Tabla adaptada de: Richards S et al. Genet Med. 2015 (238)

.

ANEXO IV: Recomendaciones NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) versión 2.2024 en función del gen que presenta una VP/VPP).

BRCA 1/2	Cáncer de mama (femenino)	- Examen clínico de las mamas, cada 6-12 meses, a partir de los 25 años. - Entre los 25 y los 29 años, cribado mamario anual mediante RMN (Resonancia Magnética Nuclear) con y sin contraste (o mamografía) o individualizada en función de los antecedentes familiares si existe un diagnóstico de cáncer de mama antes de los 30 años. - De 30 a 75 años, mamografía anual y RMN con y sin contraste. - Edad >75 años, el tratamiento debe considerarse de forma individual. - Considerar las medidas de reducción del riesgo como opciones, teniendo en cuenta riesgos y beneficios.
	Cáncer de mama (masculino)	- Examen clínico de las mamas, cada 12 meses, a partir de los 35 años. - Considerar la mamografía anual, a partir de los 50 años o 10 años antes del primer cáncer de mama masculino conocido en la familia (lo que ocurra antes).
	Cáncer de ovario	Recomendar cirugía profiláctica (salpingooforectomía), a partir de los 35-40 años teniendo en cuenta la maternidad. En pacientes con variantes en *BRCA2* se puede retrasar hasta los 40-45 años a menos que la edad del diagnóstico en la familia justifique una edad más temprana para considerar la cirugía profiláctica.
	Cáncer de próstata	A partir de los 40 años: Directrices para la detección precoz del cáncer de próstata.
	Cáncer de páncreas	Considerar el cribado del cáncer de páncreas a partir de los 50 años (o 10 años antes del diagnóstico más precoz de cáncer de páncreas exocrino).
	Melanoma	No existen directrices específicas de cribado para el melanoma, pero es adecuado un control general del riesgo de melanoma, como la realización anual de un examen corporal completo.
PALB2	Cáncer de mama	Mamografía anual a los 40 años y considerar RMN con y sin contraste

		a partir de los 30-35 años. Reducción del riesgo: Evidencia insuficiente para la mastectomía de reducción de riesgo (RRM); gestión basada en antecedentes familiares.
	Cáncer de ovario	Reducción del riesgo: Evidencia insuficiente para salpingooforectomía reductora del riesgo, gestión basada en los familiares.
TP53	Cáncer de mama	- Examen clínico de las mamas, cada 6-12 meses a partir de los 20 años. - Cribado mamario 20-29 años y, cribado anual con RMN de mama con y sin contraste. - De 30 a 75 años, cribado anual con RMN con y sin contraste y mamografía - Edad >75 años, el tratamiento debe considerarse individualmente. - Valorar cirugía reductora de riesgo según antecedentes familiares y edad.
	Otros cánceres	- Examen físico completo que incluya examen neurológico con alto índice de sospecha de cánceres raros y segundas neoplasias malignas en supervivientes de cáncer cada 6-12 meses. - Colonoscopia y endoscopia digestiva alta cada 2-5 años a partir de los 25 años o 5 años antes del primer cáncer colorrectal o gástrico conocido en la familia. - Examen dermatológico anual a partir de los 18 años. - RMN de cuerpo entero anual. La RMN cerebral anual puede realizarse como parte de la RMN de cuerpo entero o como un examen separado. - Examen anual del antígeno prostático específico (PSA) a partir de los 40 años para la detección precoz del cáncer de próstata.
PTEN	Cáncer de mama	- Examen clínico de las mamas, cada 6-12 meses, a partir de los 25 años o 5-10 años antes del primer cáncer de mama conocido en la familia (lo que ocurra primero). - Mamografía y RMN anuales, con y sin contraste, a partir de los 30 años o 10 años antes del primer cáncer de mama conocido en la familia (lo que ocurra primero).

		- Edad >75 años, el tratamiento debe considerarse de forma individual. - Valorar cirugía reductora de riesgo en pacientes en las que se ha identificado una variante patogénica/ probablemente patogénica.
	Cáncer endometrio	- Para el cribado se recomienda empezar a los 35 años. - Fomentar la educación de las pacientes y la pronta respuesta a los síntomas para identificar irregularidades en su ciclo menstrual. - La biopsia endometrial es altamente sensible y específica como procedimiento diagnóstico. Se puede considerar el cribado mediante biopsia endometrial cada 1 o 2 años. - Discutir la opción de la histerectomía al finalizar la maternidad y aconsejar sobre el grado de protección, el riesgo de cáncer y los deseos reproductivos.
	Cáncer renal	- Considerar ecografía renal a partir de los 40 años, luego cada 1-2 años.
	Cáncer colorrectal (CCR)	- Colonoscopia, comenzando a los 35 años a menos que sea sintomático o si un pariente cercano tiene CCR antes de los 40 años, entonces comenzar 5-10 años antes del CCR más temprano conocido en la familia. - La colonoscopia debe realizarse cada 5 años o con mayor frecuencia si el paciente es sintomático o se encuentran pólipos.
	Cáncer de tiroides	- Ecografía tiroidea anual a partir de los 7 años. - También se puede considerar en niños con riesgo de heredar una variante genética retrasar las pruebas genéticas hasta los 18 años.
	Cáncer neurológico	- Considerar la evaluación psicomotriz en niños en el momento del diagnóstico y la resonancia magnética cerebral si hay síntomas.
	Cáncer de piel	- Puede haber un mayor riesgo de melanoma, y la prevalencia de otras características de la piel. - Se recomiendan exámenes dermatológicos anuales.
CDH1	Cáncer de mama	- Cribado: Mamografía anual y considerar RM de mama con y sin contraste a partir a los 30 años. - Discutir la opción de cirugía reductora de riesgo.
	Cáncer gástrico	- Se recomienda la gastrectomía total profiláctica entre los 18 y los 40 años para los portadores de la mutación CDH1.

		- No se recomienda la gastrectomía profiláctica antes de los 18 años de edad, pero puede ser algunos pacientes, especialmente aquellos con familiares diagnosticados de cáncer gástrico antes de los 25 años. - A los portadores de la mutación *CDH1*, que decidan no someterse a una gastrectomía profiláctica, se les debería ofrecer screening cada 6-12 meses mediante endoscopia digestiva alta con múltiples biopsias aleatorias.
STK11	Cáncer de mama	- Cribado: Mamografía anual y resonancia magnética de mama con y sin contraste a partir de los 30 años.
	Cáncer de colon	- Colonoscopia de alta calidad cada 2-3 años a partir de los 18 años. Pueden estar indicados intervalos más cortos en función del tamaño, número y patología de los pólipos.
	Cáncer gástrico	- Endoscopia digestiva alta cada 2-3 años a partir de los 18 años. Pueden estar indicados intervalos más cortos en función del tamaño, número y patología de los pólipos.
	Intestino delgado	- Visualización del intestino delgado (endoscopia por videocápsula o enterografía por TC/RMN) cada 2-3 años a partir de los 18 años. Pueden estar indicados intervalos más cortos en función del tamaño y el número de pólipos y la patología.
	Cáncer de cervix	- Examen pélvico anual y citología vaginal a partir de los 18-20 años. - Considerar la histerectomía total (incluyendo útero y cérvix) una vez completada con maternidad.
	Cáncer de páncreas	- Examen testicular anual y observación de cambios feminizantes.
	Cánceres en edad pediátrica	- Endoscopia digestiva alta y colonoscopia de alta calidad con Polipectomía a partir de 8-10 años: Si se encuentran pólipos, repetir cada 2-3 años. Si no hay pólipos, reanudar a los 18 años. - Visualización del intestino delgado (videocápsula endoscópica o TC/enterografía por TC/IRM) a partir de 8-10 años, con un intervalo de seguimiento en función de los hallazgos, pero al menos a los 18 años, y después cada 2-3 años. - Ovarios: Examen físico anual para la observación de la pubertad precoz.

		-Testículos: Examen testicular anual y observación de cambios feminizantes.
ATM	Cáncer de mama	- Mamografía anual a los 40 años y considerar RMN con y sin contraste a partir de los 30-35 años. Reducción del riesgo: Evidencia insuficiente para la mastectomía de reducción de riesgo; gestión basada en antecedentes familiares.
	Cáncer de ovario	- Reducción del riesgo: Evidencia insuficiente para salpingo-ooforectomía de reducción de riesgo, gestión basada en los familiares.
	Cáncer de próstata	- Considerar el cribado del cáncer de próstata a partir de los 40 años.
CHEK2	Cáncer de mama	- Mamografía anual a los 40 años considerar RMN con y sin contraste a partir de los 30-35 años. Reducción del riesgo: Evidencia insuficiente para mastectomía profiláctica, gestión basada en los antecedentes familiares
	Cáncer de próstata	- Considerar el cribado del cáncer de próstata a partir de los 40 años.
BRIP1	Cáncer de mama	- Datos insuficientes; tratamiento en función de los antecedentes familiares.
	Cáncer de ovario	- Recomendar salpingooforectomía a partir de los 45-50 años y o antes en función de antecedentes familiares específicos de cáncer de ovario de aparición más temprana.
RAD51C/ RAD51D	Cáncer de mama	- Mamografía anual y considerar RMN con y sin contraste a partir de los 40 años.
	Cáncer de ovario	- Recomendar salpingooforectomía a partir de los 45-50 años y o antes en función de antecedentes familiares específicos de cáncer de ovario de aparición más temprana.
MSH2	Cáncer de mama	- Datos insuficientes; gestión basada en los antecedentes familiares.
	Cáncer de ovario	- Valorar salpingooforectomía bilateral en función de si se ha completado la maternidad, el estado de la menopausia, las comorbilidades, los antecedentes familiares…
	Cáncer endometrio	- No se ha demostrado que la histerectomía total reduzca la mortalidad por cáncer de endometrio, pero puede reducir su incidencia. Por lo tanto, la histerectomía es una opción que puede considerarse para reducir el riesgo, pero debe individualizarse en

		función de si se ha completado la maternidad, las comorbilidades, los antecedentes familiares…
	Cáncer renal (urotelial)	- No existen pruebas claras que apoyen la vigilancia de los cánceres uroteliales. La vigilancia puede considerarse en individuos seleccionados, como aquellos con antecedentes familiares de cáncer urotelial. Las opciones de vigilancia pueden incluir análisis de orina anuales a partir de los 30-35 años.
	Cáncer de páncreas	- Existen datos limitados sobre el riesgo de cáncer de páncreas entre los portadores de una variante patogénica en MSH2. Considerar el cribado del cáncer de páncreas a partir de 50 años (o 10 años antes del diagnóstico más temprano de cáncer de páncreas exocrino en la familia, lo que ocurra antes) para las personas con cáncer de páncreas exocrino en ≥1 parientes de primer o segundo grado del mismo lado de la familia.
	Cáncer de próstata	- Considerar el cribado del cáncer de próstata a partir de los 40 años a intervalos anuales en lugar de cada dos años.
	Cáncer cerebral	- Se debe educar a los pacientes sobre los signos y síntomas del cáncer neurológico y sobre la importancia de notificar rápidamente los síntomas anormales a sus médicos.
	Cáncer de piel	- Considerar la posibilidad de un examen cutáneo cada 1-2 años con un profesional sanitario experto en la identificación de manifestaciones cutáneas asociadas al Síndrome de Lynch.

Anexo V: Consentimiento informado para la realización de estudios genéticos

JUNTA DE ANDALUCIA CONSEJERÍA DE SALUD

FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO

Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de fecha 6 de agosto) por la que se dictan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al procedimiento de Consentimiento Informado.

CENTRO SANITARIO	SERVICIO DE
Complejo Hosp. Univ. Granada	UGC Laboratorios - Unidad de Genética

1 DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA (*)

Este documento sirve para que usted, o quien lo represente, dé su consentimiento para esta intervención. Eso significa que nos autoriza a realizarla.
Puede usted retirar este consentimiento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a hacerse la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.

Díganos si tiene alguna duda o necesita más información. Le atenderemos con mucho gusto.

(*) Indicar el nombre del procedimiento/intervención a realizar; si es posible, además del nombre técnico que siempre debe figurar, puede tratar de expresarlo con un nombre más sencillo.

1.1 LO QUE USTED DEBE SABER:

EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE:
Consiste en realizar una toma de muestra, por lo general, de sangre, entre 3 y 10 mL, para disponer del ADN necesario para poder realizar el estudio genético que le han solicitado en relación a su proceso o enfermedad. Pueden utilizarse en ocasiones otras muestras biológicas (tejidos, saliva, etc,)

CÓMO SE REALIZA:
La extracción se realiza en la mayoria de las ocasiones por venopunción, en la cara anterior del antebrazo, sin embargo, según las circunstancias, podría tomarse de otras regiones anatómicas que tuvieran mejor disponibilidad.
Otras muestras biológicas se obtendrán por procedimientos específicos y siempre por personal autorizado y competente.

QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:
Una ligera molestia por la punción de la aguja hipodérmica y en algunas ocasiones un pequeño hematoma que se reabsorbe sin más repercusión. En algunos casos puede aparecer sensación de mareo por lo que se recomienda estar sentado o tumbado durante la extracción.

EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:
Entiendo que, puedo estar afectado o ser portador de un transtorno genético/metabólico hereditario y que el diagnóstico se basa en los resultados de pruebas de laboratorio, las cuales se realizan a partir de muestras biológicas del paciente y de otros familiares cuando sea necesario. El propósito principal de las pruebas es ayudar en el diagnóstico, pronóstico o tratamiento de esta enfermedad. En el análisis genético, las técnicas

1

JUNTA DE ANDALUCIA CONSEJERÍA DE SALUD

actuales no permiten la detección del 100% de las mutaciones por lo que puede no conseguirse un diagnóstico completo en todos los casos. Se le ha explicado a el/la paciente conceptos acerca de la enfermedad objeto de estudio, mutaciones genéticas responsables, genes relacionados, probabilidad de herencia, riesgo asociado a portadores, y posibilidad de medidas de diagnóstico precoz y prevención si las hubiere.
OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:

001530

2

JUNTA DE ANDALUCIA CONSEJERÍA DE SALUD

CENTRO SANITARIO Complejo Hosp. Univ. Granada	SERVICIO DE UGC Laboratorios - Unidad de Genética

QUÉ RIESGOS TIENE:

Cualquier actuación médica tiene riesgos. La mayor parte de las veces los riesgos no se materializan, y la intervención no produce daños o efectos secundarios indeseables. Pero a veces no es así. Por eso es importante que usted conozca los riesgos que pueden aparecer en este proceso o intervención.

Ligero dolor, relacionado con el pinchazo. Pequeño hematoma en la zona de venopunción

- LOS MÁS FRECUENTES:

- LOS MÁS GRAVES:

- LOS DERIVADOS DE SUS PROBLEMAS DE SALUD:

La pequeña cantidad de sangre, líquido biológico o tejido necesaria no supone ninguna repercusión en su estado de salud.

SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:

OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional):

001530

OTRAS CUESTIONES PARA LAS QUE LE PEDIMOS SU CONSENTIMIENTO:

- A veces, durante la intervención, se producen hallazgos imprevistos. Pueden obligar a tener que modificar la forma de hacer la intervención y utilizar variantes de la misma no contempladas inicialmente.

- A veces es necesario tomar muestras biológicas para estudiar mejor su caso. Pueden ser conservadas y utilizadas posteriormente para realizar investigaciones relacionadas con la enfermedad que usted padece. No se usaran directamente para fines comerciales. Si fueran a ser utilizadas para otros fines distintos se le pediría posteriormente el consentimiento expreso para ello. Si no da su consentimiento para ser utilizadas en investigación, las muestras se destruirán una vez dejen de ser útiles para documentar su caso, según las normas del centro. En cualquier caso, se protegerá adecuadamente la confidencialidad en todo momento.

- También puede hacer falta tomar imágenes, como fotos o videos. Sirven para documentar mejor el caso. También pueden usarse para fines docentes de difusión del conocimiento científico. En cualquier caso serán usadas si usted da su autorización. Su identidad siempre será preservada de forma confidencial.

3

JUNTA DE ANDALUCIA CONSEJERÍA DE SALUD

CENTRO SANITARIO Complejo Hosp. Univ. Granada	SERVICIO DE UGC Laboratorios - Unidad de Genética
1.2 IMÁGENES EXPLICATIVAS	
En este espacio podrán insertarse con carácter opcional imágenes explicativas, esquemas anatómicos, pictogramas etc. que faciliten y permitan explicar de manera más sencilla la información al paciente.	

001530

4

JUNTA DE ANDALUCIA CONSEJERÍA DE SALUD

CENTRO SANITARIO Complejo Hosp. Univ. Granada	SERVICIO DE UGC Laboratorios - Unidad de Genética

2	CONSENTIMIENTO INFORMADO
2.1	DATOS DEL/DE LA PACIENTE Y DE SU REPRESENTANTE (sólo en caso de incapacidad del/de la paciente)

APELLIDOS Y NOMBRE, DEL PACIENTE	DNI / NIE
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL/DE LA REPRESENTANTE LEGAL	DNI / NIE

2.2	PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO		
APELLIDOS Y NOMBRE		FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE		FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE		FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE		FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE		FECHA	FIRMA

2.3	CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña , manifiesto que estoy conforme con la intervención que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.

☐ SI ☐ NO Autorizo a que se realicen las actuaciones oportunas, incluyendo modificaciones en la forma de realizar la intervención, para evitar los peligros o daños potenciales para la vida o la salud, que pudieran surgir en el curso de la intervención.

☐ SI ☐ NO Autorizo la conservación y utilización posterior de mis muestras biológicas para investigación relacionada directamente con la enfermedad que padezco.

☐ SI ☐ NO Autorizo que, en caso de que mis muestras biológicas vayan a ser utilizadas en otras investigaciones diferentes, los investigadores se pongan en contacto conmigo para solicitarme consentimiento.

☐ SI ☐NO Autorizo la utilización de imágenes con fines docentes o de difusión del conocimiento científico.

NOTA: Márquese con una cruz.

En a de de

EL/LA PACIENTE EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)

Fdo.: Fdo.:

001530

5

JUNTA DE ANDALUCIA CONSEJERÍA DE SALUD

CENTRO SANITARIO Complejo Hosp. Univ. Granada	SERVICIO DE UGC Laboratorios - Unidad de Genética

2.4	RECHAZO DE LA INTERVENCIÓN

Yo, D/Dña. , no autorizo a la realización de esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En a de de

EL/LA PACIENTE EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)

Fdo.: Fdo.:

2.5	REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña , de forma libre y consciente he decidido retirar el consentimiento para esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En a de de

EL/LA PACIENTE EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)

Fdo.: Fdo.:

001530

6

Anexo VI: Dictamen favorable Comité de Ética de Investigación Biomédica Andalucía

JUNTA DE ANDALUCIA

CONSEJERÍA DE SALUD Y FAMILIAS

DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

D/Dª: ANTONIO SALMERON GARCIA como secretario/a del CEIM/CEI Provincial de Granada

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor/investigador (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO:	ESTUDIO DE LAS VARIANTES GENÉTICAS ASOCIADAS AL CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO MEDIANTE NEXT GENERATION SEQUENCING ,(CMOH NGS)
Protocolo, Versión:	Versión 2019-2020
HIP, Versión:	
CI, Versión:	Definitiva

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en Granada a 30/06/2021

D/Dª. ANTONIO SALMERON GARCIA, como Secretario/a del CEIM/CEI Provincial de Granada

Código Seguro De Verificación:	36b1d7d0b2d61bc2236fb44a81885b541dd44ae2	Fecha	30/06/2021
Normativa	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por	Antonio Salmeron Garcia		
Url De Verificación	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldaetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.ifaca/code/36b1d7d0b2d61bc2236fb44a81885b541dd44ae2	Página	1/3

CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 29/06/2021 y recogida en acta 6/21 la propuesta del/de la Promotor/a (No hay promotor/a asociado/a), para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO:	ESTUDIO DE LAS VARIANTES GENÉTICAS ASOCIADAS AL CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO MEDIANTE NEXT GENERATION SEQUENCING ,(CMOH NGS)
Protocolo, Versión:	Versión 2019-2020
HIP, Versión:	
CI, Versión:	Definitiva

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

Presidente/a

D/Dª. AURORA BUENO CAVANILLAS

Vicepresidente/a

D/Dª. Paloma Muñoz de Rueda

Secretario/a

D/Dª. ANTONIO SALMERON GARCIA

Vocales

D/Dª. PATRICIA GALVEZ MARTIN
D/Dª. Francisco Manuel Luque Martínez
D/Dª. Jesús Martínez Taplas
D/Dª. Juan Ramón Delgado Pérez
D/Dª. Berta Gorlat Sánchez
D/Dª. José Darío Sánchez López
D/Dª. Sonia Dominguez Almendros
D/Dª. Juan Mozas Moreno
D/Dª. José Uberos Fernández
D/Dª. SALVADOR ARIAS SANTIAGO
D/Dª. MARIA ESPERANZA DEL POZO GAVILAN
D/Dª. Francisco OValle Ravassa
D/Dª. Esther Espinola Garcia
D/Dª. ANTONIO MORALES ROMERO
D/Dª. MARTA CUADROS CELORRIO
D/Dª. MARIA ANGELES GARCIA LIROLA
D/Dª. Encarnación Martínez García
D/Dª. FRANCISCO LUIS MANZANO MANZANO
D/Dª. MIGUEL LÓPEZ GUADALUPE
D/Dª. JUAN ROMERO COTELO
D/Dª. MANUEL MARTIN DIAZ
D/Dª. ANGEL COBOS VARGAS
D/Dª. LUIS MIGUEL DOMENECH GIL
D/Dª. MARIA DEL ROCIO MORON ROMERO
D/Dª. Luis Javier Martínez González
D/Dª. JESÚS CARDONA CONTRERAS
D/Dª. Pilar Guijosa Campos
D/Dª. MARIANA FÁTIMA FERNÁNDEZ CABRERA
D/Dª. Miguel Álvarez López
D/Dª. RAFAEL MARIN JIMENEZ
D/Dª. JOAQUINA MARTINEZ GALAN

Código Seguro De Verificación:	36b1d7d0b2d61bc2236fb44a81885b541dd44ae2	Fecha	30/06/2021
Normativa	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por	Antonio Salmeron Garcia		
Url De Verificación	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/36b1d7d0b2d61bc2236fb44a81885b541dd44ae2	Página	2/3

D/Dª. MARÍA DOLORES GARCÍA VALVERDE
D/Dª. ESTHER MOLINA RIVAS
D/Dª. ANTONIO JUAN PÉREZ FERNÁNDEZ
D/Dª. ANTONIO JIMENEZ PACHECO

Que dicho Comité, está constituido y actua de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.

Lo que firmo en Granada a 30/06/2021

Código Seguro De Verificación:	36b1d7d0b2d61bc2236fb44a81885b541dd44aa2	Fecha	30/06/2021
Normativa	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
Firmado Por	Antonio Salmeron Garcia		
Url De Verificación	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/36b1d7d0b2d61bc2236fb44a81885b541dd44aa2	Página	3/3

Anexo VII: Plantilla para solicitud de estudio genético de genes *BRCA1* y *BRCA2*

PETICIÓN DE ESTUDIO GENÉTICO (BRCA) EN MUJERES DE ALTO RIESGO PARA CÁNCER DE MAMA Y/O OVARIO.

Identificación (pegar etiqueta identificativa)

Nombre	
Historia clínica	
Teléfonos de contacto de la paciente	

Remitida por:

- □ Consulta de Mama
- □ Unidad Oncología Ginecológica
- □ Consulta Ginecología

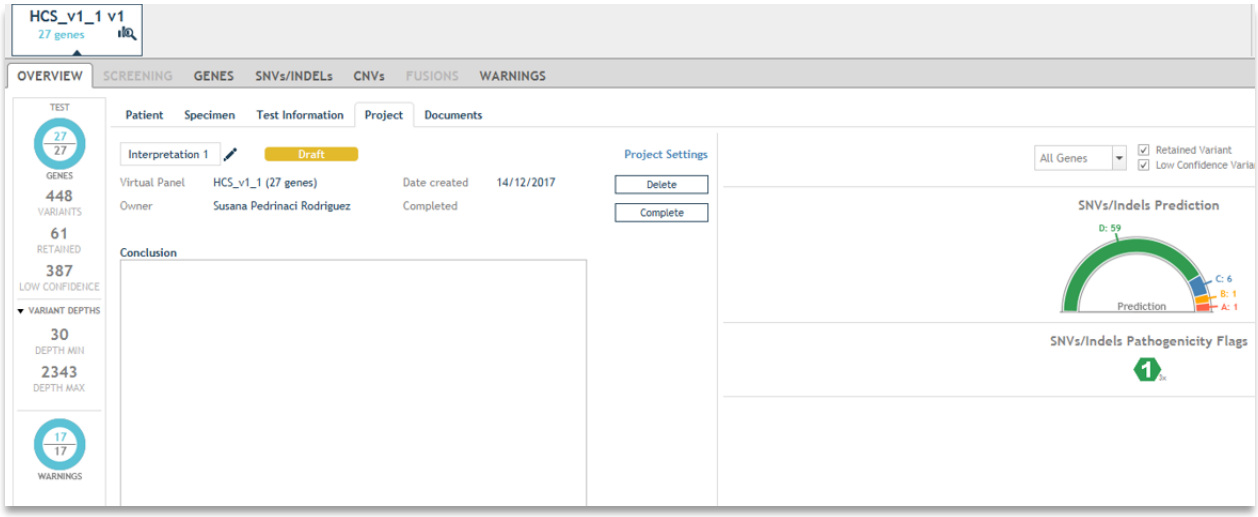
Dra/Dr: Fecha:

HISTORIA PERSONAL
□ Cáncer mama antes de los 35 años □ Cáncer bilateral antes de los 50 años □ Cáncer de mama y ovario
UN FAMILIAR
□ Cáncer de mama bilateral en familiar 1º grado. □ Cáncer de mama y ovario en la misma persona a cualquier edad (1º o 2º grado). □ Cáncer de mama en varón.
DOS FAMILIARES
□ Dos familiares de primer grado con cáncer de mama (uno de ellos diagnosticado antes de los 50 años). □ Cáncer de mama y ovario en dos familiares de primer o segundo grado.
TRES FAMILIARES
□ Tres o más familiares de primer o segundo grado con cáncer de mama a cualquier edad.

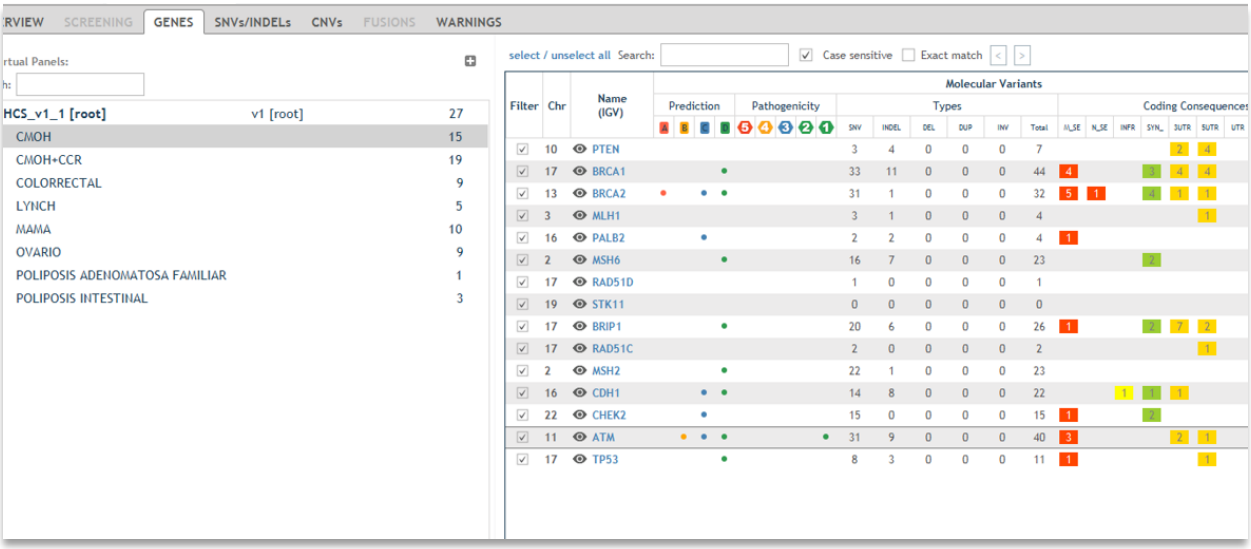
Entregar en sala de extracciones.

Anexo VIII: Pasos a seguir para la anotación de variantes en el programa SophiaDDM

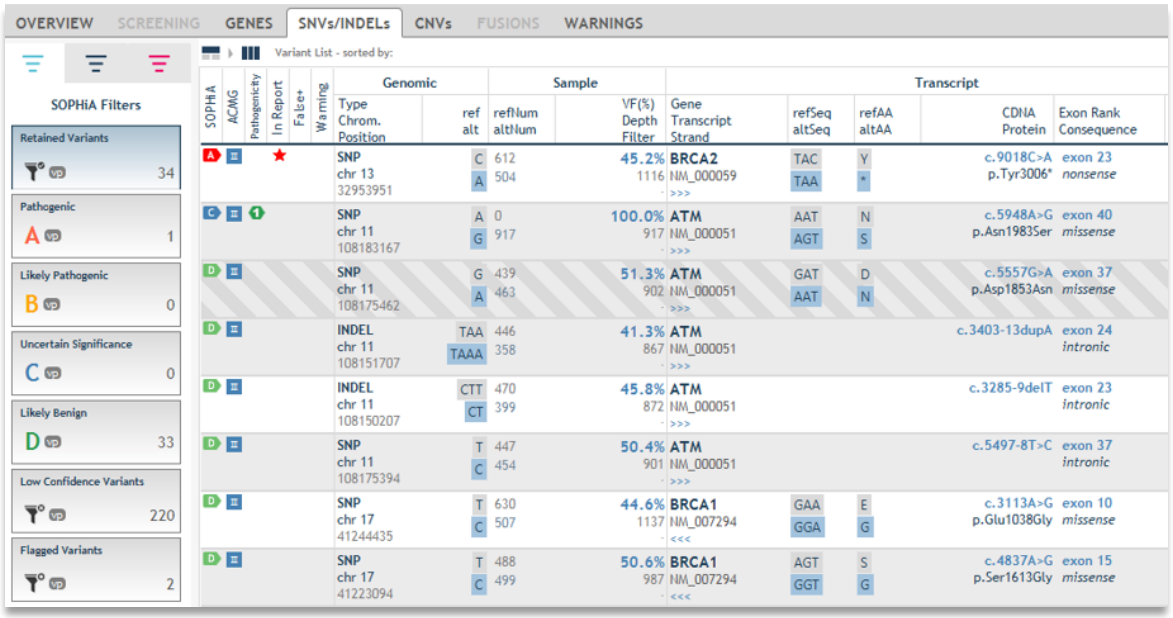
En una muestra concreta, la primera pantalla se corresponde con un resumen de las SNV identificadas según la clasificación de la aplicación (la categoría A = VP, la B = VPP, la C = VUS, la D = VB/VPB).



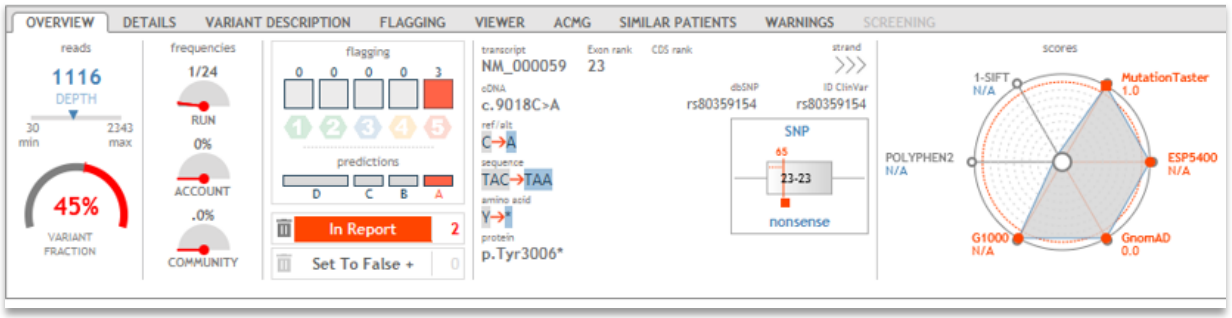
Descripción de los genes analizados, en este punto se pueden seleccionar los paneles virtuales realizados previamente para analizar un síndrome concreto.



Información detallada de cada variante dentro de sus respectivas categorías, indicando cuáles han sido los criterios para realizar la clasificación genética.

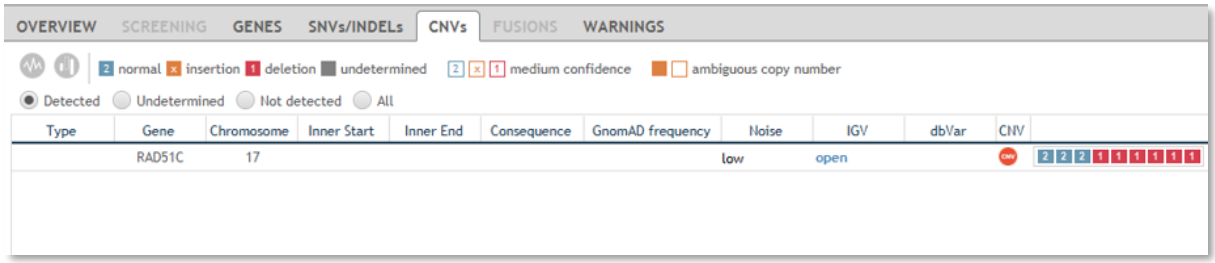


Información adicional sobre una variante concreta, en este caso se ha seleccionado la variante c.9018C>A en *BRCA2* clasificada como patogénica por Sophia DDM.

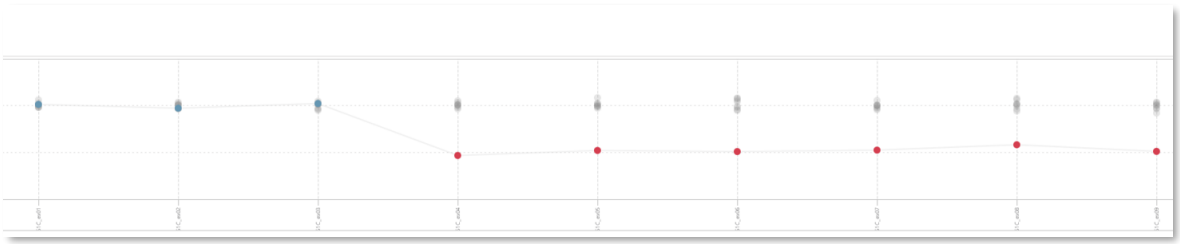


Acceso directo para consultar diferentes bases de datos.

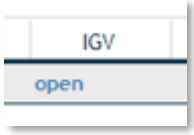
Para la identificación de CNV, hay que seleccionar la pestaña CNVs donde se indica el gen afectado y su localización cromosómica. En color azul aparecen los exones normales, en rojo aparecen los exones delecionados y en naranja las inserciones.



En la parte inferior aparece otra imagen donde también se puede observar los exones delecionados (o duplicados).



Además, la aplicación Sophia DDM permite el acceso directo a la página web IGV (Integrative Genomics Viewer) que permite visualizar la zona del genoma que presenta la CNV.



Anexo IX: Resultados obtenidos a partir de estudios previos en España

Autor/localización geográfica	Año publicación	N de casos índice	Genes analizados	VP/VPP (%)
Molina-Zayas et al./ Granada (239)	2022	438	*BRCA1/BRCA2*	10.7%
		386	Panel NGS	13.2%
Vega et al./ Galicia	2002	30	*BRCA1/BRCA2*	26.7%
Infante et al. /Castilla y León (196)	2006	309	*BRCA1/BRCA2*	12.6%
Beristain et al./ País Vasco (199)	2007	236	*BRCA1/BRCA2*	6.8%
Miramar et al./ Aragón (200)	2008	60	*BRCA1/BRCA2*	33.3%
Blay et al./ Asturias	2013	256	*BRCA1/BRCA2*	23%
Macías-Montero (206)	2016	140	*BRCA1/ BRCA2*	24.3%
Gabaldó et al. /Murcia (194)	2017	592	*BRCA1/ BRCA2*	18.1%
Pajares et al./ Málaga (202)	2018	562	*BRCA1/ BRCA2*	21.4%
Manzanares et al./ Ciudad Real (205)	2018	111	*BRCA1/ BRCA2*	21.6%
Ruiz de Sabando et al./ Navarra (195)	2019	518	*BRCA1/ BRCA2*	16.2%
Bonache et al./ Barcelona (145)	2018	192	Panel NGS (no *BRCA1/ BRCA2*)	8%
Rodríguez-Balada et al./ Barcelona (240)	2020	77	Panel NGS (no *BRCA1/ BRCA2*)	11.7%
Fonfría et al./ C. Valenciana (215)	2021	95	Panel NGS (no *BRCA1/ BRCA2*)	13.5%
Adamo et al./ Barcelona (207)	2019	451	Panel NGS	12.7%
Ramírez Calvo et al./C. Valenciana (208)	2019	49	Panel NGS	18%

8 BIBLIOGRAFÍA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin [Internet]. 2021 May 1 [cited 2024 Feb 5];71(3):209–49. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21660

2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. Int J Cancer [Internet]. 2021 Aug 15 [cited 2024 Feb 5];149(4):778–89. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.33588

3. USCS Data Visualizations - CDC [Internet]. Cancer Statistics At a Glance. 2020 [cited 2024 Jan 13]. Available from: https://gis.cdc.gov/Cancer/USCS/#/AtAGlance/

4. Siegel Mph RL, Miller KD, Sandeep N, Mbbs W, Ahmedin |, Dvm J, et al. Cancer statistics, 2023. CA Cancer J Clin [Internet]. 2023 Jan 1 [cited 2024 Jan 13];73(1):17–48. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21763

5. Cancer burden statistics and trends across Europe | ECIS [Internet]. 2020 [cited 2024 Jan 13]. Available from: https://ecis.jrc.ec.europa.eu/

6. Las cifras del cáncer en España 2024 | SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica [Internet]. [cited 2024 Jan 30]. Available from: https://seom.org/ejercicio-contra-el-cancer/las-cifras-del-cancer-en-espana-2024

7. Incidencia de cáncer en la provincia de Granada | Registro de Cáncer de Granada [Internet]. [cited 2023 Nov 14]. Available from: https://www.registrocancergranada.es/estadisticas/incidencia-del-cancer-en-la-provincia-de-granada/

8. Elias KM, Guo J, Bast RC. Early Detection of Ovarian Cancer. Hematol Oncol Clin North Am [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2024 Apr 13];32(6):903–14. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30390764/

9. Menon U, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Singh N, Ryan A, Karpinskyj C, et al. Ovarian cancer population screening and mortality after long-term follow-up in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. Lancet (London, England) [Internet]. 2021 Jun 5 [cited 2024 Apr

13];397(10290):2182–93. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33991479/

10. Webb PM, Jordan SJ. Epidemiology of epithelial ovarian cancer. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017 May 1;41:3–14.

11. Huang J, Chan WC, Ngai CH, Lok V, Zhang L, Lucero-Prisno DE, et al. Worldwide Burden, Risk Factors, and Temporal Trends of Ovarian Cancer: A Global Study. Cancers (Basel) [Internet]. 2022 May 1 [cited 2024 Feb 22];14(9):2230. Available from: /pmc/articles/PMC9102475/

12. Cáncer de Ovario: Qué es, Tipos y Fases | Asociación Española Contra el Cáncer [Internet]. [cited 2023 Nov 18]. Available from: https://www.contraelcancer.es/es/todo-sobre-cancer/tipos-cancer/cancer-ovario

13. Petrova D, Pérez-Gómez B, Pollán M, Sánchez M-J. Implications of the COVID-19 pandemic for cancer in Spain. Med Clínica (English Ed [Internet]. 2020 Sep 25 [cited 2024 Jan 13];155(6):263–6. Available from: https://www.elsevier.es/en-revista-medicina-clinica-english-edition--462-articulo-implications-covid-19-pandemic-for-cancer-S2387020620303752

14. Han X, Yang NN, Nogueira L, Jiang C, Wagle NS, Zhao J, et al. Changes in cancer diagnoses and stage distribution during the first year of the COVID-19 pandemic in the USA: a cross-sectional nationwide assessment. Lancet Oncol [Internet]. 2023 Aug 1 [cited 2024 Jan 13];24(8):855–67. Available from: http://www.thelancet.com/article/S1470204523002930/fulltext

15. Simon A, Robb K. Breast Cancer. Cambridge Handb Psychol Heal Med Second Ed [Internet]. 2022 Sep 26 [cited 2023 Nov 8];577–80. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482286/

16. Sellers AH. Manual for Staging of Cancer, 1977. Can Med Assoc J [Internet]. 1978 Nov 11 [cited 2024 Apr 7];119(10):1179. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1818535/

17. Clark JR, Low H, Gupta R. Cancer staging for rare cancers: should the American Joint Committee on Cancer have a separate staging classification for external auditory canal cancer? Ann Transl Med [Internet]. 2019 Mar [cited 2024 Apr 7];7(Suppl 1):S12–S12. Available from: https://atm.amegroups.org/article/view/23662/html

18. American Joint Committee on Cancer prognostic factors consensus conference - PubMed [Internet]. [cited 2024 Apr 7]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10590388/

19. Hortobagyi GN, Edge SB, Giuliano A. New and Important Changes in the TNM Staging System for Breast Cancer. Am Soc Clin Oncol Educ B [Internet]. 2018 May 23 [cited 2024 Apr 7];(38):457–67. Available from: https://ascopubs.org/doi/10.1200/EDBK_201313

20. Amin MB, Frederick ;, Greene L, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. CA Cancer J Clin [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2024 Apr 7];67(2):93–9. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21388

21. Cserni G, Chmielik E, Cserni B, Tot T. The new TNM-based staging of breast cancer. Virchows Arch [Internet]. 2018 May 1 [cited 2024 Apr 7];472(5):697–703. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s00428-018-2301-9

22. Trayes KP, Cokenakes SEH. Breast Cancer Treatment. Am Fam Physician [Internet]. 2021 Aug [cited 2024 Apr 7];104(2):171–8. Available from: https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2021/0800/p171.html

23. Sawaki M, Shien T, Iwata H. TNM classification of malignant tumors (Breast Cancer Study Group). Jpn J Clin Oncol [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2024 Apr 7];49(3):228–31. Available from: https://dx.doi.org/10.1093/jjco/hyy182

24. Li X, Yang J, Peng L, Sahin AA, Huo L, Ward KC, et al. Triple-negative breast cancer has worse overall survival and cause-specific survival than non-triple-negative breast cancer. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2024 Apr 7];161(2):279–87. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-016-4059-6

25. Choi JDW, Hughes TMD, Marx G, Boyages J, Rutovitz J, Hasovits C, et al. The Utility of the Oncotype DX Test for Breast Cancer Patients in an Australian Multidisciplinary Setting. Breast J [Internet]. 2022 [cited 2024 Apr 7];2022:1199245. Available from: /pmc/articles/PMC9187289/

26. Nielsen TO, Leung SCY, Rimm DL, Dodson A, Acs B, Badve S, et al. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki67 in Breast

Cancer Working Group. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2023 Nov 9];113(7):808. Available from: /pmc/articles/PMC8487652/

27. Perou CM, Sørile T, Eisen MB, Van De Rijn M, Jeffrey SS, Ress CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nat 2000 4066797 [Internet]. 2000 Aug 17 [cited 2024 Apr 13];406(6797):747–52. Available from: https://www.nature.com/articles/35021093

28. Orrantia-Borunda E, Anchondo-Nuñez P, Acuña-Aguilar LE, Gómez-Valles FO, Ramírez-Valdespino CA. Subtypes of Breast Cancer. Breast Cancer [Internet]. 2022 Aug 6 [cited 2023 Nov 9];31–42. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK583808/

29. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart MJ, et al. Editor's choice: Tailoring therapies—improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. Ann Oncol [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2024 May 20];26(8):1533. Available from: /pmc/articles/PMC4511219/

30. Aibar L, Santalla A, López-Criado MS, González-Pérez I, Calderón MA, Gallo JL, et al. Clasificación radiológica y manejo de las lesiones mamarias. Clin Invest Ginecol Obstet [Internet]. 2011 Jul 1 [cited 2023 Nov 9];38(4):141–9. Available from: https://www.elsevier.es/es-revista-clinica-e-investigacion-ginecologia-obstetricia-7-articulo-clasificacion-radiologica-manejo-lesiones-mamarias-S0210573X10001231

31. Berg WA, Campassi C, Langenberg P, Sexton MJ. Breast Imaging Reporting and Data System. Am J Roentgenol [Internet]. 2022 Aug 29 [cited 2023 Nov 9];174(6):1769–77. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459169/

32. Hussein H, Abbas E, Keshavarzi S, Fazelzad R, Bukhanov K, Kulkarni S, et al. Supplemental Breast Cancer Screening in Women with Dense Breasts and Negative Mammography: A Systematic Review and Meta-Analysis. Radiology [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2024 Apr 13];306(3). Available from: https://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.221785

33. Molina-Barceló A, Moreno Salas J, Peiró-Pérez R, Arroyo G, Ibáñez Cabanell J, Vanaclocha Espí M, et al. DESIGUALDADES DE ACCESO A LOS PROGRAMAS DE CRIBADO DEL CÁNCER EN ESPAÑA Y CÓMO REDUCIRLAS: DATOS DE 2013 Y 2020. [cited 2024 Apr 4]; Available from: www.mscbs.es/resp

34. Europe's Beating Cancer Plan [Internet]. [cited 2024 Apr 4]. Available from: https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_22_702

35. Fabian CJ, Kimler BF, Mayo MS, Khan SA. Breast-tissue sampling for risk assessment and prevention. Endocr Relat Cancer [Internet]. 2005 Jun 1 [cited 2024 Apr 13];12(2):185–213. Available from: https://erc.bioscientifica.com/view/journals/erc/12/2/0120185.xml

36. Seale KN, Tkaczuk KHR. Circulating Biomarkers in Breast Cancer. Clin Breast Cancer [Internet]. 2022 Apr 1 [cited 2024 Apr 13];22(3):e319–31. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34756687/

37. Serrano MJ, Garrido-Navas MC, Mochon JJD, Cristofanilli M, Gil-Bazo I, Pauwels P, et al. Precision prevention and cancer interception: The new challenges of liquid biopsy. Cancer Discov [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2024 May 12];10(11):1635–44. Available from: /cancerdiscovery/article/10/11/1635/2405/Precision-Prevention-and-Cancer-Interception-The

38. Serrano MJ, Rolfo C, Expósito-Hernandez J, Garrido-Navas C, Lopez-Hidalgo J, Denninghoff V. Circulating tumor cells in cancer-risk populations as a cancer interception tool. Int Rev Cell Mol Biol. 2023 Jan 1;381:113–29.

39. Castellani F, Nganga EC, Dumas L, Banerjee S, Rockall AG. Imaging in the pre-operative staging of ovarian cancer. Abdom Radiol [Internet]. 2019 Feb 15 [cited 2024 Apr 13];44(2):685–96. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s00261-018-1779-6

40. Berek JS, Renz M, Kehoe S, Kumar L, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: 2021 update. Int J Gynaecol Obstet [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Apr 13];155(Suppl 1):61. Available from: /pmc/articles/PMC9298325/

41. Kandukuri SR, Rao J. FIGO 2013 staging system for ovarian cancer: What is new in comparison to the 1988 staging system? Curr Opin Obstet Gynecol [Internet]. 2015 Feb 13 [cited 2024 Apr 13];27(1):48–52. Available from: https://journals.lww.com/co-obgyn/fulltext/2015/02000/figo_2013_staging_system_for_ovarian_cancer__what.9.aspx

42. Gaona-Luviano P, Adriana L, Medina-Gaona, Magaña-Pérez K. Epidemiology of ovarian

cancer. Chinese Clin Oncol [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2024 Apr 13];9(4):47–47. Available from: https://cco.amegroups.org/article/view/45941/html

43. Kossaï M, Leary A, Scoazec JY, Genestie C. Ovarian Cancer: A Heterogeneous Disease. Pathobiology [Internet]. 2018 May 3 [cited 2024 Apr 13];85(1–2):41–9. Available from: https://dx.doi.org/10.1159/000479006

44. Sertic M, Devins KM, Oliva E, Lee SI, Kilcoyne A. Sex Cord-Stromal Tumors of the Ovary. Radiol Clin North Am [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Apr 13];61(4):595–608. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37169426/

45. Arora T, Mullangi S, Lekkala MR. Ovarian Cancer. StatPearls [Internet]. 2023 Jun 18 [cited 2023 Nov 18]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567760/

46. Ain Q ul, Muhammad S, Hai Y, Peiling L. The role of urine and serum biomarkers in the early detection of ovarian epithelial tumours. J Obstet Gynaecol [Internet]. 2022 [cited 2024 Apr 13];42(8):3441–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36757337/

47. Gupta KK, Gupta VK, Naumann RW. Ovarian cancer: screening and future directions. Int J Gynecol Cancer [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2024 Apr 13];29(1):195–200. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30640704/

48. Kamal R, Hamed S, Mansour S, Mounir Y, Sallam SA. Ovarian cancer screening-ultrasound; impact on ovarian cancer mortality. Br J Radiol [Internet]. 2018 [cited 2024 Apr 13];91(1090). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30102555/

49. Dochez V, Caillon H, Vaucel E, Dimet J, Winer N, Ducarme G. Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review. J Ovarian Res [Internet]. 2019 Mar 27 [cited 2024 Apr 13];12(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30917847/

50. Feeney L, Harley IJ, McCluggage WG, Mullan PB, Beirne JP. Liquid biopsy in ovarian cancer: Catching the silent killer before it strikes. World J Clin Oncol [Internet]. 2020 Nov 24 [cited 2024 Apr 13];11(11):868–89. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33312883/

51. Della Corte L, Russo G, Pepe F, Pisapia P, Dell'Aquila M, Malapelle U, et al. The role of liquid biopsy in epithelial ovarian cancer: State of the art. Crit Rev Oncol Hematol. 2024

Feb 1;194:104263.

52. Buckley DN, Lewinger JP, Gooden G, Spillman M, Neuman M, Guo XM, et al. OvaPrint—A Cell-free DNA Methylation Liquid Biopsy for the Risk Assessment of High-grade Serous Ovarian Cancer. Clin Cancer Res [Internet]. 2023 Dec 12 [cited 2024 May 12];29(24):5196. Available from: /pmc/articles/PMC10722131/

53. Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world [Internet]. Vol. 11, Breast Cancer: Targets and Therapy. Dove Medical Press Ltd.; 2019 [cited 2020 Dec 23]. p. 151–64. Available from: /pmc/articles/PMC6462164/?report=abstract

54. Whelan E, Kalliala I, Semertzidou A, Raglan O, Bowden S, Kechagias K, et al. Risk Factors for Ovarian Cancer: An Umbrella Review of the Literature. Cancers (Basel) [Internet]. 2022 Jun 1 [cited 2024 Apr 14];14(11):2708. Available from: /pmc/articles/PMC9179274/

55. Rooth C. Ovarian cancer: risk factors, treatment and management. https://doi.org/1012968/bjon201322Sup17S23 [Internet]. 2014 Jun 30 [cited 2024 Apr 14];22(17 SUPPL.). Available from: https://www.magonlinelibrary.com/doi/10.12968/bjon.2013.22.Sup17.S23

56. DOUBENI CA, DOUBENI ARB, MYERS AE. Diagnosis and Management of Ovarian Cancer. Am Fam Physician [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2024 Apr 14];93(11):937–44. Available from: https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2016/0601/p937.html

57. Wu MH, Chou YC, Yu JC, Yu CP, Wu CC, Chu CM, et al. Hormonal and Body-Size Factors in Relation to Breast Cancer Risk: A Prospective Study of 11,889 Women in a Low-Incidence Area. Ann Epidemiol. 2006 Mar 1;16(3):223–9.

58. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Friedenreich CM, Calle EE, et al. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. Lancet Oncol [Internet]. 2012 Nov 1 [cited 2024 Apr 14];13(11):1141. Available from: /pmc/articles/PMC3488186/

59. Gong TT, Wu QJ, Vogtmann E, Lin B, Wang YL. Age at menarche and risk of ovarian cancer: A meta-analysis of epidemiological studies. Int J Cancer [Internet]. 2013 Jun 15

[cited 2024 Apr 21];132(12):2894–900. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.27952

60. La Vecchia C. Ovarian cancer: Epidemiology and risk factors. Eur J Cancer Prev [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2024 Feb 2];26(1):55–62. Available from: https://journals.lww.com/eurjcancerprev/fulltext/2017/01000/ovarian_cancer__epidemiology_and_risk_factors.7.aspx

61. V B, K G, C H, K M, G R, R P. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant meta-analysis of 52 epidemiological studies. Lancet (London, England) [Internet]. 2015 May 9 [cited 2024 Apr 14];385(9980):1835–42. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25684585/

62. Ma H, Henderson KD, Sullivan-Halley J, Duan L, Marshall SF, Ursin G, et al. Pregnancy-related factors and the risk of breast carcinoma in situ and invasive breast cancer among postmenopausal women in the California Teachers Study cohort. Breast Cancer Res [Internet]. 2010 Jun 18 [cited 2024 Apr 17];12(3):R35. Available from: /pmc/articles/PMC2917030/

63. Negri E, Franceschi S, Tzonou A, Booth M, La Vecchia C, Parazzini F, et al. Pooled analysis of 3 european case-control studies: I. Reproductive factors and risk of epithelial ovarian cancer. Int J Cancer [Internet]. 1991 Aug 19 [cited 2024 Apr 21];49(1):50–6. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.2910490110

64. Koushik A, Grundy A, Abrahamowicz M, Arseneau J, Gilbert L, Gotlieb WH, et al. Hormonal and reproductive factors and the risk of ovarian cancer. Cancer Causes Control [Internet]. 2017 May 1 [cited 2024 Apr 21];28(5):393–403. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s10552-016-0848-9

65. Cibula D, Gompel A, Mueck AO, La Vecchia C, Hannaford PC, Skouby SO, et al. Hormonal contraception and risk of cancer. Hum Reprod Update [Internet]. 2010 Nov 1 [cited 2024 Apr 14];16(6):631–50. Available from: https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmq022

66. Beral V, Doll R, Hermon C, Peto R, Reeves G, Brinton L, et al. Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23 257 women with ovarian cancer and 87 303 controls. Lancet [Internet]. 2008 Jan 26 [cited 2024 Apr 20];371(9609):303–14. Available from:

http://www.thelancet.com/article/S0140673608601671/fulltext

67. Calle EE, Heath CW, Coates RJ, Liff JM, Franceschi S, Talamini R, et al. Breast cancer and hormone replacement therapy: Collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Lancet [Internet]. 1997 Oct 11 [cited 2024 Apr 17];350(9084):1047–59. Available from: http://www.thelancet.com/article/S0140673697082330/fulltext

68. Banks E, Beral V, Bull D, Reeves G, Austoker J, English R, et al. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. Lancet [Internet]. 2003 Aug 9 [cited 2024 Apr 17];362(9382):419–27. Available from: http://www.thelancet.com/article/S0140673603140652/fulltext

69. Beral V. Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. Lancet [Internet]. 2007 May 19 [cited 2024 Apr 20];369(9574):1703–10. Available from: http://www.thelancet.com/article/S0140673607605340/fulltext

70. Astley SM, Harkness EF, Sergeant JC, Warwick J, Stavrinos P, Warren R, et al. A comparison of five methods of measuring mammographic density: a case-control study. Breast Cancer Res [Internet]. 2018 Feb 5 [cited 2024 Apr 17];20(1). Available from: /pmc/articles/PMC5799922/

71. Jeffers AM, Sieh W, Lipson JA, Rothstein JH, McGuire V, Whittemore AS, et al. Breast Cancer Risk and Mammographic Density Assessed with Semiautomated and Fully Automated Methods and BI-RADS. Radiology [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2024 Apr 17];282(2):348. Available from: /pmc/articles/PMC5283867/

72. Beral V, Bull D, Doll R, Peto R, Reeves G. Breast cancer and breastfeeding: Collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50 302 women with breast cancer and 96 973 women without the disease. Lancet [Internet]. 2002 Jul 20 [cited 2024 Apr 20];360(9328):187–95. Available from: http://www.thelancet.com/article/S0140673602094540/fulltext

73. Islami F, Liu Y, Jemal A, Zhou J, Weiderpass E, Colditz G, et al. Breastfeeding and breast cancer risk by receptor status—a systematic review and meta-analysis. Ann Oncol. 2015 Dec 1;26(12):2398–407.

74. Babic A, Sasamoto N, Rosner BA, Tworoger SS, Jordan SJ, Risch HA, et al. Association Between Breastfeeding and Ovarian Cancer Risk. JAMA Oncol [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 Apr 17];6(6). Available from: /pmc/articles/PMC7118668/

75. Picon-Ruiz M, Morata-Tarifa C, Valle-Goffin JJ, Friedman ER, Slingerland JM. Obesity and adverse breast cancer risk and outcome: Mechanistic insights and strategies for intervention. Ca [Internet]. 2017 Sep [cited 2024 Apr 18];67(5):378. Available from: /pmc/articles/PMC5591063/

76. Lee K, Kruper L, Dieli-Conwright CM, Mortimer JE. The Impact of Obesity on Breast Cancer Diagnosis and Treatment. Curr Oncol Rep [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Apr 18];21(5). Available from: /pmc/articles/PMC6437123/

77. Yarmolinsky J, Relton CL, Lophatananon A, Muir K, Menon U, Gentry-Maharaj A, et al. Appraising the role of previously reported risk factors in epithelial ovarian cancer risk: A Mendelian randomization analysis. PLOS Med [Internet]. 2019 [cited 2024 Apr 20];16(8):e1002893. Available from: https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1002893

78. Macacu A, Autier P, Boniol M, Boyle P. Active and passive smoking and risk of breast cancer: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat. 2015 Nov 1;154(2):213–24.

79. Scala M, Bosetti C, Bagnardi V, Possenti I, Specchia C, Gallus S, et al. Dose-response Relationships Between Cigarette Smoking and Breast Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. J Epidemiol [Internet]. 2023 [cited 2024 Apr 18];33(12):640. Available from: /pmc/articles/PMC10635814/

80. Faber MT, Kjær SK, Dehlendorff C, Chang-Claude J, Andersen KK, Høgdall E, et al. Cigarette smoking and risk of ovarian cancer: A pooled analysis of 21 case-control studies. Cancer Causes Control [Internet]. 2013 May 2 [cited 2024 Apr 21];24(5):989–1004. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s10552-013-0174-4

81. Wentzensen N, Poole EM, Trabert B, White E, Arslan AA, Patel A V., et al. Ovarian cancer risk factors by histologic subtype: An analysis from the Ovarian Cancer Cohort Consortium. J Clin Oncol [Internet]. 2016 Aug 20 [cited 2024 Apr 21];34(24):2888–98. Available from: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2016.66.8178

82. Berkey CS, Tamimi RM, Rosner B, Frazier AL, Colditz GA. Young Women with Family

History of Breast Cancer and their Risk Factors for Benign Breast Disease. Cancer [Internet]. 2012 Jun 6 [cited 2024 Apr 18];118(11):2796. Available from: /pmc/articles/PMC3291792/

83. Miller ER, Wilson C, Chapman J, Flight I, Nguyen AM, Fletcher C, et al. Connecting the dots between breast cancer, obesity and alcohol consumption in middle-aged women: ecological and case control studies. BMC Public Health [Internet]. 2018 Apr 6 [cited 2024 Apr 18];18(1). Available from: /pmc/articles/PMC5889566/

84. Rota M, Pasquali E, Scotti L, Pelucchi C, Tramacere I, Islami F, et al. Alcohol drinking and epithelial ovarian cancer risk. A systematic review and meta-analysis. Gynecol Oncol [Internet]. 2012 Jun 1 [cited 2024 Apr 21];125(3):758–63. Available from: http://www.gynecologiconcology-online.net/article/S0090825812002259/fulltext

85. Beral V, Bull D, Doll R, Peto R, Reeves G, Skegg D, et al. Familial breast cancer: Collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58 209 women with breast cancer and 101 986 women without the disease. Lancet [Internet]. 2001 Oct 27 [cited 2024 Apr 21];358(9291):1389–99. Available from: http://www.thelancet.com/article/S0140673601065242/fulltext

86. Stratton JF, Pharoah P, Smith SK, Easton D, Ponder BAJ. A systematic review and meta-analysis of family history and risk of ovarian cancer. BJOG An Int J Obstet Gynaecol [Internet]. 1998 May 1 [cited 2024 Apr 21];105(5):493–9. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1471-0528.1998.tb10148.x

87. Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, Phillips KA, Mooij TM, Roos-Blom MJ, et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. JAMA [Internet]. 2017 Jun 20 [cited 2024 Apr 21];317(23):2402–16. Available from: https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2632503

88. Graña Suárez D, Graña B, Vega A, Cueva J. CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO: CONSEJO GENÉTICO, SEGUIMIENTO Y REDUCCIÓN DEL RIESGO. PSICOONCOLOGÍA. 2005;2:229–42.

89. Wendt C, Margolin S. Identifying breast cancer susceptibility genes – a review of the genetic background in familial breast cancer. Acta Oncol (Madr) [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2024 Apr 27];58(2):135–46. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0284186X.2018.1529428

90. Ghose A, Bolina A, Mahajan I, Raza SA, Clarke M, Pal A, et al. Hereditary Ovarian Cancer: Towards a Cost-Effective Prevention Strategy. Int J Environ Res Public Health [Internet]. 2022 Oct 1 [cited 2024 Apr 27];19(19):12057. Available from: /pmc/articles/PMC9565024/

91. Mavaddat N, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. J Natl Cancer Inst [Internet]. 2013 Jun 5 [cited 2022 Feb 6];105(11):812–22. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23628597/

92. Graeser MK, Engel C, Rhiem K, Gadzicki D, Bick U, Kast K, et al. Contralateral breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. J Clin Oncol [Internet]. 2009 Dec 10 [cited 2023 Nov 12];27(35):5887–92. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19858402/

93. Van Den Broek AJ, Van't Veer LJ, Hooning MJ, Cornelissen S, Broeks A, Rutgers EJ, et al. Impact of Age at Primary Breast Cancer on Contralateral Breast Cancer Risk in BRCA1/2 Mutation Carriers. J Clin Oncol [Internet]. 2016 Feb 10 [cited 2023 Nov 12];34(5):409–18. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26700119/

94. Rizzolo P, Silvestri V, Tommasi S, Pinto R, Danza K, Falchetti M, et al. Male breast cancer: genetics, epigenetics, and ethical aspects. Ann Oncol [Internet]. 2013 Nov 1 [cited 2024 Apr 27];24(SUPPL.B):viii75–82. Available from: http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753419315996/fulltext

95. Petrucelli N, Daly MB, Pal T. BRCA1- and BRCA2-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer [Internet]. GeneReviews®. University of Washington, Seattle; [cited 2018 May 5]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301425

96. Rubinstein W. Hereditary breast cancer in Jews. Fam Cancer [Internet]. 2004 [cited 2023 Nov 12];3(3–4):249–57. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15516849/

97. Li S, Silvestri V, Leslie G, Rebbeck TR, Neuhausen SL, Hopper JL, et al. Cancer Risks Associated With BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. J Clin Oncol [Internet]. 2022 May 10 [cited 2024 Apr 27];40(14):1529–41. Available from: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.21.02112

98. Rosen MN, Goodwin RA, Vickers MM. BRCA mutated pancreatic cancer: A change is coming. World J Gastroenterol [Internet]. 2021 May 5 [cited 2023 Nov 12];27(17):1943. Available from: /pmc/articles/PMC8108028/

99. Oh M, Alkhushaym N, Fallatah S, Althagafi A, Aljadeed R, Alsowaida Y, et al. The association of BRCA1 and BRCA2 mutations with prostate cancer risk, frequency, and mortality: A meta-analysis. Prostate [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2023 Nov 12];79(8):880–95. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30900310/

100. Nyberg T, Frost D, Barrowdale D, Evans DG, Bancroft E, Adlard J, et al. Prostate Cancer Risks for Male BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: A Prospective Cohort Study. Eur Urol [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2023 Nov 12];77(1):24. Available from: /pmc/articles/PMC6926480/

101. Johansson PA, Nathan V, Bourke LM, Palmer JM, Zhang T, Symmons J, et al. Evaluation of the contribution of germline variants in BRCA1 and BRCA2 to uveal and cutaneous melanoma. Melanoma Res [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2023 Nov 12];29(5):483. Available from: /pmc/articles/PMC6716616/

102. Gumaste P V., Penn LA, Cymerman RM, Kirchhoff T, Polsky D, McLellan B. Skin cancer risk in BRCA1/2 mutation carriers. Br J Dermatol [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2023 Nov 12];172(6):1498. Available from: /pmc/articles/PMC5785081/

103. Balmaña J, Digiovanni L, Gaddam P, Walsh MF, Joseph V, Stadler ZK, et al. Conflicting Interpretation of Genetic Variants and Cancer Risk by Commercial Laboratories as Assessed by the Prospective Registry of Multiplex Testing. J Clin Oncol [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2023 Nov 11];34(34):4071–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27621404/

104. Roberts ME, Jackson SA, Susswein LR, Zeinomar N, Ma X, Marshall ML, et al. MSH6 and PMS2 germ-line pathogenic variants implicated in Lynch syndrome are associated with breast cancer. Genet Med [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2023 Nov 14];20(10):1167–74. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29345684/

105. Knipper K, Fuchs HF, Alakus H, Bruns CJ, Schmidt T. Hereditary Diffuse Gastric Cancer. Chir [Internet]. 2018 Mar 22 [cited 2023 Nov 19];94(5):400–5. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1139/

106. Yang X, Leslie G, Doroszuk A, Schneider S, Allen J, Decker B, et al. Cancer Risks Associated With Germline PALB2 Pathogenic Variants: An International Study of 524 Families. J Clin Oncol [Internet]. 2020 Mar 3 [cited 2023 Nov 14];38(7):674. Available from: /pmc/articles/PMC7049229/

107. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pylkäs K, Roberts J, et al. Breast-Cancer Risk in Families with Mutations in PALB2. N Engl J Med [Internet]. 2014 Aug 8 [cited 2024 Apr 27];371(6):497. Available from: /pmc/articles/PMC4157599/

108. Tischkowitz M, Balmaña J, Foulkes WD, James P, Ngeow J, Schmutzler R, et al. Management of individuals with germline variants in PALB2: a clinical practice resource of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med. 2021 May;1–8.

109. Yehia L, Eng C. PTEN Hamartoma Tumor Syndrome. Intest Polyposis Syndr Diagnosis Manag [Internet]. 2021 Feb 11 [cited 2023 Nov 17];87–100. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1488/

110. Schneider K, Zelley K, Nichols KE, Garber J. Li-Fraumeni Syndrome. Adam M, Ardinger H, Pagon R, Wallace S, Bean L, Stephens K, et al., editors. GeneReviews(®) [Internet]. 2019 Nov 21 [cited 2023 Nov 17]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1311/

111. Schon K, Tischkowitz M. Clinical implications of germline mutations in breast cancer: TP53. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2024 Apr 27];167(2):417–23. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29039119/

112. Kast K, Krause M, Schuler M, Friedrich K, Thamm B, Bier A, et al. Late onset Li-Fraumeni Syndrome with bilateral breast cancer and other malignancies: case report and review of the literature. BMC Cancer [Internet]. 2012 Jun 6 [cited 2024 Apr 28];12(1):1–7. Available from: https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-12-217

113. Hu J, Cao J, Topatana W, Juengpanich S, Li S, Zhang B, et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. J Hematol Oncol [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2023 Nov 17];14(1):157. Available from: /pmc/articles/PMC8480024/

114. McGarrity TJ, Amos CI, Baker MJ. Peutz-Jeghers Syndrome. Adam M, Ardinger H, Pagon

R, Wallace S, Bean L, Stephens K, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. 2021 Sep 2 [cited 2023 Nov 19]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1266/

115. Veenhuis S, Os N van, Weemaes C, Kamsteeg E-J, Willemsen M. Ataxia-Telangiectasia. GeneReviews® [Internet]. 2023 Oct 5 [cited 2023 Nov 19]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26468/

116. Goldgar DE, Healey S, Dowty JG, Da Silva L, Chen X, Spurdle AB, et al. Rare variants in the ATM gene and risk of breast cancer. Breast Cancer Res [Internet]. 2011 Jul 25 [cited 2023 Nov 20];13(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21787400/

117. Suszynska M, Ratajska M, Kozlowski P. BRIP1, RAD51C, and RAD51D mutations are associated with high susceptibility to ovarian cancer: mutation prevalence and precise risk estimates based on a pooled analysis of ~30,000 cases. J Ovarian Res [Internet]. 2020 May 2 [cited 2023 Nov 20];13(1). Available from: /pmc/articles/PMC7196220/

118. Cybulski C, Wokołorczyk D, Jakubowska A, Huzarski T, Byrski T, Gronwald J, et al. Risk of Breast Cancer in Women With a CHEK2 Mutation With and Without a Family History of Breast Cancer. https://doi.org/101200/JCO2010340778 [Internet]. 2011 Aug 29 [cited 2024 Apr 28];29(28):3747–52. Available from: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2010.34.0778

119. Nurmi A, Muranen TA, Pelttari LM, Kiiski JI, Heikkinen T, Lehto S, et al. Recurrent moderate-risk mutations in Finnish breast and ovarian cancer patients. Int J Cancer [Internet]. 2019 Nov 15 [cited 2024 Apr 28];145(10):2692–700. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.32309

120. Schmidt MK, Hogervorst F, Van Hien R, Cornelissen S, Broeks A, Adank MA, et al. Age- And tumor subtype-specific breast cancer risk estimates for CHEK2∗1100delC Carriers. J Clin Oncol [Internet]. 2016 Aug 10 [cited 2024 Apr 28];34(23):2750–60. Available from: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2016.66.5844

121. Akdeniz D, Schmidt MK, Seynaeve CM, McCool D, Giardiello D, van den Broek AJ, et al. Risk factors for metachronous contralateral breast cancer: A systematic review and meta-analysis. The Breast [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2024 Apr 28];44:1–14. Available from: http://www.thebreastonline.com/article/S0960977618303229/fulltext

122. Hanson H, Astiazaran-Symonds E, Amendola LM, Balmaña J, Foulkes WD, James P, et al.

Management of individuals with germline pathogenic/likely pathogenic variants in CHEK2: A clinical practice resource of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med [Internet]. 2023 Oct 1 [cited 2024 Apr 28];25(10):100870. Available from: http://www.gimjournal.org/article/S1098360023008833/fulltext

123. Kohlmann W, Gruber SB. Lynch Syndrome. GeneReviews(®) [Internet]. 2021 Feb 4 [cited 2023 Nov 21]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1211/

124. Yang X, Song H, Leslie G, Engel C, Hahnen E, Auber B, et al. Ovarian and Breast Cancer Risks Associated With Pathogenic Variants in RAD51C and RAD51D. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2023 Nov 21];112(12):1242. Available from: /pmc/articles/PMC7735771/

125. Woodward ER, Lalloo F, Forde C, Pugh S, Burghel GJ, Schlecht H, et al. Germline testing of BRCA1, BRCA2, PALB2 and CHEK2 c.1100delC in 1514 triple negative familial and isolated breast cancers from a single centre, with extended testing of ATM, RAD51C and RAD51D in over 400. J Med Genet [Internet]. 2024 Apr 1 [cited 2024 Apr 28];61(4):385–91. Available from: https://jmg.bmj.com/content/61/4/385

126. Bonnet E, Haddad V, Quesada S, Baffert KA, Lardy-Cléaud A, Treilleux I, et al. Alterations in Homologous Recombination-Related Genes and Distinct Platinum Response in Metastatic Triple-Negative Breast Cancers: A Subgroup Analysis of the ProfiLER-01 Trial. J Pers Med 2022, Vol 12, Page 1595 [Internet]. 2022 Sep 27 [cited 2024 Apr 28];12(10):1595. Available from: https://www.mdpi.com/2075-4426/12/10/1595/htm

127. Tsaousis GN, Papadopoulou E, Apessos A, Agiannitopoulos K, Pepe G, Kampouri S, et al. Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: Novel and multiple pathogenic mutations. BMC Cancer [Internet]. 2019 Jun 3 [cited 2024 May 5];19(1):1–19. Available from: https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-019-5756-4

128. Yegnasubramanian S. Explanatory Chapter: Next Generation Sequencing. Methods Enzymol [Internet]. 2013 [cited 2024 May 5];529:201. Available from: /pmc/articles/PMC3978176/

129. Pareek CS, Smoczynski R, Tretyn A. Sequencing technologies and genome sequencing. J Appl Genet [Internet]. 2011 Nov [cited 2024 May 5];52(4):413. Available from:

/pmc/articles/PMC3189340/

130. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 1977 [cited 2024 May 5];74(12):5463. Available from: /pmc/articles/PMC431765/?report=abstract

131. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science [Internet]. 1994 Oct 7 [cited 2024 Jan 20];266(5182):66–71. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7545954/

132. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. Nature [Internet]. 1995 Dec 28 [cited 2024 Jan 20];378(6559):789–92. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8524414/

133. Laplace-Marieze V, Presneau N, Sylvain V, Kwiatkowski F, Lortholary A, Hardouin A, et al. Systematic sequencing of the BRCA-1 coding region for germ-line mutation detection in 70 French high-risk families. Int J Oncol [Internet]. 1999 May 1 [cited 2024 May 12];14(5):971–7. Available from: http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.14.5.971/abstract

134. Yazici H, Bitisik O, Akisik E, Cabioglu N, Saip P, Muslumanoglu M, et al. BRCA1 and BRCA2 mutations in Turkish breast/ovarian families and young breast cancer patients. Br J Cancer [Internet]. 2000 [cited 2024 May 12];83(6):737. Available from: /pmc/articles/PMC2363542/?report=abstract

135. De Cario R, Kura A, Suraci S, Magi A, Volta A, Marcucci R, et al. Sanger Validation of High-Throughput Sequencing in Genetic Diagnosis: Still the Best Practice? Front Genet [Internet]. 2020 Dec 2 [cited 2024 May 5];11. Available from: /pmc/articles/PMC7738558/

136. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. Nucleic Acids Res [Internet]. 2002 Jun 6 [cited 2024 May 12];30(12):e57. Available from: /pmc/articles/PMC117299/

137. Hogervorst FBL, Nederlof PM, Gille JJP, McElgunn CJ, Grippeling M, Pruntel R, et al. Large genomic deletions and duplications in the BRCA1 gene identified by a novel

quantitative method - PubMed [Internet]. Cancer research. 2003 [cited 2024 May 12]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12670888/

138. Ewald IP, Ribeiro PLI, Palmero EI, Cossio SL, Giugliani R, Ashton-Prolla P. Genomic rearrangements in BRCA1 and BRCA2: A literature review. Genet Mol Biol [Internet]. 2009 [cited 2024 May 12];32(3):437. Available from: /pmc/articles/PMC3036053/

139. LaDuca H, Polley EC, Yussuf A, Hoang L, Gutierrez S, Hart SN, et al. A clinical guide to hereditary cancer panel testing: evaluation of gene-specific cancer associations and sensitivity of genetic testing criteria in a cohort of 165,000 high-risk patients. Genet Med. 2020 Feb;22(2):407–15.

140. Petrucelli N, Daly MB, Pal T. BRCA1- and BRCA2-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer. GeneReviews® [Internet]. 2023 Sep 21 [cited 2024 May 12]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1247/

141. Qin D. Next-generation sequencing and its clinical application. Cancer Biol Med [Internet]. 2019 [cited 2024 May 25];16(1):4. Available from: /pmc/articles/PMC6528456/

142. Castéra L, Krieger S, Rousselin A, Legros A, Baumann JJ, Bruet O, et al. Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes. Eur J Hum Genet. 2014 Nov 5;22(11):1305–13.

143. Sinilnikova OM, Dondon MG, Eon-Marchais S, Damiola F, Barjhoux L, Marcou M, et al. GENESIS: a French national resource to study the missing heritability of breast cancer. BMC Cancer [Internet]. 2016 Jan 12 [cited 2024 May 5];16(1):23. Available from: /pmc/articles/PMC4711059/

144. Girard E, Eon-Marchais S, Olaso R, Renault AL, Damiola F, Dondon MG, et al. Familial breast cancer and DNA repair genes: Insights into known and novel susceptibility genes from the GENESIS study, and implications for multigene panel testing. Int J Cancer [Internet]. 2019 Apr 4 [cited 2024 May 5];144(8):1962. Available from: /pmc/articles/PMC6587727/

145. Bonache S, Esteban I, Moles-Fernández A, Tenés A, Duran-Lozano L, Montalban G, et al. Multigene panel testing beyond BRCA1/2 in breast/ovarian cancer Spanish families and

clinical actionability of findings. J Cancer Res Clin Oncol [Internet]. 2018 Dec 10 [cited 2019 Apr 8];144(12):2495–513. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30306255

146. Variant of Uncertain Significance (VUS) [Internet]. [cited 2024 May 6]. Available from: https://www.genome.gov/genetics-glossary/Variant-of-Uncertain-Significance-VUS

147. Burke W, Parens E, Chung WK, Berger SM, Appelbaum PS. The challenge of genetic variants of uncertain clinical significance: A narrative review. Ann Intern Med [Internet]. 2022 Jul 1 [cited 2024 May 6];175(7):994. Available from: /pmc/articles/PMC10555957/

148. Kurian AW, Hare EE, Mills MA, Kingham KE, McPherson L, Whittemore AS, et al. Clinical Evaluation of a Multiple-Gene Sequencing Panel for Hereditary Cancer Risk Assessment. J Clin Oncol [Internet]. 2014 Jul 7 [cited 2024 May 7];32(19):2001. Available from: /pmc/articles/PMC4067941/

149. Samadder NJ, Riegert-Johnson D, Boardman L, Rhodes D, Wick M, Okuno S, et al. Comparison of Universal Genetic Testing vs Guideline-Directed Targeted Testing for Patients With Hereditary Cancer Syndrome. JAMA Oncol [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2024 May 6];7(2):1. Available from: /pmc/articles/PMC7600058/

150. Lindor NM, Guidugli L, Wang X, Vallée MP, Monteiro ANA, Tavtigian S, et al. A review of a multifactorial probability based model for classification of BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance (VUS). Hum Mutat [Internet]. 2012 Jan [cited 2024 May 7];33(1):8. Available from: /pmc/articles/PMC3242438/

151. Easton DF, Deffenbaugh AM, Pruss D, Frye C, Wenstrup RJ, Allen-Brady K, et al. A Systematic Genetic Assessment of 1,433 Sequence Variants of Unknown Clinical Significance in the BRCA1 and BRCA2 Breast Cancer–Predisposition Genes. Am J Hum Genet [Internet]. 2007 [cited 2024 May 7];81(5):873. Available from: /pmc/articles/PMC2265654/

152. Monteiro AN, Bouwman P, Kousholt AN, Eccles DiM, Millot GA, Masson JY, et al. Variants of uncertain clinical significance in hereditary breast and ovarian cancer genes: best practices in functional analysis for clinical annotation. J Med Genet [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2024 May 7];57(8):509. Available from: /pmc/articles/PMC7390672/

153. Rosado-Jiménez L, Mestre-Terkemani Y, García-Aliaga Á, Marín-Vera M, Macías-

Cerrolaza JA, Sarabia-Meseguer MD, et al. Variantes genéticas recurrentes y priorización de variantes de significado clínico desconocido asociadas al síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario en familias de la Región de Murcia. Adv Lab Med [Internet]. 2023 Sep 1 [cited 2024 May 7];4(3):288. Available from: /pmc/articles/PMC10701495/

154. Burke W, Parens E, Chung WK, Berger SM, Appelbaum PS. The challenge of genetic variants of uncertain clinical significance: A narrative review. Ann Intern Med [Internet]. 2022 Jul 1 [cited 2024 May 7];175(7):994. Available from: /pmc/articles/PMC10555957/

155. Singer CF, Balmaña J, Bürki N, Delaloge S, Filieri ME, Gerdes AM, et al. Genetic counselling and testing of susceptibility genes for therapeutic decision-making in breast cancer—an European consensus statement and expert recommendations. Eur J Cancer. 2019 Jan 1;106:54–60.

156. Ley 11/2007, de 26 de noviembre, reguladora del consejo genético, de protección de los derechos de las personas que se sometan a análisis genéticos y de los bancos de ADN humano en Andalucía. [Internet]. [cited 2018 Feb 16]. Available from: http://www.juntadeandalucia.es/boja/2007/246/2

157. Cabrera E, Blanco I, Yagüe C, Zabalegui A. The impact of genetic counseling on knowledge and emotional responses in Spanish population with family history of breast cancer. Patient Educ Couns. 2010 Mar 1;78(3):382–8.

158. Petracci E, Decarli A, Schairer C, Pfeiffer RM, Pee D, Masala G, et al. Risk Factor Modification and Projections of Absolute Breast Cancer Risk. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2011 Jul 7 [cited 2024 Apr 28];103(13):1037. Available from: /pmc/articles/PMC3131219/

159. Starek-Świechowicz B, Budziszewska B, Starek A. Endogenous estrogens—breast cancer and chemoprevention. Pharmacol Reports [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Feb 24];73(6):1497. Available from: /pmc/articles/PMC8599256/

160. Cuzick J, Investigators F the IBCIS (IBIS) I, Forbes JF, Investigators F the IBCIS (IBIS) I, Sestak I, Investigators F the IBCIS (IBIS) I, et al. Long-Term Results of Tamoxifen Prophylaxis for Breast Cancer—96-Month Follow-up of the Randomized IBIS-I Trial. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2007 Feb 21 [cited 2024 May 1];99(4):272–82. Available from: https://dx.doi.org/10.1093/jnci/djk049

161. Cuzick J, Sestak I, Bonanni B, Costantino JP, Cummings S, DeCensi A, et al. Selective oestrogen receptor modulators in prevention of breast cancer: An updated meta-analysis of individual participant data. Lancet [Internet]. 2013 May 25 [cited 2024 May 1];381(9880):1827–34. Available from: http://www.thelancet.com/article/S0140673613601403/fulltext

162. Goss PE, Ingle JN, Alés-Martínez JE, Cheung AM, Chlebowski RT, Wactawski-Wende J, et al. Exemestane for Breast-Cancer Prevention in Postmenopausal Women. N Engl J Med [Internet]. 2011 Jun 23 [cited 2024 May 1];364(25):2381–91. Available from: https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1103507

163. Owens DK, Davidson KW, Krist AH, Barry MJ, Cabana M, Caughey AB, et al. Medication use to reduce risk of breast cancer: Us preventive services task force recommendation statement. JAMA - J Am Med Assoc. 2019 Sep 3;322(9):857–67.

164. Trabert B, Poole EM, White E, Visvanathan K, Adami HO, Anderson GL, et al. Analgesic Use and Ovarian Cancer Risk: An Analysis in the Ovarian Cancer Cohort Consortium. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2024 May 1];111(2):137. Available from: /pmc/articles/PMC6376910/

165. Trabert B, Ness RB, Lo-Ciganic WH, Murphy MA, Goode EL, Poole EM, et al. Aspirin, Nonaspirin Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug, and Acetaminophen Use and Risk of Invasive Epithelial Ovarian Cancer: A Pooled Analysis in the Ovarian Cancer Association Consortium. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2014 [cited 2024 May 1];106(2). Available from: /pmc/articles/PMC3924755/

166. Hartmann LC, Sellers TA, Schaid DJ, Frank TS, Soderberg CL, Sitta DL, et al. Efficacy of Bilateral Prophylactic Mastectomy in BRCA1 and BRCA2 Gene Mutation Carriers. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2001 Nov 7 [cited 2024 May 1];93(21):1633–7. Available from: https://dx.doi.org/10.1093/jnci/93.21.1633

167. Heemskerk-Gerritsen BAM, Jager A, Koppert LB, Obdeijn AIM, Collée M, Meijers-Heijboer HEJ, et al. Survival after bilateral risk-reducing mastectomy in healthy BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2024 May 1];177(3):723. Available from: /pmc/articles/PMC6745043/

168. Gail MH, Jatoi I. Tools for Contralateral Prophylactic Mastectomy Decision Making. J Clin Oncol [Internet]. 2022 Nov 1 [cited 2024 May 1];40(31):3653–9. Available from:

https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.21.02782

169. Carbine NE, Lostumbo L, Wallace J, Ko H. Risk-reducing mastectomy for the prevention of primary breast cancer. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2018 Apr 5 [cited 2024 May 1];2018(4). Available from: /pmc/articles/PMC6494635/

170. Marmolejo DH, Zheng Wong MY, Bajalica-Lagercrantz S, Tischkowitz M, Balmaña J, Patócs AB, et al. Overview of hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) guidelines across Europe. Eur J Med Genet. 2021 Dec 1;64(12):104350.

171. Bertozzi S, Londero AP, Xholli A, Azioni G, Di Vora R, Paudice M, et al. Risk-Reducing Breast and Gynecological Surgery for BRCA Mutation Carriers: A Narrative Review. J Clin Med [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2023 Nov 30];12(4):1422. Available from: /pmc/articles/PMC9967164/

172. Tucker PE, Cohen PA. Review Article: Sexuality and Risk-Reducing Salpingo-oophorectomy. Int J Gynecol Cancer [Internet]. 2017 May 1 [cited 2024 May 1];27(4):847–52. Available from: https://ijgc.bmj.com/content/27/4/847

173. González-Santiago S, Ramón y Cajal T, Aguirre E, Alés-Martínez JE, Andrés R, Balmaña J, et al. SEOM clinical guidelines in hereditary breast and ovarian cancer (2019). Clin Transl Oncol [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2024 Apr 2];22(2):193–200. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s12094-019-02262-0

174. Ulrich ND, Raja NS, Moravek MB. A review of fertility preservation in patients with breast cancer. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2022 Jun 1;82:60–8.

175. Guía de Reproducción Humana Asistida del SSPA. Actualización enero 2022 | Servicio Andaluz de Salud [Internet]. [cited 2024 Mar 23]. Available from: https://www.sspa.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/publicaciones/guia-de-reproduccion-humana-asistida-del-sspa-actualizacion-enero-2022

176. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RML. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. Nat 1990 3446268 [Internet]. 1990 [cited 2024 Mar 23];344(6268):768–70. Available from: https://www.nature.com/articles/344768a0

177. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, De Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. Hum Reprod [Internet].

2017 Sep 1 [cited 2024 Mar 23];32(9):1786–801. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29117321/

178. Coonen E, Rubio C, Christopikou Di, DImitriadou E, Gontar J, Goossens V, et al. ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of structural and numerical chromosomal aberrations. Hum Reprod Open [Internet]. 2020 Jun 6 [cited 2024 Mar 23];2020(3):1–20. Available from: /pmc/articles/PMC7257111/

179. De Rycke M, Berckmoes V. Preimplantation Genetic Testing for Monogenic Disorders. Genes (Basel) [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2024 Mar 23];11(8):1–15. Available from: /pmc/articles/PMC7463885/

180. Barrett F, Shaw J, Besser AG, Grifo JA, Blakemore JK. Preimplantation genetic testing for monogenic disorders: clinical experience with BRCA1 and BRCA2 from 2010-2021. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2023 Nov 1 [cited 2024 Mar 23];40(11):2705–13. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37691027/

181. Fernández RM, Peciña A, Sánchez B, Lozano-Arana MD, García-Lozano JC, Pérez-Garrido R, et al. Experience of Preimplantation Genetic Diagnosis for Hemophilia at the University Hospital Virgen Del Rocío in Spain: Technical and Clinical Overview. Biomed Res Int [Internet]. 2015 [cited 2024 Mar 23];2015. Available from: /pmc/articles/PMC4519537/

182. Velasco L. Nacen en Granada dos bebés libres de enfermedades hereditarias con una técnica de diagnóstico genético [Internet]. Ideal. 2023 [cited 2024 May 20]. Available from: https://www.ideal.es/granada/nacen-granada-dos-bebes-libres-enfermedades-hereditarias-20230827234918-nt.html?ref=https%3A%2F%2Fwww.ideal.es%2Fgranada%2Fnacen-granada-dos-bebes-libres-enfermedades-hereditarias-20230827234918-nt.html

183. Griguolo G, Dieci MV, Miglietta F, Guarneri V, Conte PF. Olaparib for advanced breast cancer. https://doi-org.bvsspa.idm.oclc.org/102217/fon-2019-0689 [Internet]. 2020 Apr 6 [cited 2023 Nov 13];16(12):717–32. Available from: https://www-futuremedicine-com.bvsspa.idm.oclc.org/doi/10.2217/fon-2019-0689

184. Robson M, Im S-A, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation . N Engl J Med [Internet]. 2017 Aug 10 [cited 2023 Nov 13];377(6):523–33. Available from:

https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa1706450

185. Setton J, Zinda M, Riaz N, Durocher D, Zimmermann M, Koehler M, et al. Synthetic Lethality in Cancer Therapeutics: The Next Generation. Cancer Discov [Internet]. 2021 Jul 1 [cited 2024 Jun 18];11(7):1626. Available from: /pmc/articles/PMC8295179/

186. Geyer CE, Garber JE, Gelber RD, Yothers G, Taboada M, Ross L, et al. Overall survival in the OlympiA phase III trial of adjuvant olaparib in patients with germline pathogenic variants in BRCA1/2 and high-risk, early breast cancer. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 May 5];33(12):1250. Available from: /pmc/articles/PMC10207856/

187. Banerjee S, Moore KN, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A, et al. Maintenance olaparib for patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer and a BRCA mutation (SOLO1/GOG 3004): 5-year follow-up of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet Oncol [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 May 5];22(12):1721–31. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34715071/

188. Ray-Coquard I, Leary A, Pignata S, Cropet C, González-Martín A, Marth C, et al. Olaparib plus bevacizumab first-line maintenance in ovarian cancer: final overall survival results from the PAOLA-1/ENGOT-ov25 trial. Ann Oncol [Internet]. 2023 Aug 1 [cited 2024 May 5];34(8):681–92. Available from: http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753423006865/fulltext

189. Lynparza | European Medicines Agency [Internet]. [cited 2023 Nov 13]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/lynparza

190. Ministerio de Sanidad - Profesionales de la Salud - Buscador situación financiación medicamentos [Internet]. [cited 2024 May 25]. Available from: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/medicamentos.do?metodo=verDetalle&cn=721826

191. Graña B, Lastra E, Llort G, Brunet J, Isla D. SEOM clinical guidelines for hereditary cancer. Clin Transl Oncol. 2011 Aug;13(8):580–6.

192. Llort G, Chirivella I, Morales R, Serrano R, Sanchez AB, Teulé A, et al. SEOM clinical guidelines in Hereditary Breast and ovarian cancer. Clin Transl Oncol [Internet]. 2015 Dec 15 [cited 2019 Apr 6];17(12):956–61. Available from:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26669313

193. De Juan Jiménez I, García Casado Z, Palanca Suela S, Esteban Cardeñosa E, López Guerrero JA, Segura Huerta Á, et al. Novel and recurrent BRCA1/BRCA2 mutations in early onset and familial breast and ovarian cancer detected in the Program of Genetic Counseling in Cancer of Valencian Community (eastern Spain). Relationship of family phenotypes with mutation prevalence. Fam Cancer [Internet]. 2013 Dec [cited 2022 Feb 6];12(4):767–77. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23479189/

194. Gabaldó Barrios X, Sarabia Meseguer MD, Marín Vera M, Sánchez Bermúdez AI, Macías Cerrolaza JA, Sánchez Henarejos P, et al. Molecular characterization and clinical interpretation of BRCA1/BRCA2 variants in families from Murcia (south-eastern Spain) with hereditary breast and ovarian cancer: clinical-pathological features in BRCA carriers and non-carriers. Fam Cancer [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2022 Feb 6];16(4):477–89. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28477318/

195. Ruiz De Sabando A, Urrutia Lafuente E, García-Amigot F, Alonso Sánchez A, Morales Garofalo L, Moreno S, et al. Genetic and clinical characterization of BRCA-associated hereditary breast and ovarian cancer in Navarra (Spain). BMC Cancer [Internet]. 2019 Nov 27 [cited 2022 Feb 6];19(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31771539/

196. Infante M, Durán M, Esteban-Cardeñosa E, Miner C, Velasco E. High proportion of novel mutations of BRCA1 and BRCA2 in breast/ovarian cancer patients from Castilla-León (central Spain). J Hum Genet 2006 517 [Internet]. 2006 Jul 1 [cited 2022 Feb 6];51(7):611–7. Available from: https://www.nature.com/articles/jhg200692

197. Díez O, Osorio A, Durán M, Martinez-Ferrandis JI, De la Hoya M, Salazar R, et al. Analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in Spanish breast/ovarian cancer patients: a high proportion of mutations unique to Spain and evidence of founder effects. Hum Mutat [Internet]. 2003 [cited 2022 Feb 6];22(4):301–12. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12955716/

198. Blay P, Santamaría I, Pitiot AS, Luque M, Alvarado MG, Lastra A, et al. Mutational analysis of BRCA1 and BRCA2 in hereditary breast and ovarian cancer families from Asturias (Northern Spain). BMC Cancer. 2013 May;13.

199. Beristain E, Martínez-Bouzas C, Guerra I, Viguera N, Moreno J, Ibañez E, et al.

Differences in the frequency and distribution of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast/ovarian cancer cases from the Basque country with respect to the Spanish population: implications for genetic counselling. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2007 Dec [cited 2022 Feb 3];106(2):255–62. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17262179/

200. Miramar MD, Calvo MT, Rodriguez A, Antón A, Lorente F, Barrio E, et al. Genetic analysis of BRCA1 and BRCA2 in breast/ovarian cancer families from Aragon (Spain): two novel truncating mutations and a large genomic deletion in BRCA1. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2008 Nov [cited 2022 Feb 3];112(2):353–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18176857/

201. Vega A, Torres M, Martínez JI, Ruiz-Ponte C, Barros F, Carracedo A. Analysis of BRCA1 and BRCA2 in breast and breast/ovarian cancer families shows population substructure in the Iberian peninsula. Ann Hum Genet [Internet]. 2002 Jan [cited 2022 Feb 6];66(Pt 1):29–36. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12014998/

202. Pajares B, Porta J, Porta JM, Sousa CF de, Moreno I, Porta D, et al. Hereditary breast and ovarian cancer in Andalusian families: a genetic population study. BMC Cancer [Internet]. 2018 Jun 8 [cited 2022 Feb 6];18(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29884136/

203. Graña B, Lastra E, Llort G, Brunet J, Isla D. SEOM clinical guidelines for hereditary cancer. Clin Transl Oncol [Internet]. 2011 Aug 20 [cited 2023 Feb 17];13(8):580–6. Available from: https://link-springer-com.bvsspa.idm.oclc.org/article/10.1007/s12094-011-0701-2

204. González-Santiago S, Ramón y Cajal T, Aguirre E, Alés-Martínez JE, Andrés R, Balmaña J, et al. SEOM clinical guidelines in hereditary breast and ovarian cancer (2019). Clin Transl Oncol. 2020 Feb 1;22(2):193–200.

205. Manzanares Campillo M del C, Muñoz Atienza V, Sánchez Tapia EM, Martín Fernández J. Portadoras de mutaciones en BRCA1 y 2 en familias de alto riesgo del área de Ciudad Real (España): prevalencia mutacional y características clínico-patológicas del cáncer de mama y ovario. Rev Senol y Patol Mamar - J Breast Sci [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2022 Feb 6];31(2):59–66. Available from: https://www.elsevier.es/es-revista-revista-senologia-patologia-mamaria--131-articulo-portadoras-mutaciones-brca1-2-familias-

S021415821830029X

206. Macias Montero R. Trasmisión genética del cáncer en Extremadura: Valor pronóstico del consejo genético. 2016 [cited 2022 Feb 6]; Available from: https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=50022&info=resumen&idioma=ENG

207. Adamo B, Moreno L, Gaba L, Vidal M, Pascual T, Chic N, et al. Multi-gene panel testing at the hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) unit of the Hospital Clinic of Barcelona. Ann Oncol [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Jun 3];30:iii42–3. Available from: http://www.annalsofoncology.org/article/S092375341930403X/fulltext

208. Ramírez-Calvo M, García-Casado Z, Fernández-Serra A, De Juan I, Palanca S, Oltra S, et al. Implementation of massive sequencing in the genetic diagnosis of hereditary cancer syndromes: Diagnostic performance in the Hereditary Cancer Programme of the Valencia Community (FamCan-NGS). Hered Cancer Clin Pract [Internet]. 2019 Jan 18 [cited 2021 Feb 21];17(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30675318/

209. Win AK, Reece JC, Dowty JG, Buchanan DD, Clendenning M, Rosty C, et al. Risk of extracolonic cancers for people with biallelic and monoallelic mutations in MUTYH. Int J cancer [Internet]. 2016 Oct 10 [cited 2024 Jun 8];139(7):1557. Available from: /pmc/articles/PMC5094810/

210. Guindalini RSC, Viana DV, Kitajima JPFW, Rocha VM, López RVM, Zheng Y, et al. Detection of germline variants in Brazilian breast cancer patients using multigene panel testing. Sci Rep [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Jun 8];12(1):4190. Available from: /pmc/articles/PMC8907244/

211. Consortium BCA. Breast Cancer Risk Genes — Association Analysis in More than 113,000 Women. N Engl J Med [Internet]. 2021 Feb 2 [cited 2024 Jun 8];384(5):428. Available from: /pmc/articles/PMC7611105/

212. Chen B, Zhang G, Li X, Ren C, Wang Y, Li K, et al. Comparison of BRCA versus non-BRCA germline mutations and associated somatic mutation profiles in patients with unselected breast cancer. Aging (Albany NY) [Internet]. 2020 Feb 2 [cited 2024 Jun 8];12(4):3140. Available from: /pmc/articles/PMC7066887/

213. Tung N, Lin NU, Kidd J, Allen BA, Singh N, Wenstrup RJ, et al. Frequency of Germline Mutations in 25 Cancer Susceptibility Genes in a Sequential Series of Patients With

Breast Cancer. J Clin Oncol [Internet]. 2016 May 5 [cited 2024 Jun 8];34(13):1460. Available from: /pmc/articles/PMC4872307/

214. Blanco A, de la Hoya M, Osorio A, Diez O, Miramar MD, Infante M, et al. Analysis of PALB2 gene in BRCA1/BRCA2 negative Spanish hereditary breast/ovarian cancer families with pancreatic cancer cases. PLoS One [Internet]. 2013 Jul 23 [cited 2022 Feb 6];8(7). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23935836/

215. Fonfria M, Jiménez I de J, Tena I, Chirivella I, Richart-Aznar P, Segura A, et al. Prevalence and Clinicopathological Characteristics of Moderate and High-Penetrance Genes in Non-BRCA1/2 Breast Cancer High-Risk Spanish Families. J Pers Med [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2022 Feb 7];11(6). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34204722/

216. Paulo P, Maia S, Pinto C, Pinto P, Monteiro A, Peixoto A, et al. Targeted next generation sequencing identifies functionally deleterious germline mutations in novel genes in early-onset/familial prostate cancer. PLoS Genet [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2022 Feb 6];14(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29659569/

217. Petridis C, Arora I, Shah V, Moss CL, Mera A, Clifford A, et al. Frequency of Pathogenic Germline Variants in CDH1, BRCA2, CHEK2, PALB2, BRCA1, and TP53 in Sporadic Lobular Breast Cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev [Internet]. 2019 [cited 2022 Feb 6];28(7):1162–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31263054/

218. Southey MC, Goldgar DE, Winqvist R, Pylkäs K, Couch F, Tischkowitz M, et al. PALB2, CHEK2 and ATM rare variants and cancer risk: data from COGS. J Med Genet [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2022 Feb 6];53(12):800–11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27595995/

219. Sun J, Meng H, Yao L, Lv M, Bai J, Zhang J, et al. Germline mutations in cancer susceptibility genes in a large series of unselected breast cancer patients. Clin Cancer Res [Internet]. 2017 Oct 15 [cited 2024 Jun 8];23(20):6113–9. Available from: /clincancerres/article/23/20/6113/80166/Germline-Mutations-in-Cancer-Susceptibility-Genes

220. Koumpis C, Dimitrakakis C, Antsaklis A, Royer R, Zhang S, Narod SA, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in unselected breast cancer patients from Greece. Hered Cancer Clin Pract [Internet]. 2011 Nov 15 [cited 2024 Jun 8];9(1):10. Available from: /pmc/articles/PMC3240809/

221. Abugattas J, Llacuachaqui M, Allende YS, Velásquez AA, Velarde R, Cotrina J, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in unselected breast cancer patients from Peru. Clin Genet [Internet]. 2015 Oct 1 [cited 2024 Jun 8];88(4):371. Available from: /pmc/articles/PMC4374018/

222. Wen WX, Allen J, Lai KN, Mariapun S, Hasan SN, Ng PS, et al. Original Article: Inherited mutations in BRCA1 and BRCA2 in an unselected multiethnic cohort of Asian patients with breast cancer and healthy controls from Malaysia. J Med Genet [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2024 Jun 8];55(2):97. Available from: /pmc/articles/PMC5800345/

223. Bedrosian I, Somerfield MR, Achatz MI, Boughey JC, Curigliano G, Friedman S, et al. Germline Testing in Patients with Breast Cancer: ASCO-Society of Surgical Oncology Guideline. J Clin Oncol [Internet]. 2024 Feb 10 [cited 2024 Jun 8];42(5):584–604. Available from: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.23.02225

224. Kurian AW, Bedrosian I, Kohlmann WK, Somerfield MR, Robson ME. Germline Testing in Patients With Breast Cancer: ASCO-Society of Surgical Oncology Guideline Q and A. JCO Oncol Pract [Internet]. 2024 Apr 22 [cited 2024 Jun 8];20(4):466–71. Available from: https://ascopubs.org/doi/10.1200/OP.23.00771

225. van Marcke C, Collard A, Vikkula M, Duhoux FP. Prevalence of pathogenic variants and variants of unknown significance in patients at high risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis of gene-panel data. Crit Rev Oncol Hematol. 2018 Dec 1;132:138–44.

226. Castillo-Guardiola V, Rosado-Jiménez L, Sarabia-Meseguer MD, Marín-Vera M, Macías-Cerrolaza JA, García-Hernández R, et al. Next step in molecular genetics of hereditary breast/ovarian cancer: Multigene panel testing in clinical actionably genes and prioritization algorithms in the study of variants of uncertain significance. Eur J Med Genet. 2022 Apr 1;65(4):104468.

227. Boonen RACM, Vreeswijk MPG, van Attikum H. Functional Characterization of PALB2 Variants of Uncertain Significance: Toward Cancer Risk and Therapy Response Prediction. Front Mol Biosci [Internet]. 2020 Sep 16 [cited 2024 Jun 9];7. Available from: /pmc/articles/PMC7525363/

228. Boonen RACM, Wiegant WW, Celosse N, Vroling B, Heijl S, Kote-Jara Z, et al. Functional Analysis Identifies Damaging CHEK2 Missense Variants Associated with Increased

Cancer Risk. Cancer Res [Internet]. 2022 Feb 2 [cited 2024 Jun 9];82(4):615. Available from: /pmc/articles/PMC9359737/

229. Mersch J, Brown N, Pirzadeh-Miller S, Mundt E, Cox HC, Brown K, et al. Prevalence of Variant Reclassification Following Hereditary Cancer Genetic Testing. JAMA [Internet]. 2018 Sep 25 [cited 2024 Jun 8];320(12):1266–74. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30264118/

230. Couch FJ, Hart SN, Sharma P, Toland AE, Wang X, Miron P, et al. Inherited Mutations in 17 Breast Cancer Susceptibility Genes Among a Large Triple-Negative Breast Cancer Cohort Unselected for Family History of Breast Cancer. J Clin Oncol [Internet]. 2015 Feb 2 [cited 2024 Jun 9];33(4):304. Available from: /pmc/articles/PMC4302212/

231. Toss A, Molinaro E, Venturelli M, Domati F, Marcheselli L, Piana S, et al. BRCA Detection Rate in an Italian Cohort of Luminal Early-Onset and Triple-Negative Breast Cancer Patients without Family History: When Biology Overcomes Genealogy. Cancers (Basel) [Internet]. 2020 May 1 [cited 2024 Jun 9];12(5):1252. Available from: /pmc/articles/PMC7281631/

232. Daly MB, Rosenthal E, Cummings S, Bernhisel R, Kidd J, Hughes E, et al. The association between age at breast cancer diagnosis and prevalence of pathogenic variants. Breast Cancer Res Treat [Internet]. 2023 Jun 1 [cited 2024 Jun 16];199(3):617–26. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-023-06946-8

233. Heikkinen T, Kärkkäinen H, Aaltonen K, Milne RL, Heikkilä P, Aittomäki K, et al. The breast cancer susceptibility mutation PALB2 1592delT is associated with an aggressive tumor phenotype. Clin Cancer Res [Internet]. 2009 May 1 [cited 2024 Jun 22];15(9):3214–22. Available from: /clincancerres/article/15/9/3214/74983/The-Breast-Cancer-Susceptibility-Mutation-PALB2

234. Toss A, Ponzoni O, Riccò B, Piombino C, Moscetti L, Combi F, et al. Management of PALB2-associated breast cancer: A literature review and case report. Clin Case Reports [Internet]. 2023 Aug [cited 2024 Jun 22];11(8):7747. Available from: /pmc/articles/PMC10444947/

235. Reid S, Pal T. Update on multi-gene panel testing and communication of genetic test results. Breast J [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2024 Jun 16];26(8):1513. Available from: /pmc/articles/PMC7484453/

236. Satam H, Joshi K, Mangrolia U, Waghoo S, Zaidi G, Rawool S, et al. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. Biology (Basel) [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Jun 16];12(7). Available from: /pmc/articles/PMC10376292/

237. Kurian AW, Ward KC, Hamilton AS, Deapen DM, Abrahamse P, Bondarenko I, et al. Uptake, Results, and Outcomes of Germline Multiple-Gene Sequencing After Diagnosis of Breast Cancer. JAMA Oncol [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2022 Feb 6];4(8):1066–72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29801090/

238. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med [Internet]. 2015 May [cited 2018 Feb 24];17(5):405–24. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25741868

239. Molina-Zayas M, Garrido-Navas C, García-Puche JL, Barwell J, Pedrinaci S, Atienza MM, et al. Identification of hereditary breast and ovarian cancer germline variants in Granada (Spain): NGS perspective. Mol Genet Genomics [Internet]. 2022 May 1 [cited 2022 Jun 20];297(3):859–71. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35451682/

240. Rodríguez-Balada M, Roig B, Melé M, Albacar C, Serrano S, Salvat M, et al. Identification of germline pathogenic variants in DNA damage repair genes by a next-generation sequencing multigene panel in BRCAX patients. Clin Biochem [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2022 Feb 6];76:17–23. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31786208/