Universidad de Alcalá
COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO

ACTA DE EVALUACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

Año académico 2016/17

DOCTORANDO: **CISNEROS GUTIÉRREZ DEL OLMO, NATALIA**
D.N.I./PASAPORTE: ******4342E**

PROGRAMA DE DOCTORADO: **D325 DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD**
DEPARTAMENTO DE: **MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS**
TITULACIÓN DE DOCTOR EN: **DOCTOR/A POR LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**

En el día de hoy 13/09/17, reunido el tribunal de evaluación nombrado por la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado de la Universidad y constituido por los miembros que suscriben la presente Acta, el aspirante defendió su Tesis Doctoral, elaborada bajo la dirección de JOSÉ MIGUEL GARCÍA SAGREDO.

Sobre el siguiente tema: *CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO PREVALENCIA DE MUTACIONES PATOGÉNICAS EN LOS GENES BRCA1 Y BRCA2. RELACIÓN CON LOS ANTECEDENTES ONCOLÓGICOS FAMILIARES Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS*

Finalizada la defensa y discusión de la tesis, el tribunal acordó otorgar la CALIFICACIÓN GLOBAL[4] de (**no apto, aprobado, notable** y **sobresaliente**): SOBRESALIENTE

Alcalá de Henares, 13 de Sept de 2017

EL PRESIDENTE — Fdo.: S. Coco

EL SECRETARIO — Fdo.: E. García Gallonay

EL VOCAL — Fdo.: J. Sureda

Con fecha 4 de octubre de 2017 la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado, a la vista de los votos emitidos de manera anónima por el tribunal que ha juzgado la tesis, resuelve:

- ☐ Conceder la Mención de "Cum Laude"
- ☒ No conceder la Mención de "Cum Laude"

La Secretaria de la Comisión Delegada

FIRMA DEL ALUMNO,

Fdo.: N. Cisneros

[4] La calificación podrá ser **"no apto" "aprobado" "notable" y "sobresaliente"**. El tribunal podrá otorgar la mención de "cum laude" si la calificación global es de sobresaliente y se emite en tal sentido el voto secreto positivo por unanimidad.

INCIDENCIAS / OBSERVACIONES:

Universidad de Alcalá
COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO

En aplicación del art. 14.7 del RD. 99/2011 y el art. 14 del Reglamento de Elaboración, Autorización y Defensa de la Tesis Doctoral, la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado, en sesión pública de fecha 4 de octubre, procedió al escrutinio de los votos emitidos por los miembros del tribunal de la tesis defendida por *CISNEROS GUTIÉRREZ DEL OLMO, NATALIA*, el día 13 de septiembre de 2017, titulada *CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO PREVALENCIA DE MUTACIONES PATOGÉNICAS EN LOS GENES BRCA1 Y BRCA2. RELACIÓN CON LOS ANTECEDENTES ONCOLÓGICOS FAMILIARES Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS*, para determinar si a la misma se le concede la mención "cum laude", arrojando como resultado, 2 votos a favor y 1 en contra.

Por lo tanto, la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado **resuelve no otorgar la Mención de "cum laude"** a dicha Tesis.

Alcalá de Henares, 13 de octubre de 2017
EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ - COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO

Juan Ramón Velasco Pérez

Copia por e-mail a:
Doctorando: CISNEROS GUTIÉRREZ DEL OLMO, NATALIA
Secretario del Tribunal: EVA GARCÍA GALLOWAY.
Director de Tesis: JOSÉ MIGUEL GARCÍA SAGREDO//

Universidad de Alcalá

ESCUELA DE DOCTORADO
Servicio de Estudios Oficiales de Posgrado

DILIGENCIA DE DEPÓSITO DE TESIS.

Comprobado que el expediente académico de D./Dª NATALIA CISNEROS GUTIERREZ DEL OLMO reúne los requisitos exigidos para la presentación de la Tesis, de acuerdo a la normativa vigente, y habiendo presentado la misma en formato: ☐ soporte electrónico ☒ impreso en papel, para el depósito de la misma, en el Servicio de Estudios Oficiales de Posgrado, con el nº de páginas: 216 se procede, con fecha de hoy a registrar el depósito de la tesis.

Alcalá de Henares a 27 de ABRIL de 2017

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ SERVICIO DE ESTUDIOS OFICIALES DE POSGRADO

MARIA VEGA

Fdo. El Funcionario

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

"Cáncer de mama y ovario hereditario: prevalencia de mutaciones patogénicas en los genes BRCA1 y BRCA2. Relación con los antecedentes oncológicos familiares y características clínico-patológicas"

Tesis doctoral presentada por

Natalia Cisneros Gutiérrez del Olmo

Director:

DR. José Miguel García Sagredo

Alcalá de Henares, 2017

Universidad de Alcalá

Don **JOSE MIGUEL GARCIA SAGREDO**, como director de Tesis Doctoral

CERTIFICA:

Que el trabajo ***"Cáncer de mama y ovario hereditario: prevalencia de mutaciones patogénicas en los genes BRCA1 y BRCA2. Relación con los antecedentes oncológicos familiares y características clínico-patológicas"***, realizado por Dª Natalia Cisneros Gutiérrez del Olmo ha sido llevado a cabo bajo mi dirección y se encuentra en condiciones de ser leído y defendido como tesis doctoral en la Universidad de Alcalá.

Lo que firmo para los efectos oportunos en Madrid a siete de abril de dos mil diecisiete.

Fdo. Dr J.M. García Sagredo

Director de la Tesis Doctoral

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ • FACULTAD DE MEDICINA • HOSPITAL UNIVERSITARIO "RAMÓN Y CAJAL"

Universidad de Alcalá

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud
Campus Científico Tecnológico
Ctra. Madrid-Barcelona, km.33,600
28805 Alcalá de Henares (Madrid)
Teléfono: 918854533 – 4707 - 4790
e.mail: dpto.medesp@uah.es

D. Melchor Alvarez de Mon Soto, Director del Departamento de Medicina y Especialidades Médicas de la Universidad de Alcalá,

CERTIFICA: que el trabajo titulado "*Cáncer de mama y ovario hereditario: prevalencia de mutaciones patogénicas en los genes BRCA1 y BRCA2. Relación con los antecedentes oncológicos familiares y características clínico-patológicas*", ha sido realizado por *Dª Natalia Cisneros Gutiérrez del Olmo,* en el Departamento de Medicina y Especialidades Médicas de la Universidad de Alcalá, y reúne los requisitos científicos de originalidad y rigor metodológicos suficientes para ser defendido en calidad de Tesis Doctoral ante el tribunal que corresponda.

Y para que así conste, expide y firma el presente certificado en Alcalá de Henares, a trece de marzo de dos mil diecisiete.

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ - DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS

A David y a Álvaro

A mis padres

Agradecimientos

Esta tesis es el resultado del trabajo de varias personas que idearon este proyecto desde hace años; sin el cual yo no podría haber obtenido todos los datos de los que he dispuesto para su elaboración.

A mi director de tesis, José Miguel García Sagredo, por haber tenido la idea de este proyecto, haber contado conmigo para llevarlo a cabo, por contagiarme de su entusiasmo por la Genética, por su supervisión y por concederme la posibilidad de seguir ligada a la vida académica.

Al Dr. Carlos San Román Cos-Gayón, porque la mayor parte de los datos recogidos son trabajo suyo.

A todo el equipo del Servicio de Genética Médica del Hospital Ramón y Cajal, por su ayuda, darme la posibilidad de rotar y aprender de ellos. A Eva, por su ayuda con las bases de datos y mutaciones, y a María por todo su apoyo y ayuda en estos años.

A mis padres, por su ayuda, cariño, paciencia, estar siempre que los necesito y por esforzarse en nuestra educación inculcándonos valores como son la responsabilidad y el esfuerzo. Sin vosotros hubiese sido imposible terminar de escribir la tesis.

A José Luis, por su ayuda y valiosos comentarios sobre estadística.

A David, por tu apoyo incondicional, creer en mí más que yo misma, por animarme en los momentos difíciles y por estar siempre a mi lado.

A Álvaro, por quitarte tanto tiempo de estar con tu madre en tus primeros años, por ser la alegría y sentido de mi vida.

A todas aquellas personas que me han regalado su conocimiento y su tiempo.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ACCS: Acetyl-Coa carboxilasa-α.

ADH: Hiperplasia ductal atípica.

ALH: Hiperplasia lobulillar atípica.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AF: Anemia de Fanconi.

ARN: Ácido ribonucleico.

ASCO: American Society of Clinical Oncology.

AT: Ataxia telangiectasia.

ATM: Gen mutado en ataxia telangiectasia (ataxia telangiectasia mutated).

BER: Reparación por escisión de bases (base-excision repair).

BIC: Base de datos internacional de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* (Breast Cancer Information Core).

BRC: Breast Cancer Domain.

BRCA1: Gen de susceptibilidad a cáncer de mama tipo 1 (Breast Cancer Susceptibility Gene 1).

BRCA2: Gen de susceptibilidad a cáncer de mama tipo 2 (Breast Cancer Susceptibility Gene 2).

BRCA1/2: *BRCA1* y/o *BRCA2*.

BRCT: Dominio en el extreme carboxi terminal de la proteína BRCA1 (Breast carboxi terminus).

CDI: Carcinoma ductal invasivo.

CDIS: Carcinoma ductal in situ.

CHEK2: Gen de control del ciclo celular CHK2 (checkpoint kinase 2).

CIMBA: Consorcio de investigadores de genes modificadores de *BRCA1* y *BRCA2* (Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1* and *BRCA2*).

CK: citoqueratinas.

CLI: Carcinoma lobulillar invasivo.

CLIS: Carcinoma lobulillar in situ.

CM: Cáncer de mama.

CME: Cáncer de mama esporádico.

CMH: Cáncer de mama hereditario.

CMTN: Cáncer de mama triple negativo.

CMO: Cáncer de mama-ovario.

CNIO: Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas.

CO: Cáncer de ovario.

COH: cáncer de ovario hereditario.

COE: Cáncer de ovario epitelial.

DSB: rotura de las dos hebras de ADN (Double Strand Break).

EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico (epidermal growth factor receptor).

GWAS: Estudios de asociación del genoma completo (Genome-wide association studies).

HER2/neu: Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2. Llamado también ErbB-2 o ERBB2.

HBOC: Cáncer de mama-ovario hereditario (Hereditary Breast and Ovarian Cancer).

IBCCS: International *BRCA1/2* Carrier Cohort Study.

IC: Intervalo de confianza.

Kb: Kilobase.

Ki-67: Proteína identificada con el anticuerpo monoclonal Ki-67 (antigen identified by monoclonal antibody Ki-67).

LGR: Large genomic rearrangement.

MLPA: Multiplex Ligation-dependent probe amplification.

NHEJ: Unión de extremos no homólogos (Non-Homologous End Joining).

NICE: National Institute for Health and Clinical Excellence.

OR: Odds ratio.

P53: Proteína supresora de tumor p53 (p53 tumor supresor protein).

PALB2: Compañero y colocalizador de *BRCA2*.

PARP: Poli-ADP-ribosa polimerasa.

Pb: pares de bases.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction).

PHTS: Síndrome tumoral hamartomatoso asociado a PTEN (PTEN hamartoma tumor syndrome).

PTEN: Proteína homóloga de la fosfatasa y tensina.

RE: receptores de estrógeno.

RH: Recombinación homóloga (Homologous Recombination).

RP: receptores de progesterona.

RR: Riesgo relativo.

SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica.

SNPs: Polimorfismo por cambio de un único nucleótido (single nucleotide polymorphisms).

SsDNA: Single strand DNA break.

TN: tumor triple negativo.

TNM: sistema de estadificación del tumor (T: tamaño del tumor; N: metástasis a ganglios linfáticos axilares; M: metástasis a tejidos distantes de la mama).

UTR: Región no traducida de ARN a proteína (untranslated region).

χ^2: Chi-cuadrado de Pearson.

INTRODUCCIÓN

1. CÁNCER DE MAMA

1.1. EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer es la principal causa de muerte a escala mundial. Representa la primera causa de muerte en los países desarrollados y la segunda en los países en vías de desarrollo. Se le atribuyen 8,2 millones de defunciones ocurridas en todo el mundo en 2012.

Según los datos recogidos en el proyecto Globocan 2012, en España la incidencia en 2012 fue de 215.534 nuevos casos y con una previsión para el 2020 de 246.713 casos nuevos, 97.715 en mujeres y 148.998 en hombres.

En cuanto a la incidencia global del cáncer en el mundo, España presenta una incidencia similar a los países de nuestro entorno más directo.

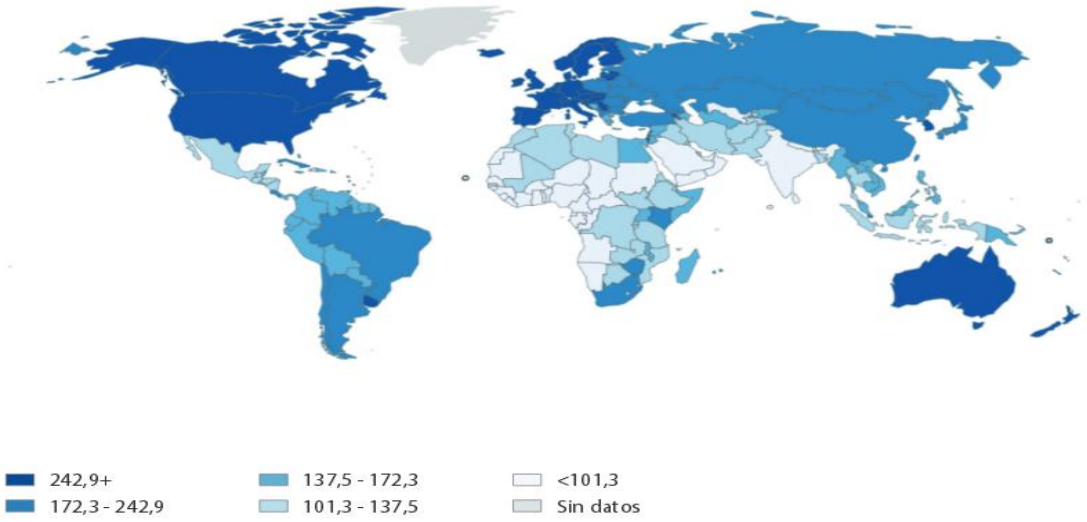

Figura 1. *Tasas de incidencia relativa de cáncer en ambos sexos ajustada por edad en el mundo. Se incluyen todos los cánceres, excepto el cáncer de piel no melanoma. Globocan 2012.*

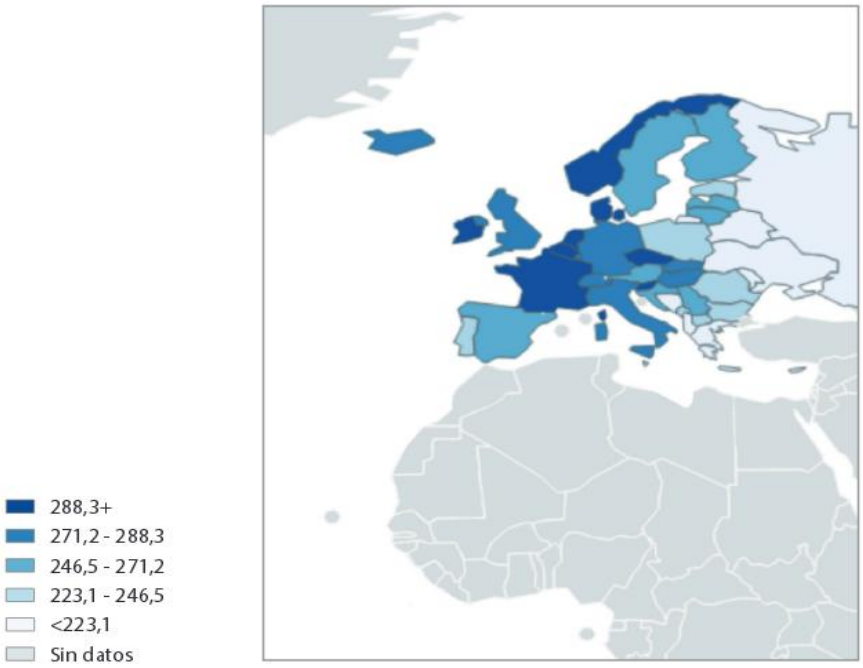

Figura 2. *Tasas de incidencia relativa de cáncer en ambos sexos ajustada por edad en Europa. Se incluyen todos los cánceres, excepto el cáncer de piel no melanoma. Globocan 2012.*

Los cinco cánceres más frecuentes en España en el 2012, fueron los siguientes:

	Hombre	Mujer	Ambos Sexos
1º	Próstata	Mama	Colorrectal
2º	Pulmón	Colorrectal	Próstata
3º	Colorrectal	Cuerpo de Útero	Pulmón
4º	Vejiga	Pulmón	Mama
5º	Estómago	Ovario	Vejiga

Figura 3. *Cánceres más frecuentes en España según sexos. Globocan 2012.*

El número de muertes por cáncer en España en 2012 fue de 102.762 (63.579 casos en varones y 39.183 en mujeres) y la previsión para 2020 de

117.859 muertes por cáncer (73.424 varones y 44.435 mujeres), con un crecimiento mayor en la población ≥65 años.

Si analizamos la incidencia, mortalidad y prevalencia en ambos sexos, en nuestro país, el cáncer colorrectal representaría el de mayor incidencia, el de pulmón el de mayor mortalidad, y el de mama el de mayor prevalencia. A nivel mundial, el cáncer de pulmón sería el de mayor incidencia y mortalidad, y el de mama el de mayor prevalencia. Si separamos por sexos, en las mujeres el de mayor incidencia, mortalidad y prevalencia es el cáncer de mama (29%, 15,5% y 40,8% respectivamente) [1].

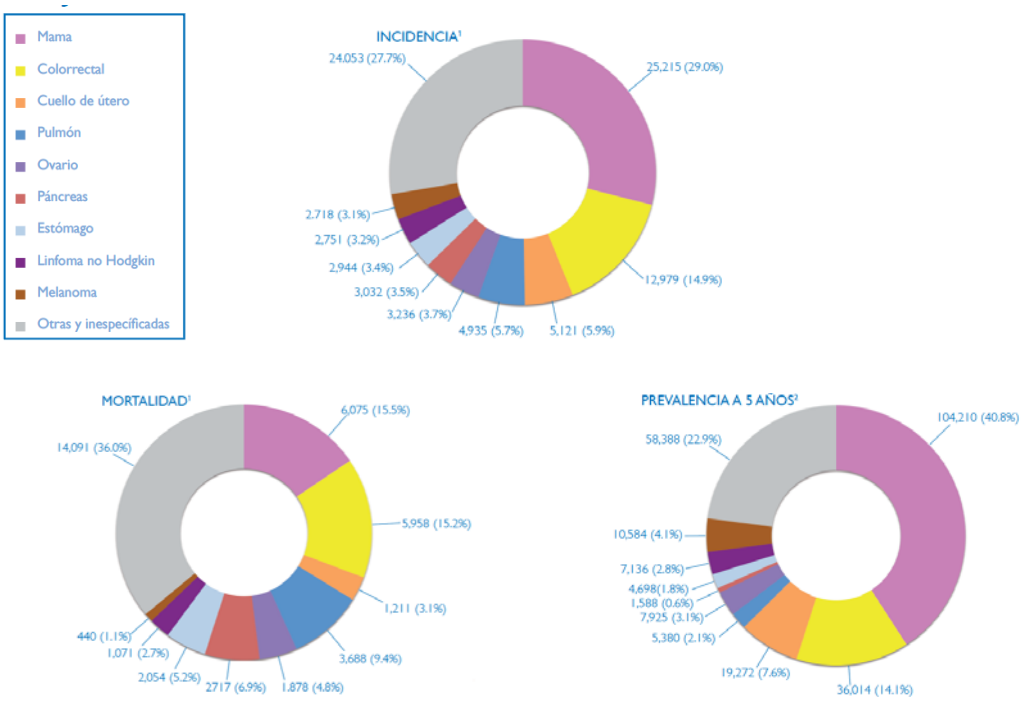

Figura 4. *Incidencia, mortalidad y prevalencia a los 5 años, de los diferentes cánceres en mujeres españolas.*

En lo que respecta al cáncer de mama, es el tumor más frecuente en las mujeres occidentales, estimándose que en los países de la Unión Europea la probabilidad de desarrollar un cáncer de mama antes de los 75 años es del 8% [2].

Según los datos recogidos en el proyecto Globocan 2012, en España la incidencia en el año 2012 de cáncer de mama fue de 25.215 nuevos casos (15.625 casos diagnosticados antes de los 65 años y 9.590 casos diagnosticados a una edad mayor o igual de 65 años); y con una previsión para el 2020 de 28.010 casos nuevos (17.044 casos diagnosticados antes de los 65 años y 10.966 casos diagnosticados a una edad mayor o igual de 65 años).

El número de muertes en España por cáncer de mama en el año 2012 fue de 6.075 (2.188 antes de los 65 años y 3.887 después de los 65 años), y se estima que en el año 2020 el número de muertes sea de 6.856 (2.445 antes de los 65 años y 4.411 después de los 65 años). La mortalidad por cáncer de mama ha disminuido en todo el mundo desarrollado. Los programas de detección precoz, junto con los avances diagnósticos y terapéuticos, han supuesto un incremento en la supervivencia que se situaría por encima del 80% a los cinco años del diagnóstico [3]. En España, comienza a descender en el año 1992 a un ritmo de un 2% anual, y se sitúa entre las tasas de mortalidad más bajas de Europa [4]. Este descenso se observa en todos los grupos de edad, si bien es cierto que el descenso es menor en las mujeres mayores de 65 años, que podría reflejar no una menor reducción de la mortalidad sino una mayor supervivencia de los grupos de edad más jóvenes.

Los programas de cribado poblacionales para mujeres entre 50 y 65 años de edad se implementaron en la década de los 90 en todo el territorio español. Este patrón de descenso se produce en todas las comunidades autónomas, aunque en diferente momento. Navarra fue la primera comunidad autónoma en implementar un programa de diagnóstico precoz [5].

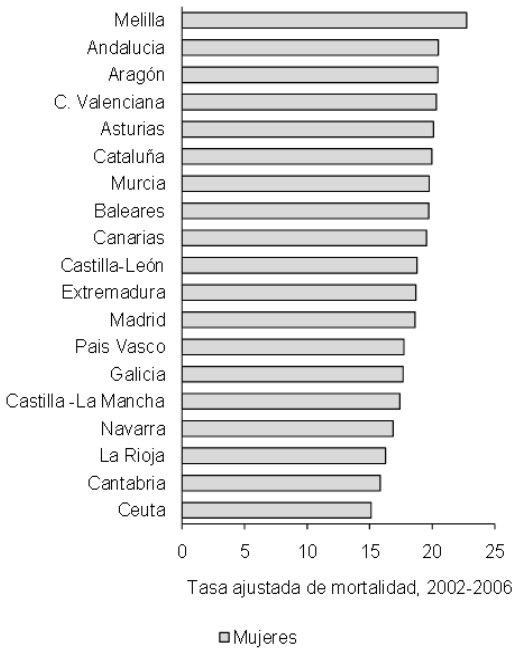

Figura 5. *Mortalidad por cáncer de mama por Comunidad Autónoma en el quinquenio 2002-2006. Globocan 2012.*

Actualmente, la supervivencia para mujeres europeas diagnosticadas de cáncer de mama es superior al 80% a los 5 años del diagnóstico, según datos disponibles en el estudio EUROCARE-5. La supervivencia al cáncer de mama es más alta en los Países Nórdicos (excepto Dinamarca) y Europa Central, intermedia en el sur de Europa, baja en el Reino Unido e Irlanda, y muy baja en Europa del Este. Es interesante observar la baja supervivencia en

Reino Unido y Dinamarca respecto a países de su entorno y mismo nivel económico. En España, en relación a periodos anteriores, la supervivencia ha aumentado de forma significativa.

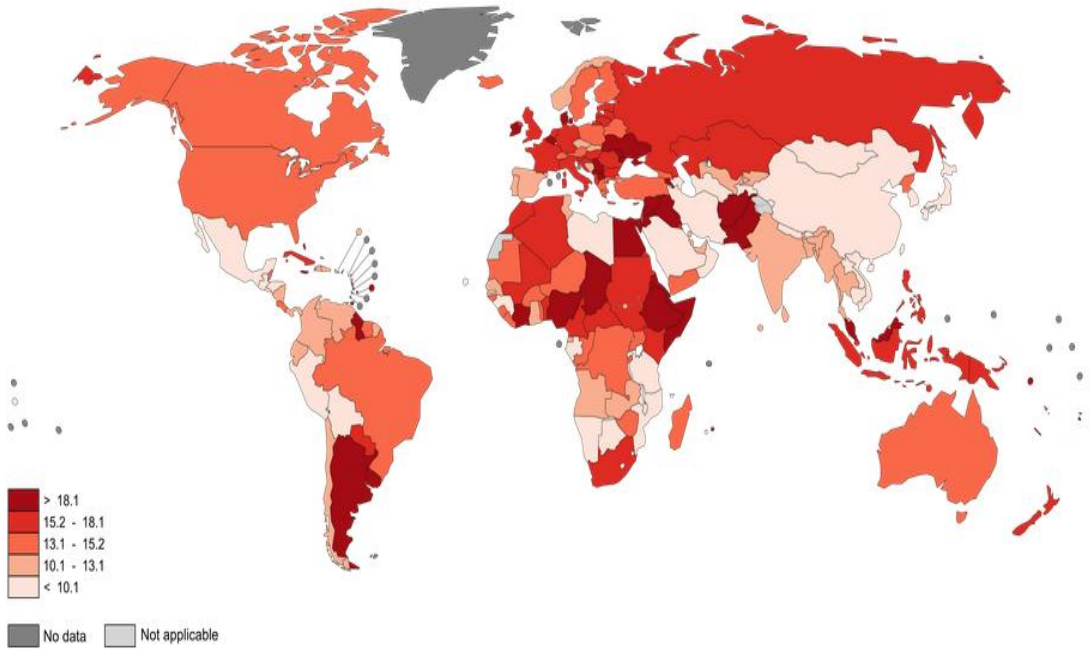

Figura 6 .*Tasas de mortalidad estimada en el mundo en 2012. Globocan 2012.*

Por su importancia, la investigación, el diagnóstico y el tratamiento del cáncer de mama deben ser aspectos considerados como prioritarios dentro de la política sanitaria. Así como continuar con los programas de diagnóstico precoz, evitar retrasos diagnósticos y asegurar la mejor estrategia terapéutica. Por otra parte, la investigación etiológica debe continuar, ya que los factores ya establecidos explicarían menos del 50% de los casos observados.

1.2. HISTORIA NATURAL

No es posible determinar el instante en que aparece la primera célula maligna, después de lo cual el tumor crece por división celular; y en donde la rapidez de desarrollo tumoral depende de la velocidad de duplicación celular.

Así, un tumor maligno de mama puede llevar de evolución entre 2 y 17 años cuando se diagnostica clínicamente debido a variaciones en su velocidad de crecimiento [6]. Teniendo en cuenta que, para que un cáncer de mama sea clínicamente demostrable se requiere un tamaño aproximado de 1 centímetro o en equivalente celular, mil millones de células tumorales; lo que se conseguiría tras 30 duplicaciones para un tumor originado en una sola célula, basándonos en cálculos de tamaño celular [7]. Collins realizó numerosos estudios sobre la celeridad del crecimiento de un tumor y así estableció que para el carcinoma mamario estándar el tiempo de duplicación tumoral es de 28 días.

Gallager y Huttler hablan clásicamente de cinco etapas evolutivas en la historia del cáncer de mama:

1. Incepción (estado o condición que precede a la malignidad).
2. Crecimiento intraepitelial.
3. Invasión inicial con formación de masa tumoral.
4. Difusión regional.
5. Difusión sistémica.

Aunque se estima que, aproximadamente un 70% de los cánceres de mama son esporádicos, actualmente se apunta que las causas principales de

padecer cáncer de mama surgen de la interrelación de factores genéticos con patologías mamarias preexistentes.

Dentro de los factores genéticos se encuentran principalmente las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, genes supresores de tumores. Otros genes implicados son el *p53*, *ATM*, *PTEN*, *LKB1/STK11*, *MSH2/MLH1*.

Dentro de la patología mamaria preexistente nos encontramos con lesiones proliferativas, pero que no todas tienen el mismo riesgo relativo. Éste se encuentra relacionado con determinados grados de hiperplasia epitelial y lobulillar, en especial con hiperplasia epitelial atípica, en cuyo caso el riesgo de padecer CM es cinco veces superior al de la población general y con un riesgo absoluto de cáncer invasor a los 15 años de un 15% [8]. Existen dos tipos de hiperplasia ductal: hiperplasia ductal típica e hiperplasia ductal atípica. Ambas suelen ser de carácter microscópico y multifocal, y no tienen rasgos clínicos ni radiológicos propios. Ocupan el límite entre las lesiones inequívocamente benignas y el carcinoma in situ.

El carcinoma ductal "in situ" correspondería a una proliferación de células neoplásicas confinadas en el interior del ducto con posible necrosis y aparición de microcalcificaciones. Se le considera lesión precancerosa, ya que es la lesión histológica con más riesgo de desarrollar cáncer de mama con el tiempo, multiplicándose dicho riesgo hasta por diez [9].

El carcinoma lobulillar "in situ" se le considera como marcador de riesgo. Se mantiene confinado dentro de los lobulillos sin invasión del estroma, y frecuentemente son bilaterales y multicéntricos.

Los mecanismos de diseminación pueden ser locorregionales o sistémicos. Y dentro de los primeros, por propagación directa o por vía

linfática. La vía linfática es la forma más importante de diseminación. Las principales rutas de distribución linfática son:

- *Hacia la axila*: a partir de la mama, la neoplasia invade primero los ganglios de la cadena mamaria externa, después los situados detrás del pectoral menor, y después los situados por encima y por dentro del pectoral menor o ganglios del vértice de la axila o subclaviculares.
- *Hacia la cadena mamaria interna:* a través de vasos perforantes del primero, segundo y tercer espacio intercostales; esta vía ya conecta con los linfáticos intratorácicos, subpleurales, diafragmáticos y pericárdicos.
- *Ruta intercostal externa* a los ganglios linfáticos intercostales posteriores.

En general, a mayor tamaño tumoral más frecuencia de invasión axilar. Con tumores menores de tres centímetros tienen diseminación axilar un tercio de los casos, y con tumores mayores de tres centímetros aparecen metástasis axilares en más de la mitad de los pacientes [10].

La diseminación sistémica tiene interés para explicar la vehiculización de células neoplásicas que van a generar metástasis a distancia. Se la puede considerar una vía mixta linfático-vascular. Una vez invadidos los ganglios subclavios, o los de la cadena mamaria interna, debe admitirse prácticamente la penetración de células malignas en la corriente sanguínea. Debido a que de estos ganglios al confluente venoso yugulo-subclavio, sólo media pocos centímetros de vía linfática sin interrupción alguna.

A través de las venas intramamarias, la difusión puede seguir dos vías:

- Por la *circulación general*: las células neoplásicas llegan al corazón derecho por la vena cava superior a través de los afluentes de la vena axilar o subclavia. Y desde aquí, por la arteria pulmonar al pulmón. En este punto pueden suceder dos cosas, que se detenga y den metástasis pulmonares o que franqueen la red capilar, y pasen al corazón izquierdo y al resto del organismo [11].
- Por el *sistema de las venas vertebrales*: las venas intramamarias comunican con las venas intercostales, y éstas a su vez con el plexo venoso vertebral. El sistema de las venas vertebrales, por su comunicación con la vena cava inferior, llega hasta el corazón derecho y de aquí a la circulación general; por su comunicación con la vena porta, se explican las metástasis viscerales. Además esta vía explica las metástasis óseas, tanto en columna vertebral como en cintura escapular y pelvis. Su conexión con las venas meníngeas y del encéfalo, explica las metástasis intracraneales [12].

Con respecto a la supervivencia de las pacientes con cáncer de mama no tratado se han realizado numerosos estudios, y la primera conclusión que se sacó en todos ellos es que no existe la curación espontánea. Se estima una supervivencia media de vida, desde el comienzo de los síntomas, de 38,7 meses [13]. Esta gran variación es debida a la relación directa entre el grado de tumor y la supervivencia. La duración media de la vida fue más del doble en los tumores de grado I que en los de grado III [14]. También se señala las ventajas del tratamiento, ya que las pacientes no tratadas sobrevivieron con

mucha incomodidad y sufrimiento. El tratamiento puede que no cure, pero por lo menos alivia síntomas y prolonga la vida.

1.3. FACTORES DE RIESGO

El cáncer, en general, es una enfermedad multifactorial, y una gran variedad de factores se han relacionado con incrementar el riesgo de desarrollarlo.

Resulta difícil saber cuánto pueden contribuir estos factores, ya que la mayoría de las mujeres que tienen uno o más factores de riesgo de cáncer de mama nunca padecen este cáncer. O por el contrario, mujeres que lo padecen no tienen factores de riesgo conocidos.

Los principales factores de riesgo [15, 16] como ser mujer, edad y factores genéticos, no se pueden cambiar.

- *Sexo*: el hecho de ser mujer es el principal factor de riesgo de padecer cáncer de mama. Los hombres también pueden padecerlo, pero esta enfermedad es 100 veces más frecuente en mujeres que en hombres.
- *Edad*: por una parte, el cáncer es una enfermedad intrínsicamente ligada al envejecimiento. Por lo que dentro de los factores de riesgo no modificables, el envejecimiento es uno de los principales. Pero en el caso del cáncer de mama el riesgo aumenta con la edad hasta la menopausia, lo que sugiere un componente de tipo hormonal. Alrededor del 18% de los cánceres de mama se diagnostican en la década de los 40, y el 77% por encima de los 50 años [17]. Por encima de los 75 años el riesgo disminuye.

- *Raza*: Las mujeres de raza blanca tienen un riesgo más elevado de padecer cáncer de mama. Las asiáticas y africanas son las que tienen menor riesgo. Las razones son desconocidas todavía, se cree que la razón más importante sería el estilo de vida. Hay determinados grupos, con cierto grado de endogamia, que presentan un riesgo incrementado de padecer cáncer de mama, como es el caso de los Judíos Ashkenazi. En estos, la aparición de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* es mayor (mutaciones recurrentes), y por tanto mayor el riesgo de cáncer de mama.
- *Hereditarios* (factores genéticos y familiares): los factores hereditarios se identifican a través de la historia familiar. Así, el riesgo de tener un cáncer de mama es 1,8 veces superior si se tiene un familiar de primer grado con cáncer de mama u ovario; de 2,9 si son dos familiares; si el tumor apareció antes de los 40 años, el riesgo se incrementa en 5,7 veces.

  Se cree que alrededor del 5-10% de los cánceres de mama son hereditarios como consecuencia de una mutación genética. Los principales genes conocidos son *BRCA1* y *BRCA2*. Las primeras estimaciones del riesgo de padecer cáncer de mama en familiares afectos de estas mutaciones, eran del 80% para las mutaciones en *BRCA1* y del 45% para las mutaciones en *BRCA2*, aunque se ha comprobado que estaban sobrestimadas. Actualmente, y dependiendo del estudio y población, se encuentran en el rango de 46-69% en portadores de mutación en *BRCA1* y en el rango de 26-74% en portadores de mutación en *BRCA2*. En las personas que heredan estas

mutaciones, frecuentemente se descubre la enfermedad a edades más tempranas y en ambas mamas, en comparación con los cánceres no asociados a estas mutaciones. Además, el riesgo de padecer cáncer de ovario y otros cánceres está incrementado.

Otras mutaciones genéticas también podrían conducir al cáncer de mama. Se presentan con mucha menos frecuencia, y la mayoría no aumenta tanto el riesgo de padecer cáncer de mama como lo hacen las mutaciones en *BRCAs*. Los genes implicados serían: *p53*, *ATM*, *PTEN*, *MLH1*, *MLH2*, *CHEK-2*, *CDH1*, *STK11* y *PALB2*.

- *Antecedentes personales de cáncer de mama*: en mujeres jóvenes diagnosticadas de cáncer de mama, el riesgo de desarrollar un segundo cáncer de mama primario aumenta 4,5 veces respecto a la población sana; y el riesgo de desarrollar un cáncer de cualquier otro tipo se triplica [18].
- Patología benigna de la mama: las mujeres diagnosticadas con ciertas afecciones benignas de la mama, pueden tener un mayor riesgo de cáncer de mama que otras. Las patologías que incrementan el riesgo, son aquellas que producen un aumento en el número de células con alteraciones (*proliferación atípica*). Dependiendo de cómo afecten al riesgo, estas afecciones benignas se dividen en grupos:
  1. *Lesiones no proliferativas*: no parecen afectar al riesgo de padecer cáncer de mama, y de hacerlo sería muy bajo: fibrosis y quistes simples, hiperplasia leve, adenosis, tumor filoide, un solo papiloma, mastitis, necrosis adiposa, ectasia ductal, fibrosis periductal, metaplasia apocrina y escamosa, calcificaciones relacionadas con el

epitelio, otros tumores benignos (lipoma, hamartoma, hemangioma, neurofibroma, adenomioepitelioma).

2. *Lesiones proliferativas sin atipia*: en estas afecciones hay un sobrecrecimiento excesivo en los conductos o lobulillos de la mama. Parecen aumentar ligeramente el riesgo de padecer cáncer de mama en una mujer: hiperplasia ductal usual (sin atipia), fibroadenoma, adenosis esclerosante, varios papilomas, cicatriz radial.
3. *Lesiones proliferativas con atipia moderada*: crecimiento excesivo de células en los conductos o lobulillos, y algunas con cambios anormales: hiperplasia ductal atípica (ADH), hiperplasia lobulillar atípica (ALH). El riesgo de cáncer de mama está medianamente aumentado en estas mujeres.
4. *Lesiones proliferativas con atipia severa*: son lesiones con un aumento marcado del riesgo: carcinoma ductal "in situ" (CDI), carcinoma lobulillar "in situ" (CLI).

- *Factores hormonales endógenos*: la exposición prolongada a altas concentraciones de estrógenos incrementa el riesgo de cáncer de mama. Así, cualquier situación que suponga una mayor exposición a estrógenos aumentará el riesgo, como es una edad de menarquía antes de los 12 años y una edad de menopausia después de los 53 años. Se estima que la ooforectomía bilateral antes de los 40 años, reduce el riesgo de cáncer de mama en un 50% [19,107].
- *Descendencia*: las mujeres que no tienen hijos tienen mayor riesgo (de 1,2 a 1,7) de padecer cáncer de mama. Por el contrario, las mujeres con

múltiples embarazos tienen un riesgo reducido de cáncer de mama. La edad del primer embarazo también tiene importancia en el riesgo. Si el primer embarazo se produce después de los 35 años, el riesgo de padecer cáncer de mama es 1,6 veces superior al de la mujer que lo tiene a la edad de 26-27 años. Mientras más temprana sea la edad del primer embarazo, menor riesgo de desarrollar cáncer de mama. Algunos estudios sugieren que la lactancia disminuye el riesgo de cáncer de mama, pero siempre que ésta sea prolongada (1,5-2 años). El riesgo se reduce en 4,3% por cada 12 meses de lactancia.

- *Factores hormonales exógenos*: el tratamiento hormonal sustitutivo para tratar los síntomas de la menopausia está claramente desaconsejado; sólo se debe valorar su administración en mujeres sin antecedentes de cáncer de mama y con síntomas severos. Se ha demostrado un incremento individual del riesgo de 0,3%. Este aumento del riesgo se relaciona más con la terapia sustitutiva que combina estrógenos y progestágenos, y cuando el tratamiento es de larga duración (más de 15 años).
- *Factores dietéticos y ejercicio físico*: se puede decir que disminuye el riesgo una dieta rica en fibra y el ejercicio realizado de forma regular [18]; y que aumenta el riesgo la obesidad y el consumo de alcohol. Un posible mecanismo por el cual la obesidad incrementa el riesgo, podría ser el elevado nivel de estrógenos endógenos en las mujeres obesas, debido a que el tejido adiposo es una importante fuente de estrógenos.

- *Tabaco*: no está muy bien definido el efecto sobre el riesgo de cáncer de mama, pero parece estar aumentado tanto para las fumadoras activas como las pasivas.
- *Radiaciones ionizantes*: la exposición a éstas está relacionado con un mayor riesgo a padecer cáncer de mama, especialmente si la exposición se produjo antes de los 40 años de edad. En cuanto a la edad de mayor susceptibilidad a las radiaciones ionizantes, en relación con el cáncer de mama, es entre los 10 y 14 años. Las radiaciones ionizantes más dañinas son por accidentes nucleares y por tratamientos con radioterapia en el área de la mama.

Otros factores considerados como inciertos, ya que no existe evidencia de relación con el cáncer de mama, serían: desodorantes antitranspirantes, cafeína, consumo de fitoestrógenos, implantes de mamas, consumo prolongado de antiinflamatorios, aros de sujetador, golpes en mamas, telefonía móvil y depilación por láser de axilas.

1.4. DIAGNÓSTICO PRECOZ

El objetivo de la realización de diagnósticos precoces, es detectar de forma temprana lesiones que pueden aparecer en la mama, en ocasiones incluso en fases premalignas, cuando la paciente no presenta síntomas.

Es en estos momentos iniciales de la enfermedad, cuando los tratamientos aplicados pueden ser menos agresivos y con mayor posibilidad de éxito. La manera más habitual de detectar el cáncer de mama de forma

precoz es la autoexploración mamaria y la mamografía. La primera es un método poco eficaz ya que no permite detectar tumores pequeños, que sí serían diagnosticados con una mamografía.

En la Comunidad de Madrid se viene manteniendo desde 1999 un Programa Regional para la Detección Precoz de Cáncer de Mama, para las mujeres con edades comprendidas entre los 45 y 69 años de edad. El proceso de cribado no es diagnóstico. En caso de lesión sospechosa en la mamografía, debe realizarse un estudio más completo para confirmar el diagnóstico, y garantizar simultáneamente el tratamiento más adecuado en el tiempo correcto.

La detección precoz, a fin de mejorar el pronóstico y la supervivencia de los casos de cáncer de mama, sigue siendo la piedra angular de la lucha contra este cáncer. El diagnóstico temprano sigue siendo una importante estrategia de detección precoz, particularmente en los países de ingresos bajos y medios, donde la enfermedad se diagnostica en fases avanzadas y los recursos son muy limitados.

1.5. CLASIFICACIÓN

El diagnóstico definitivo se hace en base a la muestra obtenida por biopsia. Se analiza el aspecto de la pieza, se define el tumor, y se establece algunos aspectos importantes para determinar el pronóstico y respuesta a determinados tratamientos.

Tradicionalmente, el cáncer de mama se ha clasificado atendiendo a las características clínico-patológicas del tumor, a la clasificación TNM y al tipo y

grado histológico. Para después ir incorporando los receptores hormonales de estrógeno, progesterona y la expresión de HER2/neu, por su implicación terapéutica.

1.5.1. TIPO HISTOLÓGICO

El cáncer de mama puede originarse en distintas áreas de la misma: los conductos galactóforos (*carcinomas ductales*), los lobulillos (*carcinoma lobulillar*) o en el tejido intermedio. La mayoría de los tumores de mama son carcinomas, un tipo de cáncer que comienza en las células epiteliales que revisten los órganos y tejidos internos. Los carcinomas pueden ser "in situ" (no invasivos, se mantienen en el tejido de origen); o invasivos, cuando se propagan hacia los tejidos mamarios que los rodean.

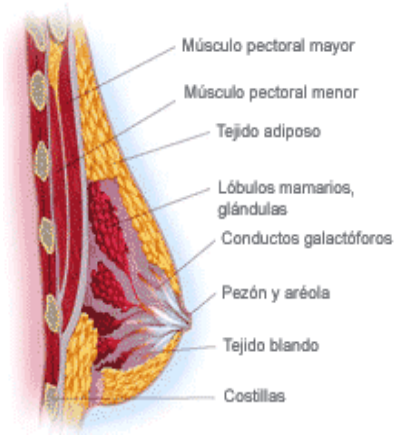

Figura 7. *Anatomía de la mama.*

La clasificación del cáncer de mama según la OMS, es:

- *Carcinomas de mama invasivos*: carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobulillar invasivo, carcinoma tubular, carcinoma cribiforme invasivo, carcinoma medular, carcinoma mucinoso, carcinoma papilar y micropapilar invasivo, carcinoma apocrino, carcinoma metaplásico, carcinoma secretor, carcinoma inflamatorio, carcinoma sebáceo.
- *Carcinomas no invasivos*: carcinoma ductal "in situ" (el tipo comedo parece tener la probabilidad más alta de convertirse en invasivo), carcinoma lobulillar "in situ", carcinoma de mama microinvasivo.
- Tumores del pezón: enfermedad de Paget, enfermedad de Paget con carcinoma intraductal, enfermedad de Paget con carcinoma ductal invasor.

Los tipos más comunes de cáncer de mama son el carcinoma ductal invasivo y el carcinoma lobulillar invasivo , representan aproximadamente el 70-85% [19] y 5-10% de los cánceres de mama, respectivamente.

1.5.2. GRADO

El grado puede ayudar a predecir el pronóstico de una mujer. En general, un grado con un número menor indica un cáncer con crecimiento más lento; mientras que un número mayor, indica un cáncer de crecimiento más rápido y que se propaga con mayor probabilidad.

El grado de tumor es un elemento a considerar en la decisión de administrar tratamiento adicional tras la cirugía.

- *Grado 1*, o bien diferenciado.
- *Grado 2*, o moderadamente diferenciado.
- *Grado 3*, o pobremente diferenciado.

Al carcinoma ductal "in situ" también se le asigna un grado, pero éste es en función del grado nuclear o como lucen de anormales las células. También se tiene en cuenta la presencia de necrosis. Se usa el término de comedocarcinoma para describir un carcinoma ductal "in situ" con necrosis prominente. Si el túbulo está lleno de células muertas o en proceso de morir, se denomina comedonecrosis. Comedocarcinoma y comedonecrosis, son términos asociados a un grado más alto de carcinoma ductal "in situ".

1.5.3. PLOIDÍA Y TASA DE PROLIFERACIÓN CELULAR

La ploidía de las células cancerosas se refiere a la cantidad de ADN que contienen. Las pruebas de ploidía pueden ayudar a determinar el pronóstico, pero pocas veces cambian el tratamiento y son consideradas como opcionales.

La tasa de división de células cancerosas se puede calcular por la fracción de células que se encuentran en fase S, o por la prueba Ki-67. Si cualquiera de estas pruebas resultan altas, significa que las células cancerosas se están dividiendo más rápidamente, lo que indica que hay un cáncer más agresivo.

1.5.4. ESTADIAJE

El sistema *TNM* de estadificación del American Joint Committee on Cancer, proporciona una estrategia para agrupar a los pacientes según el pronóstico. La *T*, hace referencia al tamaño del tumor o infiltración local del mismo; la *N,* hace referencia a la afectación de los ganglios linfáticos; la *M*, hace referencia a la afectación de otros órganos.

Según lo anterior, el cáncer de mama se agrupa en las siguientes etapas o estadios [20]:

Estadio 0: no existe prueba de tumor primario.

Tis: carcinoma "in situ" (ductal "in situ", lobulillar "in situ", enfermedad de Paget del pezón que no está relacionado con carcinoma invasivo o carcinoma "in situ").

Estadio I: Ia (T1N0M0) y Ib (T0/1N1miM0). El tamaño del tumor es inferior a dos centímetros. Puede haber, o no, afectación de ganglio(s) ipsilateral movible; pero no metástasis a distancia.

Estadio II: tamaño del tumor entre 2 y 5 cm, con o sin afectación de ganglios axilares. Se subdivide en estadio IIa (T0N1M0 o T1N1M0 o T2N0M0), y en estadio IIb (T2N1M0 o T3N0M0).

Estadio III: tamaño del tumor mayor de 5 cm, y afecta a ganglios axilares y/o piel y pared torácica (músculos o costillas). Se subdivide en estadio IIIa (T0-2N2M0 o T3N1-2M0), y estadio IIIb (T4N0-2M0), y estadio IIIc (T0-4N3M0).

Estadio IV: el cáncer se ha diseminado afectando a otros órganos (cualquier T, cualquier N, M1).

1.5.5. CARACTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

En la práctica clínica, la determinación mediante técnicas de inmunohistoquímica de la expresión de receptores hormonales y de la oncoproteína HER2/neu, se ha convertido en una herramienta indispensable para la clasificación y el tratamiento del cáncer de mama.

Los cánceres de mama se pueden agrupar en base a la presencia o ausencia de receptores hormonales y de proteína HER2/neu.

- *Receptores de estrógeno y progesterona*: las células normales y algunas células cancerosas tienen receptores de unión a los estrógenos y/o progesterona. Las células cancerosas pueden tener uno o ambos receptores. Estas dos hormonas fomentan, a menudo, el crecimiento de las células cancerosas. Las pruebas para ver la presencia de receptores se hace a todos los cánceres invasivos y a los carcinomas ductales "in situ".
- *Proteína HER2/neu*: los cánceres de mama que contienen una cantidad muy elevada de una proteína promotora del crecimiento llamada HER2/neu, se les denomina HER2 positivos. Tienen demasiadas copias del gen HER2/neu, lo que resulta en mayores cantidades de proteína de lo normal. Estos cánceres tienden a ser más agresivos, crecen y se propagan con más rapidez que los otros cánceres de mama. De ahí la importancia de realizar esta prueba a todos los cánceres invasivos, además de beneficiarse del tratamiento con medicamentos dirigidos contra la proteína HER2/neu como el Trastuzumab (Herceptin®) y Lapatinib (Tykerb®).

La clasificación del cáncer de mama en función de su perfil molecular [21]:

- **Subtipo Luminal A**: RE (+) y/o RP (+, ≥20%), HER2/neu (-), Ki-67<20%. Es el subtipo más común (aproximadamente un 50-60% de todos los cánceres de mama) y menos agresivo, bajo grado histológico. Respuesta hormonal. Buen pronóstico. Asociado a incremento de edad. Pueden presentar alteraciones en los genes *BRCA1/2*.
- **Subtipo Luminal B**: RE (+) y/o RP (+/-), HER2/neu (+/-), Ki-67≥20%. Presenta un grado histológico moderado-bajo. Similar al subtipo luminal A, aunque con pronóstico intermedio. Es más frecuente ver RE (+) y RP (-). Suponen, aproximadamente, entre un 10-20% de todos los tumores de mama. Pueden presentar alteraciones en los genes *BRCA1/2*.
- **HER2/neu (+); RE (-)**: RE (-) y/o RP (-), HER2/neu (+): Es un subtipo menos común pero altamente agresivo, con alto grado histológico. Riesgo mayor en mujeres menores de 40 años y de etnia afroamericana. Pronóstico malo, aunque se ha conseguido mejorar el mismo y la supervivencia de estas pacientes con el Trastuzumab [20,22]. Representan, aproximadamente, un 10-15% de todos los tumores de mama. No suelen presentar mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*.
- **"Basal- like"**: RE (-) y/o RP (-), HER2/neu (-), CK 5/6 (+++) y/o EGFR (+++). Subtipo agresivo, con alto grado histológico e índice mitótico. Se diagnostican con más frecuencia en mujeres jóvenes, y están sobre-representados en determinadas poblaciones como las mujeres afro-americanas. Presentan mal pronóstico, con recaídas entre los 3-5 años.

Suponen, aproximadamente, entre un 10-20% de todos los tumores de mama. Subtipo asociado a las mutaciones en *BRCA1*.

- **"Normal-breast":** RE (-/+), HER2/neu (-), CK5/6 (++), EGFR (++). Grado histológico bajo. Pronóstico intermedio. Suponen, aproximadamente, entre 5-10% de todos los tumores de mama.
- **"Claudin-low":** RE (-), RP (-), HER2/neu (-), CK5/6 (+/-), EGFR (+/-). Presenta alto grado histológico y pronóstico malo. Representa, aproximadamente, entre un 12-14% de todos los tumores de mama.

Es importante señalar que la mayoría de los tumores TN (hasta un 80%) se engloban dentro del subtipo "basal-like", en base a perfiles génicos de expresión. Pero no son términos completamente equiparables, ya que algunos tumores TN se engloban dentro de otras clasificaciones moleculares como "normal-breast" o "claudin-low". Además, aproximadamente el 40% de los tumores "basal-like" no presentan fenotipo TN.

1.6. FACTORES PRONÓSTICOS

En pacientes con cáncer de mama se utilizan diferentes aspectos clínicos y patológicos con carácter pronóstico, y en función de algunos de estos factores se han elaborado índices para categorizar el riesgo [23].

Los factores pronósticos más importantes son [24-26]:

- *Edad*.

- *Tamaño tumoral*: es un fuerte indicador pronóstico que también se relaciona con afectación linfática. Los tumores con tamaño comprendido entre 2 y 5 cm, respecto a los de 1 cm, tienen una disminución del 79% de supervivencia a los 10 años.
- *Grado histológico*: los tumores de alto grado histológico tienen peor pronóstico, dependiendo también de la afectación ganglionar y el tamaño (30% de supervivencia los de alto grado frente a 90% los de bajo grado).
- *Afectación ganglionar*: la afectación linfática incrementa entre 4 y 8 veces la mortalidad. A mayor número de ganglios linfáticos afectos, peor pronóstico. Si los ganglios son palpables o están adheridos, el pronóstico es peor. Metástasis ganglionares en mamaria interna, invasión del hueco supraclavicular, afectación extranodal y de los ganglios de tercer nivel, también ensombrecen el pronóstico.
- *Invasión linfovascular y marcadores de angiogénesis tumoral*: cuando existe invasión vascular, se produce un aumento de mortalidad del 60%. Faltan todavía estudios que lo corroboren, pero se cree que tiene factor pronóstico la asociación de afectación linfovascular y presencia de receptores para crecimiento endotelial.
- *Receptores hormonales*: la presencia de estos receptores conlleva un mejor pronóstico en los primeros años, pero no a largo plazo en los tumores operables.
- *Oncogenes y genes supresores de tumores*: las mutaciones en línea germinal en los genes *BRCA1* y *BRCA2* constituye un factor de riesgo para padecer cáncer de mama. La mutación en *p53* se suele asociar a

un peor pronóstico y a tumores triple negativo, como también los altos niveles de activador de plasminógeno, tanto si hay afectación ganglionar como si no la hay. La positividad del oncogén HER2/neu tradicionalmente empeoraba el pronóstico. Hoy se ha mejorado ya que suelen responder al tratamiento con trastuzumab.

- *Índice mitótico*: tumores sin afectación ganglionar, índice mitótico mayor de 10 y menores de 5 cm tienen un 80% de supervivencia a los 10 años. La detección de Ki-67 indica la existencia de células tumorales en proliferación. Es una proteína nuclear que se detecta en células en diferentes fases del ciclo celular (G1, S, G2 y M) pero está ausente en fase G0.
- *Tipo histológico*: no es considerado como factor independiente, y el pronóstico en base al tipo histológico es controvertido en la actualidad. Para lo que sí es excelente, es en los casos de cáncer invasivo cribiforme, tubular, tubulo-tubular y mucinoso, con una supervivencia mayor del 80% a los 10 años. El cáncer de mama inflamatorio presenta, en general, mal pronóstico, con un 28% de supervivencia a los 10 años.
- *Pruebas de patrones genéticos*: Se ha encontrado que el análisis simultáneo de un número de genes diferentes, puede ayudar a predecir si el cáncer de mama en etapa inicial es propenso o no a regresar tras el tratamiento inicial.

Oncotype DX®: puede ser útil para decidir si el tratamiento adyuvante con quimioterapia tras la cirugía, puede ser beneficioso en las mujeres con cáncer de mama con receptores hormonales positivos y en etapa

temprana. Se realiza con más frecuencia en tumores pequeños, de 1 cm o menos, y que no se han propagado a ganglios linfáticos; aunque se puede emplear en tumores más avanzados. La prueba examina un conjunto de 21 genes obtenidos de las células de la muestra del tumor, y se determina una "puntuación de recurrencia" que va desde 0 a 100:

- *Puntuación de recurrencia igual o menor a 17*: bajo riesgo de recurrencia si son tratados con terapia hormonal. Probablemente estas pacientes no se beneficiarán de quimioterapia.

- *Puntuación de recurrencia entre 18 y 30*: riesgo de recurrencia intermedia. Algunas mujeres con estos cánceres podrían beneficiarse con un tratamiento de quimioterapia.

- *Puntuación de recurrencia igual o mayor de 31*: riesgo de recurrencia alto. Las mujeres con estos cánceres, probablemente se beneficien de un tratamiento con quimioterapia además de la terapia hormonal.

Aún así, la prueba no puede indicar con seguridad si una mujer en particular presentará una recurrencia con o sin quimioterapia. Es una herramienta que debe valorarse en conjunto con otros factores, para ayudar a orientar si sería útil administrar más tratamiento.

MammaPrint®: esta prueba se puede usar para determinar la probabilidad de recurrencia en partes distales del cuerpo después del tratamiento inicial. La prueba analiza la actividad de 70 genes diferentes, para determinar si el cáncer es de bajo riesgo o de alto riesgo.

- Otros: presencia de metástasis, recaída antes de los 5 años, localización visceral de ésta y la aparición de un segundo tumor empeoran el pronóstico. Aspectos como el estatus socioeconómico y la raza se han visto relacionados con el pronóstico. Existen factores que tienen que ver con el estilo de vida, como la obesidad, el ejercicio físico y las dietas, ya descritos anteriormente.

El diagnóstico precoz y la correcta estadificación son aspectos importantes. La supervivencia mejora cuando se facilita el acceso a los procedimientos diagnósticos y terapéuticos.

2. CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO

La mayor parte de los cánceres de mama son esporádicos, no hay indicio de una susceptibilidad heredada a padecer la enfermedad. Los cánceres esporádicos se forman fundamentalmente por la existencia de una mutación, o varias, en genes que controlan el crecimiento y la muerte celular, y una vez iniciado evoluciona acumulando mutaciones añadidas en otros genes. Todo esto provoca el crecimiento descontrolado de un clon celular. Estas alteraciones genéticas se producen en células somáticas, sobre todo en genes implicados en la proliferación celular, por lo que no es hereditario.

Sin embargo, diversos estudios han estimado que entre un 5-10% de todos los tumores de mama presentan un componente hereditario, directamente relacionado con mutaciones germinales en genes de transmisión autosómica dominante. Por tanto, la mutación de éstos, está presente en cada una de las células del paciente.

La primera descripción escrita de un cáncer está en el papiro egipcio de Edwin Smith. Éste es el documento médico más antiguo que se conoce con casi 5000 años de antigüedad. En el mismo, se describen 8 casos de cáncer de mama que son tratados con cauterización, aunque el escrito dice que la enfermedad no tenía tratamiento.

La historia del cáncer hereditario comenzó con las observaciones de agrupaciones familiares. La agregación familiar de casos de cáncer de mama se conoce desde la antigüedad. Pero la primera descripción científica fue publicada en 1866 por el médico francés Paul Broca, tras el diagnóstico de cáncer de mama en su esposa. Broca identificó la causa de muerte de 38

miembros de la familia de su mujer a lo largo de 5 generaciones, entre 1788 y 1856. El fallecimiento de 10 de las 24 mujeres, entre las que se encontraban la madre y una de las hermanas de su mujer, por cáncer de mama, le hizo sugerir la presencia de algún factor hereditario de predisposición al cáncer en la familia. En su descripción de 1866 Broca define "la posibilidad de herencia del cáncer en esta familia" [28].

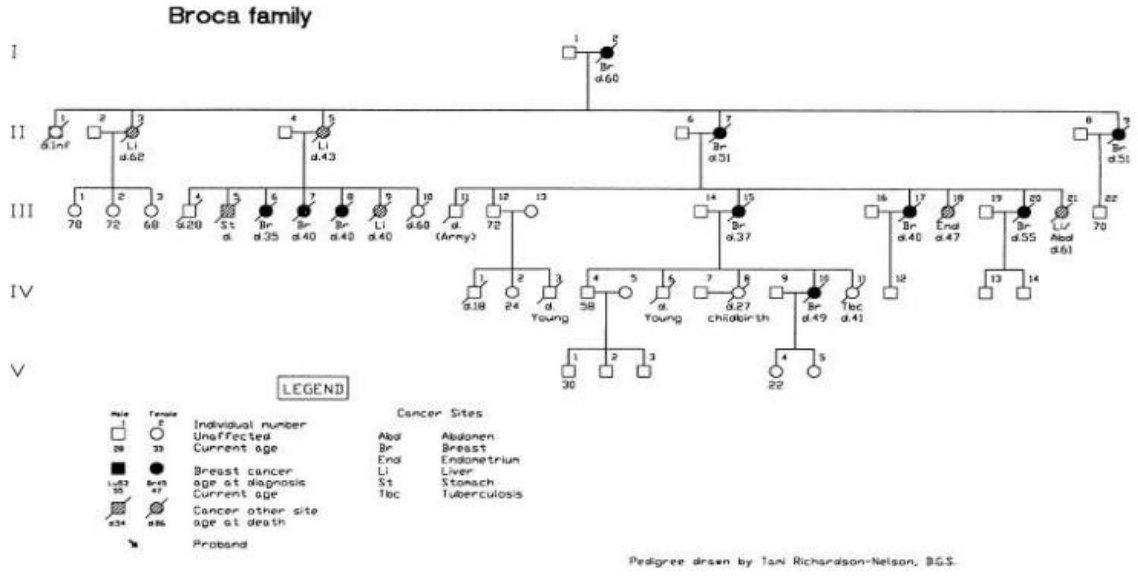

Figura 8. Descripción del primer árbol genealógico con agregación de cáncer de mama.

Este informe fue el primero en describir el árbol genealógico de una familia con cáncer de mama hereditario junto a un cáncer del tracto gastrointestinal.

A mediados del siglo pasado, son numerosos los estudios en los que se recoge la existencia de agrupación familiar de casos de cáncer de mama. En algunos la agregación fue únicamente de casos de cáncer de mama y en

otros, como los de Lynch y colaboradores en 1972 y 1973, en los que los casos de cáncer de mama se acompañaban de otros tipos de cáncer como el de colon, ovario, endometrio, estómago, sarcomas y leucemias [29].

En Suecia, se llevó a cabo un estudio epidemiológico con un total de 2.660 mujeres, entre afectas y controles, en el cual se estimó el riesgo de cáncer de mama asociado a la historia familiar. Se obtuvo un riesgo incrementado de 1,7 de padecer cáncer de mama entre las mujeres que tenían un familiar directo afecto de cáncer de mama [30]. Otro estudio con más de 58.000 casos, que engloba la información procedente de 50 estudios diferentes, confirma que el riesgo de padecer cáncer de mama se incrementa con el número de familiares afectos directos y con la menor edad al diagnóstico de los mismos; sin que los factores ambientales conocidos influyan de manera significativa en el riesgo asociado a una historia familiar de cáncer de mama. El riesgo relativo observado en dicho estudio sería de 1,8; 2,9 y 3,9 con uno, dos o tres familiares afectos de primer grado respectivamente [31].

En los años 80, se alcanzó suficiente evidencia teórica para apoyar la existencia de genes de susceptibilidad al cáncer de mama, con patrón de herencia autosómica dominante. Esta hipótesis se confirmó con el descubrimiento de los genes *BRCA1* (Miki et al, 1994), *BRCA2* (Wooster et al, 1995) y el mapeo (Hall et al, 1990; Wooster et al, 1995).

Actualmente se estima que entre un 5 y 10% de todos los tumores de mama presentan un componente hereditario, directamente relacionado con mutaciones germinales en genes de herencia autosómica dominante. Un 15-20% adicional de individuos afectos, presenta alguna forma de historia

familiar de la enfermedad, aunque sin patrón de herencia claro. Se puede decir que, en términos absolutos, el cáncer de mama hereditario afecta a elevado número de mujeres considerando la alta tasa de incidencia de esta neoplasia en la población general.

Segregando en familias con cáncer de mama, se ha podido subclasificar el cáncer de mama en distintos síndromes, basándose en la presencia de otros tipos tumorales y manifestaciones clínicas.

2.1. Síndrome de cáncer de mama-ovario hereditario (HBOC)

Considerado el síndrome de predisposición al cáncer más frecuente, con una incidencia estimada de 1/500 – 1/2.500. Caracterizado por una agregación familiar múltiple de casos de cáncer de mama y ovario, con un patrón de herencia autosómico dominante. Presenta unas características clínico-patológicas determinadas, como la aparición a edades más tempranas que los esporádicos. No existe una definición que haya sido aceptada de forma generalizada de este síndrome, y distintas sociedades científicas utilizan criterios ligeramente diferentes.

Determinados grupos han establecido una serie de criterios clínicos para identificar a las familias con “Síndrome de cáncer de mama-ovario hereditario”. Estos son, entre otros, el National Comprehensive Cancer Network criteria, el National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), o la Sección de Cáncer Hereditario de la Sociedad Española de

Oncología Médica (SEOM). Los criterios clínicos de la SEOM, son los siguientes:

- Un caso de cáncer de mama diagnosticado antes de los 35 años.
- Un caso de cáncer de mama y cáncer de ovario sincrónico, o metacrónico, en la misma persona.
- Cáncer de mama bilateral, cuando el primero fue diagnosticado antes de los 40.
- Cáncer de mama TN diagnosticado antes de los 50 años.
- Carcinoma de ovario seroso-papilar de alto grado.
- Caso de cáncer de mama en el varón
- Dos casos familiares de cáncer, un caso de cáncer de mama bilateral y un caso de cáncer de mama diagnosticado antes de los 50 años.
- Dos casos de cáncer en la familia, uno de cáncer de mama y otro de cáncer de ovario.
- Dos casos de cáncer de mama en la familia diagnosticados antes de los 50 años.
- Tres casos o más de cáncer de mama y/o cáncer de ovario, diagnosticados en la familia (independientemente de la edad).

2.2. Otros síndromes hereditarios

Existen otros síndromes hereditarios que incrementan la susceptibilidad al cáncer de mama. Sin embargo, estos síndromes incluyen una manifestación fenotípica totalmente característica y diferenciable al “Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario”.

Dentro de estos síndromes se encuentran:

2.2.1. Síndrome de Li-Fraumeni (OMIM#151623)

Se trata de un síndrome autosómico dominante con penetrancia alta. Se describió por primera vez en 1969 por Li and Fraumeni. Afecta a pacientes jóvenes, y consiste en una predisposición a desarrollar un amplio rango de tumores. Los tumores más característicos son los osteosarcomas, sarcomas de tejido blando, cáncer de mama en sujetos jóvenes, leucemias/linfomas, tumores cerebrales, cáncer de glándulas suprarrenales y adenocarcinoma. El tumor más frecuente en estos pacientes es el cáncer de mama.

Las mutaciones germinales en *TP53* son muy raras. Se identifica mutaciones en línea germinal del gen *TP53* en el 70% de las familias con Síndrome de Li-Fraumeni clásico [32], pero son poco frecuentes en familias con Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario.

TP53 (OMIN*191170) es un gen supresor de tumores localizado en el cromosoma 17p13.1, y es el gen mutado más frecuente en los cánceres humanos. La proteína P53 está implicada en múltiples rutas celulares que controlan la proliferación celular, ciclo celular, replicación y reparación del ADN, activación de la apoptosis, senescencia, o cambios en el metabolismo [33].

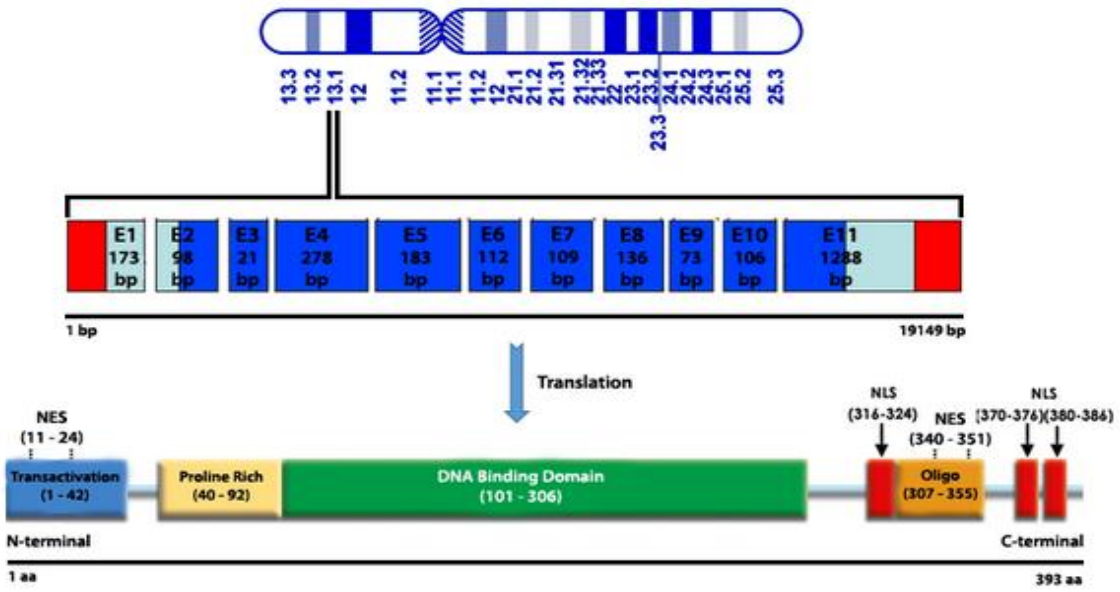

Figura 9. *Estructura del gen y proteína TP53, constituído por 11 exones con 393 aminoácidos.*

Aproximadamente, el 30% de los tumores mamarios presenta mutación somática en el gen *TP53* [34], y suelen asociarse a tumores más agresivos y de peor pronóstico [35].

El síndrome de Li-Fraumeni representa únicamente el 1% de los cánceres de mama hereditarios, con una edad media al diagnóstico de 33 años.

2.2.2. Síndrome de Cowden (OMIN #158350)

El síndrome de Cowden es un desorden poco común, de herencia autosómica dominante. Es una genodermatosis, caracterizada por la presencia de múltiples hamartomas en diversos tejidos, y un alto riesgo de padecer cáncer de mama, tiroides, endometrio, colon y riñón.

Se cree que el 25% de los casos de síndrome de Cowden está causado a mutaciones germinales en el gen *PTEN* (OMIN +601728). Este gen supresor de tumores está localizado en el cromosoma 10q23. Codifica la proteína PTEN, una fosfatasa lipídica que inhibe la cascada de transducción de señales PI3k/Akt, implicada en el crecimiento, proliferación y supervivencia tumoral. El principal efecto de la pérdida de *PTEN* parece ser un aumento de la proliferación y una disminución de la apoptosis. *PTEN* regula también la estabilidad de la proteína TP53. Después de *TP53*, es el gen supresor más frecuentemente mutado a nivel somático en cáncer [36].

Cuando el síndrome de Cowden va asociado a mutaciones germinales en *PTEN*, pertenece al grupo del "*Síndrome tumoral hamartomatoso asociado a PTEN*" (PHTS); que incluye otras entidades como el síndrome de Proteus, síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba y síndrome SOLAMEN.

La prevalencia del síndrome de Cowden no es bien conocida, pero se estima en 1/200.000. Cifra probablemente subestimada dada la dificultad para el diagnóstico de esta enfermedad, dado su fenotipo altamente variable [37].

Se estima que el riesgo de padecer cáncer de mama es del 85% en mujeres con el síndrome. Aproximadamente entre el 25-50% de las mujeres afectas por este síndrome padecerán cáncer de mama [38]. Se le considera como gen de alta penetrancia en la susceptibilidad al cáncer de mama.

Las dos siguientes entidades están claramente asociadas a un mayor riesgo de cáncer de mama, pero la magnitud del riesgo es incierta. No existe evidencia de que las mutaciones germinales en *STK11*/*LKB1* y *CDH*1 sean

causa de cáncer de mama hereditario, en ausencia de las características diagnósticas de estos síndromes. Por lo que el riesgo atribuible es bajo.

2.2.3. Síndrome de Peutz-Jeghers (OMIN#175200)

El síndrome de Peutz-Jeghers es una poliposis hamartomatosa de todo el tracto digestivo, asociada a máculas melanocíticas en mucosa bucal, área anal y en los dedos. Se transmite por herencia autosómica dominante, y su incidencia se estima en 1/120.000 – 1/150.000 personas. Se asocia a un riesgo aumentado a varias neoplasias, entre las que destacan tumores gastrointestinales, cáncer de páncreas, tiroides, pulmón, ovario y mama.

El gen *STK11/LKB1* (OMIN *602216) está localizado en el gen 19p13.3, y da lugar a un transcrito de 1,3 Kb que codifica una serina-treonina-kinasa de 434 aminoácidos, que actúa como supresor tumoral. Las mutaciones germinales de este gen son las responsables de la enfermedad en el 70% de las familias [39]. Considerado como gen de alta penetrancia a la susceptibilidad al cáncer de mama.

2.2.4. Síndrome de cáncer gástrico difuso hereditario (OMIN #137215)

Este síndrome hereditario aumenta significativamente el riesgo de padecer cáncer gástrico difuso. Los individuos con este síndrome tienen un riesgo de desarrollarlo, a lo largo de la vida, de aproximadamente 70- 80%. Las mujeres con este síndrome tienen también un riesgo aumentado de

padecer cáncer de mama, especialmente del subtipo lobulillar, que se cifra aproximadamente en un 40% [40].

Mutaciones germinales del gen *CDH1* (OMIN *192090) se consideran la causa de este síndrome, desorden que se transmite con herencia autosómica dominante y penetrancia incompleta. El gen *CDH1* está localizado en el cromosoma 16q22.1, y codifica una proteína de 882 aminoácidos denominada E-cadherina. Juega un papel fundamental en el mantenimiento de la diferenciación celular y la arquitectura normal de los tejidos epiteliales.

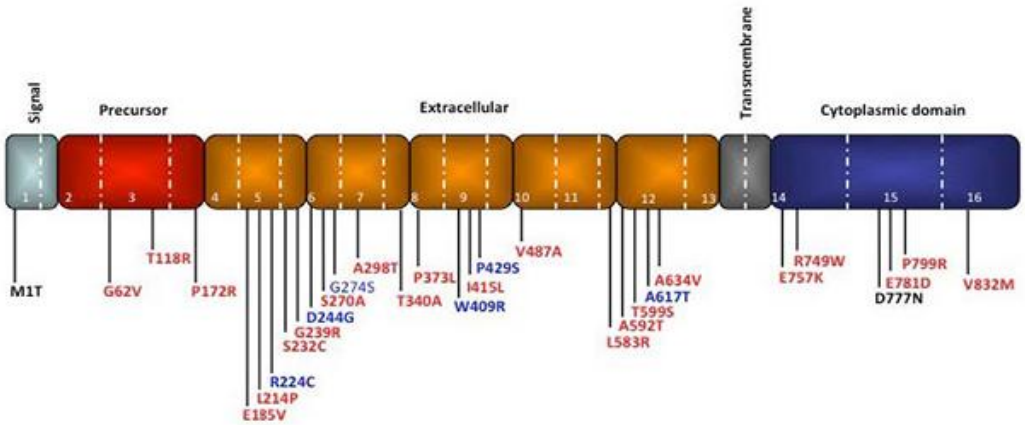

Figura 10. *Estructura del gen CDH1, constituído por 10 exones que ocupan 100 kb de ADN genómico. Las mutaciones en rojo son identificadas en casos hereditarios/familiares, en azul los casos esporádicos de cáncer gástrico y en negro las de riesgo familiar indefinido. (Corso et al, OA Cáncer 2013).*

Se ha reportado de manera anecdótica, la existencia de una mutación deletérea en CDH1 en un grupo de 23 mujeres con cáncer de mama lobulillar y con antecedentes de familiares con cáncer de mama, pero sin asociación con cáncer gástrico difuso en la familia [41].

2.2.5. Ataxia telangiectasia (OMIN#208900)

La ataxia-telangiectasia es un síndrome autosómico recesivo complejo de afectación multisistémica, que se caracteriza por ataxia cerebelosa progresiva, apraxia oculomotora, coreoatetosis, telangiectasias cutáneas y oculares, retraso en el crecimiento, inmunodeficiencia variable con susceptibilidad a infecciones, hipersensibilidad a radiaciones ionizantes y predisposición a ciertos tipos de cáncer. Afecta por igual a ambos sexos, y su incidencia probable es de 1/100.000 nacidos vivos, sin preferencias por razas o regiones geográficas.

En 1995, se identificó el gen *ATM* (OMIN *607585) como responsable de esta enfermedad en homocigosis, y localizado en el cromosoma 11q22-23. La proteína ATM juega un papel muy importante en la reparación de las rupturas de la doble cadena de ADN, además de actuar sobre el control del ciclo celular, transcripción genética y apoptosis. La actividad quinasa de ATM es responsable de la fosforilación de otras proteínas como p53, BRCA1 y CHECK-2.

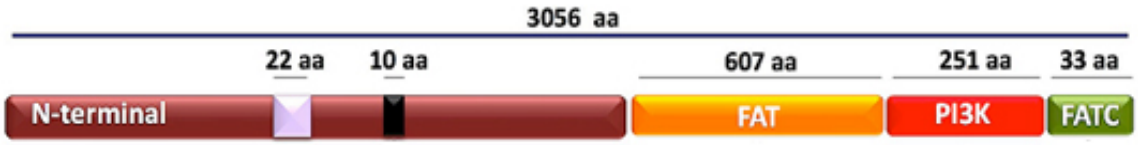

Figura 11. *Estructura y dominios de la proteína ATM. Dominio FATC de interacción con la histona Tip60HAT, necesaria para la completa activación de ATM; Dominio FAT, de autofosforilación para interacción con sustratos; Extremo N-terminal con una región de 10 aminoácidos de interacción con c-Abl y otra región con 22 aminoácidos de dimerización e interacción con sustratos. (Modificado de Khalil et al, Biodiscovery Journal 2012).*

Aunque la ataxia-telangiectasia es una enfermedad rara, la incidencia de portadores (heterocigotos) de mutación en el gen *ATM* en la población general se estima del 1,4-2% [42, 45], y aunque no presenten rasgos clínicos de la enfermedad, tienen mayor riesgo de mortalidad (7-8 veces superior a la población general) a causa de cardiopatía isquémica o cáncer, en particular cáncer de mama y posiblemente cáncer de colon [42, 43, 44].

Actualmente no hay ninguna duda al afirmar que las mutaciones en *ATM* son un factor de riesgo para desarrollar cáncer de mama, pero el nivel de riesgo asociado a estas mutaciones es controvertido [46, 47]. Además, hay muy poca experiencia en el papel del gen *ATM* en familias de alto riesgo para cáncer de mama hereditario sin mutación en *BRCA1* y *BRCA2*.

2.2.6. Anemia de Fanconi

La anemia de Fanconi es un trastorno hereditario en la reparación del ADN, caracterizado por pancitopenia progresiva con insuficiencia de la médula ósea, malformaciones congénitas variables y predisposición a desarrollar tumores sólidos o hematológicos. Su causa es heterogénea, con patrones de herencia tanto autosómicos como ligados al cromosoma X. Se han identificado 15 genes implicados [48], y se estima la frecuencia de portadores heterocigotos de 1/300 [49].

Mutaciones en un grupo de genes que conforman la familia *FANC* pueden causar la enfermedad, a raíz de la inestabilidad cromosómica que se produce. La esperanza de vida de estos pacientes no sobrepasa la edad infantil, aunque esto ha mejorado mucho con el trasplante de médula ósea.

En los pacientes con anemia de Fanconi que sobreviven a la edad adulta, se observa un posterior incremento a tumores sólidos, sin embargo no se ha demostrado un riesgo específico para cáncer de mama. Mientras que en individuos heterocigotos para mutaciones en los genes de anemia de Fanconi, se ha demostrado un riesgo incrementado de cáncer de mama, con una tasa de incidencia estandarizada de 1.7 [50]. De hecho, se ha demostrado la relación existente entre la familia de proteínas *FANC* y el cáncer de mama, tras la identificación de *BRCA2* como *FANCD1* [51].

2.3. GENES DE SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CÁNCER DE MAMA

En base a lo anteriormente descrito, se puede afirmar que el cáncer de mama posee una alta heterogeneidad genética. Los genes de susceptibilidad genética en línea germinal, se pueden clasificar en tres grupos [52]:

1. *Genes de alto riesgo y baja frecuencia*: suponen aproximadamente entre el 20-25% del componente genético del riesgo del cáncer de mama. Se identifican mediante análisis de ligamiento y clonación posicional, en familias con varios afectados por cáncer de mama. Destacan los genes: *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*, *STK11/LKB1*, *CDH1*, *RAD51C*. La frecuencia de portadores de mutaciones en estos genes es muy baja (≤0.1%), pero el riesgo que confieren de padecer cáncer es elevado (≈ 10 veces el riesgo relativo de la población general).

2. *Genes moderado riesgo y baja frecuencia*: juntos suponen alrededor del 2-3 % del componente genético de riesgo familiar de cáncer de mama [53]. Se identifican mediante estudio de genes candidatos, por su interacción con *BRCA1/2* o su participación en vías de reparación del ADN. En este grupo encontramos a los genes *ATM*, *CHECK2, PALB2*, *BRIP1*. La frecuencia de portadores de mutaciones en estos genes es baja (≤ 1%), y confieren un riesgo moderado de padecer cáncer (2-4 veces el riesgo relativo de la población general). Sus efectos se deben interpretar en el contexto de un modelo poligénico.

3. *Genes de bajo riesgo y elevada frecuencia*: estos genes se identifican mayoritariamente mediante estudios de GWAS (Genomic-Wide Association Scans), de cientos de miles de SNPs en amplias series de miles de casos de cáncer de mama y controles. Confieren bajo riesgo de cáncer de mama. Aunque el riesgo aumentaría cuando se combina con otros polimorfismos actuando de manera sinérgica, o con mutaciones patogénicas en otros genes. Se han descrito 27 loci de susceptibilidad frecuentes a la población general, y que contribuirían en la etiología del cáncer de mama hereditario en la población europea en un 8% [54], aunque otros artículos sitúan esta cifra en un 14% [55].

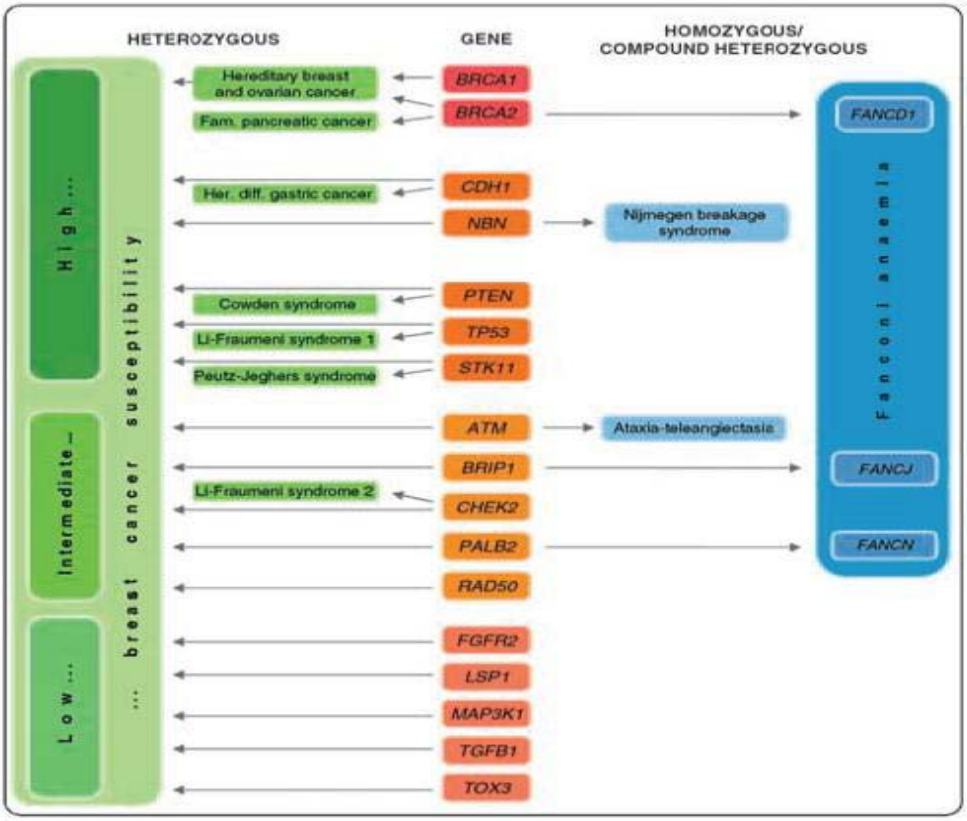

Figura 12. *Correlación genotipo-fenotipo de mutaciones monoalélicas y bialélicas en los genes de predisposición al cáncer de mama y portadores de SNPs de bajo riesgo [56].*

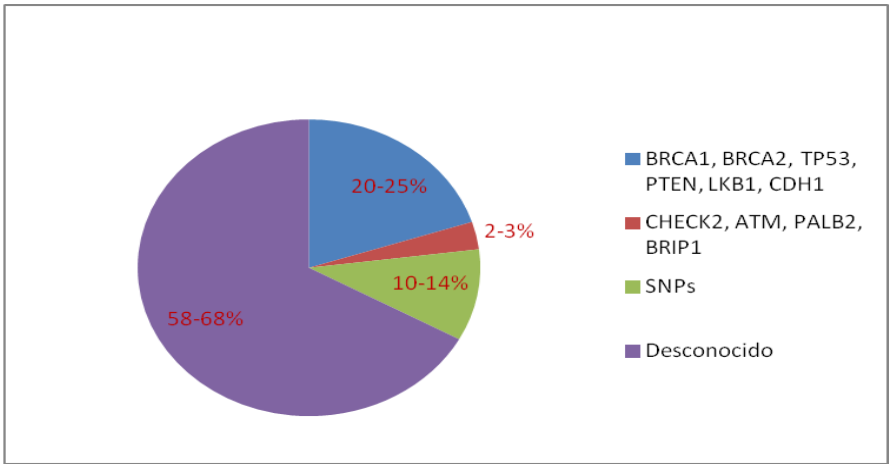

Figura 13. *Porcentaje de casos de cáncer de mama hereditario explicados por los genes/loci de susceptibilidad actualmente conocidos [57].*

Tras el descubrimiento de los genes *BRCA1* y *BRCA2*, se esperaba que estos genes explicasen toda la carga genética del cáncer hereditario. Pero esto no ha sido así, las mutaciones en estos genes únicamente explican el 15-20% de todos los casos. Mediante estudios de ligamiento se ha tratado de buscar el gen *BRCA3*. Valorando los grandes esfuerzos invertidos en la búsqueda de este supuesto gen, se asume que si existiese un gen con la frecuencia y penetrancia similar a la de los genes *BRCA1* y *BRCA2*, ya se habría encontrado. A raíz de esto surgen varias hipótesis. Por una parte, se considera la existencia de genes con una penetrancia similar a *BRCA1/2* pero con una frecuencia mucho menor, y que individualmente sólo explicaría una baja proporción de casos familiares. Otra sería la existencia de mutaciones que influenciasen la susceptibilidad al cáncer de mama de una manera más compleja, incluyendo interacciones entre genes o gen-ambiente.

Actualmente se asume que la susceptibilidad genética al cáncer de mama se adapta a un modelo poligénico. Dicho modelo explicaría la mayoría del exceso de riesgo familiar, observado por la combinación de variantes de riesgo que se acumularían en estas familias, y serían las responsables de la susceptibilidad al cáncer de mama [58]. Cada variante contribuiría con distinto grado de penetrancia y frecuencia. Así, a medida que disminuye la penetrancia de una variante, será necesario mayor número de variantes para conseguir el mismo nivel de riesgo. Por lo que variantes de alta penetrancia estarán presentes en familias con un patrón de herencia mendeliana, mientras que los patrones de herencia familiar se alejarán de la herencia mendeliana a medida que disminuya la penetrancia de las mismas.

2.4. PRINCIPALES GENES DE SUSCEPTIBILIDAD AL CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO: *BRCA1* y *BRCA2*

Actualmente, *BRCA1* y *BRCA2* son los principales genes de alta penetrancia implicados en la susceptibilidad al cáncer de mama.

El estudio de familias consideradas de alto riesgo, con patrón claro de herencia autosómica dominante, por análisis de ligamiento, permitió la localización e identificación de dos genes de susceptibilidad de alta penetrancia: el gen *BRCA1* localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21.31), clonado y caracterizado en 1994; y el gen *BRCA2*, localizado en el cromosoma 13 (13q12.3) y caracterizado en 1995 en familias con casos de cáncer de mama masculino y sin ligamiento a 17q.

El gen *BRCA1* (OMIN#113705) es un gen de gran tamaño con 5.592 nucleótidos repartidos en 24 exones (22 exones codificantes y 2 exones que corresponden a sitios alternativos de la transcripción), se extiende a lo largo de 100 kb de ADN genómico. El mRNA transcrito es de 7,8 kb y abunda en numerosos tejidos, entre ellos mama y ovario, y se traduce a una proteína de 1.863 aminoácidos.

El gen *BRCA2* (OMIN#600185) es aún mayor. Se compone de 11.385 nucleótidos repartidos en 27 exones, 26 de los cuales codifican una proteína de 3.418 aminoácidos, a lo largo de unas 70 kb de ADN genómico. El transcrito, de unas 12 kb, se halla presente en mama, ovario, placenta, testículo y timo.

Ambos genes poseen exones centrales muy grandes. El exón 11 en el caso de *BRCA1*, y los exones 10 y 11 en el caso de *BRCA2* (codifican aproximadamente el 60% de toda la proteína) [58,59].

2.4.1. Estructura de las proteínas BRCA1 *y* BRCA2

Las proteínas BRCA1 y BRCA2 presentan una estructura compleja con escasa homología entre sí y con otras proteínas conocidas.

La proteína BRCA1 contiene en su extremo amino terminal un dominio "ring" de unión a zinc altamente conservado. Éste es responsable de la actividad E3 ubiquitina ligasa y está implicado en la ubiquitinización, e interacciona con proteínas como BARD1. La proteína BRCA1 contiene señales de localización nuclear, es capaz de fosforilarse e interacciona con RAD51, p53, RB, c-Myc. Participa en distintas formas de reparación del ADN, actuando junto al complejo multiproteico RAD50-MRE11-NBS1. La región central de BRCA1 posee un sitio de fosforilación por CHECK2. El extremo carboxilo terminal interacciona con diversas proteínas (entre ellas BRCA2, PALB2, ATM), y contiene el dominio BRCT con capacidad de activar la transcripción de otros genes.

Así, BRCA1 parece desempeñar un papel crucial en la reparación del ADN y actuar en múltiples procesos.

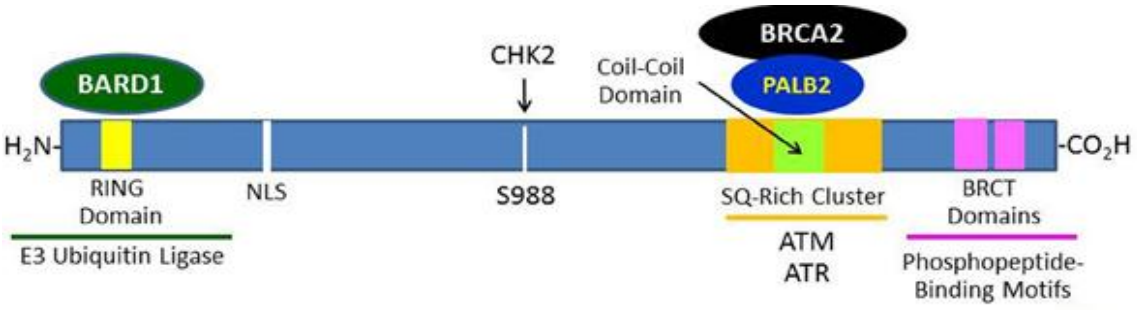

Figura 14. *Dominios de BRCA1. Imagen adaptada de Rosen M, [62].*

La proteína BRCA2 no posee motivos reconocibles ni relación aparente con BRCA1, pero se observan similitudes funcionales, que sugieren una asociación entre las mutaciones en ambos genes y el cáncer de mama y ovario hereditario. Se localiza en el núcleo y posee residuos fosforilables. Presenta dos dominios relevantes, el dominio de unión al ADN y el dominio BCR. En el extremo carboxilo terminal, se encuentra el dominio de unión al ADN formado por 800 aminoácidos. Este dominio está involucrado en la unión del ADN de cadena sencilla y en la interacción con la proteína DSS1 (interacción que incrementa la estabilidad de BRCA2). El domino BCR está formado por ocho copias de una secuencia de 30 a 80 aminoácidos (repeticiones BCR) en el exón 11 del gen. Este dominio interacciona con RAD51 y, a través de la mutua asociación con esta proteína, BRCA1 y BRCA2 actúan juntas en lugares de síntesis de ADN una vez que éste ha sido dañado. BRCA2 está implicada en la reparación del ADN regulando la actividad de RAD51. El extremo amino terminal se ha visto implicado en la regulación de la transcripción, y además es lugar de interacción con otras proteínas, entre otras PALB2. Posee actividad acetiladora de histonas, dato que reafirma su

participación en la reparación del ADN y transcripción del ARN. También podría estar involucrada en otros procesos celulares [58,61].

Figura 15. *Dominios de BRCA2. Imagen adaptada de Gudmundsdottir and Ashworth [63].*

A partir de la identificación de estos genes, se ha podido ofrecer a las familias afectadas por cáncer de mama hereditario la posibilidad de realizar un análisis genético, con el fin de identificar a los individuos con alto riesgo. Y así, recibir consejo genético y beneficiarse de las herramientas de prevención, técnicas de detección precoz, de seguimiento y de tratamiento adecuadas.

2.4.2. Función de las proteínas BRCA1 y BRCA2

La integridad del genoma está amenazada continuamente, tanto por factores externos (como radiaciones ionizantes y productos químicos), como por factores internos (como inestabilidad intrínseca del ADN y productos del metabolismo).

Destacan por su letalidad las amenazas que producen rotura de las dos hebras de ADN (DSB). Dando lugar a la aparición de nuevos extremos y pérdida de continuidad del genoma, pudiendo tener efectos catastróficos en la supervivencia celular [65]. Existe una correlación directa entre la aparición

de DSB y el aumento de la inestabilidad genómica [66]. Ésta misma es una característica esencial de las células tumorales, en las que se manifiesta en muchos casos como aberraciones cromosómicas que conllevan amplificación, pérdida o translocación de fragmentos génicos. Y estos reordenamientos génicos pueden llevar a la activación de protooncogenes o a la inactivación de genes supresores de tumores.

Las células tumorales poseen alteraciones en los mecanismos celulares de reparación del daño del ADN, y de esta manera favorecen la inestabilidad genómica y la acumulación de alteraciones en el mismo. Una única rotura en el ADN de doble cadena es suficiente para provocar la muerte celular por apoptosis [65]. Se estima que en cada célula de una persona de 70 años de edad, aproximadamente tiene 2.000 DSB a lo largo de su vida [67].

Los organismos han desarrollado sistemas de reparación del ADN. Los mecanismos de reparación de estas roturas se pueden llevar a cabo por dos vías: la de la *recombinación homóloga* (HR), y la de *unión de extremos no homólogos* (NHEJ). Ambos mecanismo no son excluyentes, trabajan de forma conjunta [68]. Estos mecanismos constan de tres tipos de moléculas: *moléculas sensoras,* capaces de detectar el daño en el ADN y transmitir una señal; *moléculas efectoras*, que son las que reparan el daño; y las *moléculas mediadoras*, que son las que facilitan la interacción entre las dos anteriores. Finalmente, si la célula no puede reparar el daño debe comenzar el proceso de muerte celular programada por apoptosis.

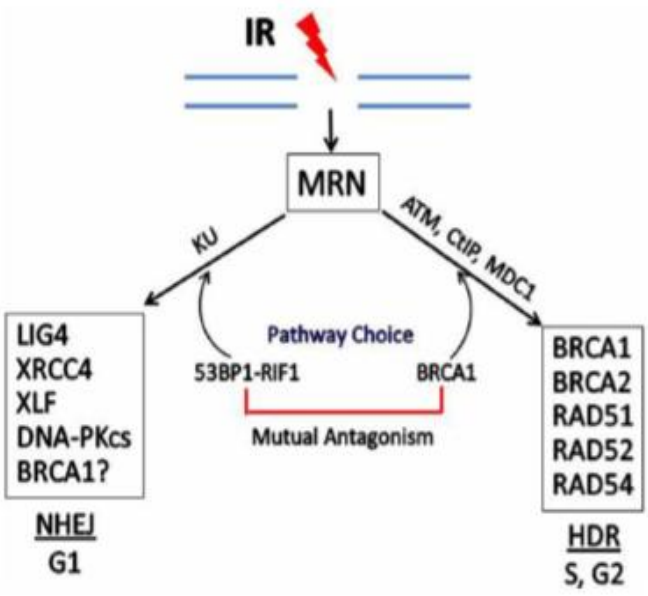

Figura 16. *Reparación de la doble cadena de DNA por recombinación homóloga (HR) o unión de extremos no homólogos (NHEJ). Imagen adaptada de Rosen E, 2013 [62].*

En el caso de los genes *BRCA1* y *BRCA2* pertenecen al grupo de genes supresores de tumores. El proceso principal en el cual se hallan ambas proteínas es en la reparación de roturas en el ADN de doble cadena. El papel de BRCA1⁄2 en la recombinación homóloga ha sido extensamente detallado. El daño en el ADN sería reconocido por las quinasas ATM y ATR (*moléculas sensoras*), la mediación de las señales por CHECK2 y BRCA1 (*moléculas mediadoras*) y la reparación final por BRCA2 y RAD51 (*moléculas efectoras*).

BRCA1, además de participar en la reparación del ADN, interactúa con muchas proteínas participando en múltiples procesos como señalización del ciclo celular, regulación de la transcripción, remodelación de la cromatina y ubiquitinación de proteínas [69]. Una función a destacar de BRCA1 es la originada por la interacción de sus dominio BRCT con la enzima acetyl-Coa

carboxilasa α (ACCA), manteniendo a ésta en su forma inactiva. La ACCA es una enzima clave en la síntesis de ácidos grasos de cadena larga al catalizar la carboxilación de Acetil-Coa a Malonil-Coa, indispensable en la lipogénesis endógena. Dado que esta enzima se mantendría en su forma inactiva, se simularía un estado de baja energía celular que bloquearía el anabolismo de células tumorales y suprimiría el fenotipo maligno [70].

BRCA1 tiene un papel "más complejo", mientras que BRCA2 parece estar implicado principalmente y de manera muy directa en la recombinación homóloga. Aunque hay que destacar la relación entre BRCA2 y la anemia de Fanconi. La ruta de la anemia de Fanconi se activa en respuesta al daño en el ADN. Ocho de las proteínas de la anemia de Fanconi forman un complejo o "core" que activa a otra de ellas (FANCD2), la cual reconoce las lesiones del ADN de cadena doble. La proteína BRCA2 actúa como efector, entre otros, que en este caso se denomina FANCD1 [71].

La transcripción de BRCA1 y BRCA2 es máxima en la fase G1/S del ciclo celular y permanece elevada en la fase S, indicando su participación en la síntesis de ADN. La síntesis de mRNA es inducida por estrógenos en ambos genes. Las proteínas de BRCA1 y BRCA2 se expresan en la mayoría de las células y tejidos. Lo que sugiere que la especificidad fenotípica patológica que producen, restringida al tejido mamario y ovárico, no está determinada por el patrón de expresión. Esto es una de las cuestiones clave respecto al papel en la carcinogénesis. A BRCA1 se le ha implicado, últimamente, en procesos de diferenciación y proliferación de células madre en el tejido mamario en modelos in vitro, pero la implicación de BRCA2 en estos procesos se desconoce [72].

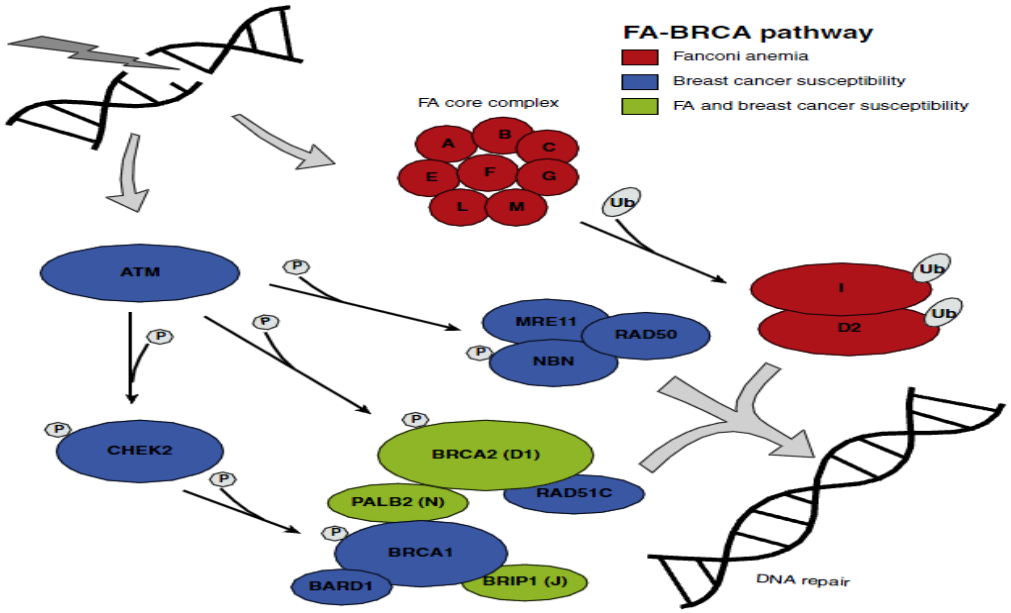

Figura 17. *Esquema de la vía de reparación AF-BRCA y su papel en la susceptibilidad al cáncer de mama. Las mutaciones en línea germinal de los genes en azul y verde, excepto en ATM, pueden verse también en mujeres con carcinomas con cáncer de ovario [155].*

2.4.3. Análisis molecular de BRCA1 y BRCA2

El análisis molecular de los genes *BRCA1* y *BRCA2* es de gran laboriosidad debido a su gran tamaño y a la enorme variedad de mutaciones posibles.

La muestra de ADN puede obtenerse a través de linfocitos de sangre periférica, ya que al tratarse de una mutación germinal se encuentra presente en cualquier célula nucleada del organismo [58].

Para la detección de variaciones en *BRCA1/2*, se han empleado *métodos directos* y *métodos indirectos*.

Dentro de los ***métodos directos*** nos encontramos con:

- *Secuenciación directa:* hasta ahora el "gold estándar" para la identificación de variaciones específicas. Tiene un elevado coste, tanto económico como laboral. Ha sido sustituida por los métodos de secuenciación masiva.
- *Secuenciación masiva*: tecnología rápida, novedosa, directa y asequible. Permite secuenciar un elevado número de bases con mayor sensibilidad. El procedimiento de detección varía en función de la plataforma empleada; pueden basarse en la reacción de Sanger, pirosecuenciación o en la tecnología de semiconductores. Debido a que la secuenciación masiva requiere procesar gran cantidad de información, será necesario el empleo de sistemas informáticos sofisticados para su interpretación. Las limitaciones que tiene es que requiere de equipamiento y personal cualificado, y la preparación de las librerías es larga y tediosa. Estas tecnologías se han aplicado en el estudio de *BRCA1* [73], *BRCA1/2* [74,75] e incluso en otros genes de moderada penetrancia [76] o al estudio del exoma completo para los casos *BRCAX* [77].
- Otros: *Multiplex SNapshot, sondas de hibridación alelo específicas* (*ASO*), MLPA (Multiplex Ligation-dependent probe amplification) para detección de grandes reordenamientos genómicos.

Los ***métodos indirectos*** se utilizan como métodos de cribado para la detección de mutaciones en los genes *BRCA1/2*, debido al gran tamaño de los mismos. Permiten diferenciar las muestras que presentan alteraciones en las

secuencias de nucleótidos respecto del ADN normal. La secuenciación de estas muestras permite tipificar y caracterizar las alteraciones presentes. Dentro de estos métodos nos encontramos con el *test de la proteína truncada* (*PTT*), *análisis de polimorfismo de conformación de ADN de cadena simple* (*SSCP*), *cromatografía líquida de alta resolución desnaturalizante* (*DHPLC*) y *análisis de curvas de fusión de alta resolución* (*HRM*), entre otros.

2.4.4. Variantes genéticas en BRCA1 y BRCA2

Las variaciones genéticas detectadas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* se clasifican como *patogénicas*, *variantes de significado desconocido* y *polimorfismos* atendiendo a su repercusión biológica.

La mayoría de las variaciones genéticas de *BRCA1/2* se recopilan en la base de datos Breast Cancer Information Core (BIC), lo que la convierte en una buena fuente de análisis de la variabilidad genética.

Mutaciones patogénicas

Son aquellas que generan una proteína carente de actividad biológica [78]. Pueden ser de dos tipos: *mutaciones puntuales* (MP) o grandes *reordenamientos genómicos* (LGRs).

Las *mutaciones puntuales* afectan a un número reducido de nucleótidos y pueden ser de varios tipos. Las más frecuentes se tratan de pequeñas inserciones o deleciones que originan un cambio en el marco de lectura (mutaciones frameshift o “con desplazamiento del marco de lectura”). El

resto son cambios puntuales en las bases de un codón generando un codón de parada (mutaciones nonsense o “sin sentido”), cambios localizados en la zona de unión intrón-exón del mRNA (mutaciones splicing o “de procesamiento del ARN”), cambio de base que genera un codón que codifica para otro aminoácido (mutaciones missense o “de sentido erróneo”).

Los llamados *grandes reordenamientos genómicos* (LGRs) consisten en inserciones o deleciones de gran tamaño, que pueden involucrar a grandes exones o incluso la pérdida del gen completo. Representan alrededor del 8-10% de las mutaciones descritas en estos genes [79,80]. La mayoría de los LGRs son deleciones [80].

Variantes de efecto desconocido

Son variaciones genéticas, la mayoría de tipo missense, en las que su potencial patogénico se desconoce. Requieren de otros análisis más complejos para intentar confirmar su patogenicidad, como estudios funcionales, análisis de cosegregación o estudios “in silico”.

Estas variaciones se detectan en el 10-15% de la población caucásica [79,81] y en aproximadamente un 22% de hispanos [82].

Polimorfismos

Ambos genes presentan también numerosos polimorfismos, variaciones en la secuencia con una cierta frecuencia en la población general (≥1%) y no asociados a patología.

La mayoría de estos polimorfismos son mutaciones missense, variantes sinónimas o cambios intrónicos en las regiones UTR, que no se han visto asociadas con el cáncer, ni parecen repercutir en la estructura y funcionalidad de la proteína.

2.4.5. Frecuencia de las mutaciones en BRCA1 y BRCA2

La gran mayoría de los estudios en población española, están realizados en población seleccionada derivada a unidades de consejo genético. Ya que los estudios poblacionales son bastante difíciles, debido a la complejidad y laboriosidad de análisis de los genes y su escasa prevalencia.

Se identifican mutaciones deletéreas en un 20-30% de las familias que acuden. El porcentaje mayor corresponde a familias con 3 o más casos afectos por cáncer de mama y cáncer de ovario (50-70%, dependiendo del número de afectos), y desciende en las familias que sólo presentan cáncer de mama (10-15%, aunque aumenta con el número de casos) o mujeres jóvenes sin antecedentes (<5%). La presencia de cáncer de ovario se ha considerado un indicador de probabilidad de mutación heredada, incluso en mujeres con pocas mujeres afectadas. Un alto porcentaje de familias con cáncer de mama masculino presentó mutaciones en *BRCA2* (59%) [83]. Estos resultados no difieren de los de otros países, aunque el porcentaje global parece algo más bajo.

Otro estudio español, realizado en una cohorte de 495 pacientes diagnosticados de cáncer de mama esporádico (no presentaban criterios diagnósticos de alto riesgo para CMH), estimó una prevalencia de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* de sólo el 1,05 [84]. Estos porcentajes son aproximados, ya que no incluyen variantes de significado desconocido (alguna de las cuales puede tener carácter patológico), ni grandes reordenamientos genómicos (que pueden suponer el 8% aproximadamente de las mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*).

Todos estos resultados apuntan hacia la importancia de la historia familiar a la hora de determinar la probabilidad de que esté presente una mutación en *BRCA1* o *BRCA2*. Además de sugerir, que la mayoría de agregaciones familiares de cáncer de mama está causada por múltiples genes de susceptibilidad y baja penetrancia, cada uno de los cuales contribuye con una parte del riesgo total.

En general, no existen mutaciones con una prevalencia muy superior al resto. Sólo se da en casos de poblaciones con alto grado de endogamia, donde se ha observado la aparición de mutaciones con una frecuencia inusualmente alta y de manera recurrente en familias no emparentadas. Los análisis de haplotipos han demostrado que, generalmente, las mutaciones recurrentes provienen de único ancestro portador, lo que se conoce como *efecto fundador*. Se entiende por "*efecto fundador",* las consecuencias derivadas de la formación de una población a partir de un número muy reducido de individuos. Por lo que en los miembros de esta población aparece una baja variabilidad genética, ya que la población original no es representativa de la heterogeneidad genética. En estas poblaciones, tras

generaciones sucesivas, estas mutaciones pasan a ser cambios altamente recurrentes, e incluso característicos de un grupo étnico particular o de un área geográfica.

El ejemplo más conocido de mutaciones fundadoras es el de la población judía Ashkenazi. En esta población, el 99% de las familias con mutación patogénica se explican por dos variantes en *BRCA1* (185del AG y 5382insC), y una en *BRCA2* (6174delT). El 2% de dicha población es portador de una de ellas [85].

Se han descrito otros casos de mutaciones recurrentes en otros países del mundo, como en Islandia (mutación 999del5 en *BRCA2*) [86], Alemania (mutación 2080delAA en *BRCA1*) [87], Noruega (mutaciones 1675delA y 1135insA en el gen *BRCA1*) [88]. En España, no se han encontrado mutaciones fundadoras, pero sí recurrentes. La mutación 185delAG se encuentra también en la población española. Hay estudios que explican el hallazgo de la misma por la presencia histórica de judíos en la península ibérica. Respecto a este dato existe controversia, debido a que los judíos de la península ibérica eran Sefardíes, aunque comparten un origen común con los Ashkenazi. Otras mutaciones frecuentes en familias españolas son, cinco en *BRCA1*: 330A>G, c.187-188delAG, c.5236G>A, c.5242C>A, c.589-590delCT (responsables del 46,6% de las familias portadoras de mutaciones en *BRCA1*); y cuatro en *BRCA2*: c.3036-3039delACAA, c.6857-6858delAA, c.9254-9258del5, c.9538-3539delAA (responsables del 56,6% de las familias portadoras de mutaciones en *BRCA2*) [89]. Estas 10 mutaciones recurrentes observadas en la población española, representan el 50% de las mutaciones

familiares identificadas (por lo que algún autor las señala como candidatas para ser incluidas en un pre-cribado) [89].

El conocimiento de mutaciones tanto fundadoras como recurrentes tiene ventajas, como simplificar mucho el estudio genético de *BRCA1* y *BRCA2* en línea germinal al permitir realizar cribado mutacional [89], estimar de forma más precisa el riesgo de cáncer asociado y así ayudar al consejo genético, y facilitar la identificación de factores ambientales o modificadores.

2.4.6. Penetrancia de las mutaciones en BRCA1 y BRCA2

Las mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* en línea germinal confieren, además de un elevado riesgo para el desarrollo de cáncer de mama hereditario, riesgo para otros tumores como el cáncer de ovario, próstata y páncreas, entre otros.

Las estimaciones realizadas para conocer la penetrancia de las mutaciones son altamente variables, dependiendo de la población y del grupo estudiado. Las primeras, señalaban el riesgo acumulado de presentar cáncer de mama a la edad de 70 años para portadores de mutación en *BRCA1/2* del 75-80%. Esta valoración estaba sobrestimada, debido a que los estudios estaban hechos en familias seleccionadas con un elevadísimo riesgo de presentar varios casos de cáncer de mama y ovario. Desde entonces, numerosos estudios han obtenido estimaciones de riesgo de cáncer de mama

a la edad de 70 años en el rango de 46-69% en portadores de mutación en *BRCA1*, y en el rango de 26-74% en portadores de mutación en *BRCA2*.

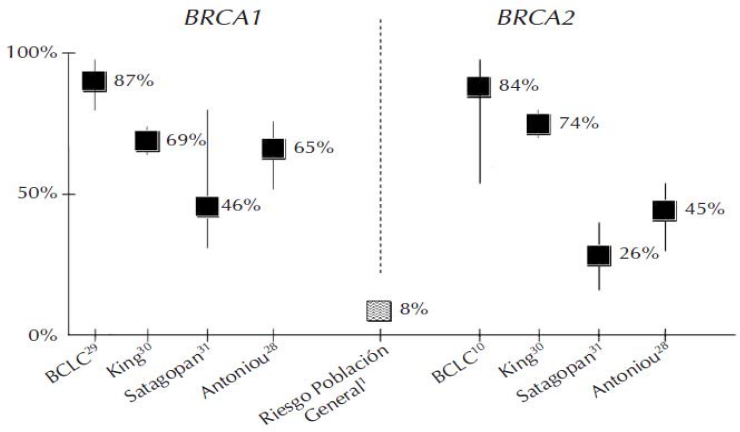

Figura 18. *Riesgo estimado de padecer cáncer de mama a los 70 años de edad en mujeres portadoras de mutación en BRCA1 y BRCA2. Modificado de Graña [107].*

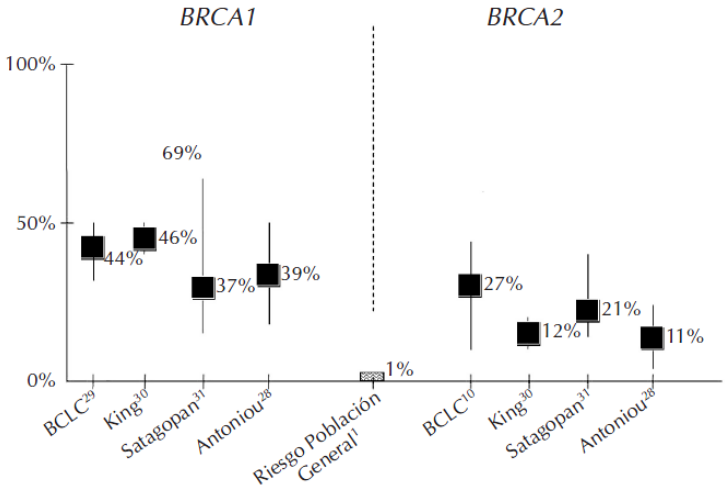

Figura 19. *Riesgo estimado de padecer cáncer de ovario a los 70 años de edad en mujeres portadoras de mutación en BRCA1 y BRCA2. Modificado de Graña [107].*

Un meta-análisis publicado en el año 2007, que combinó datos de 10 estudios, estableció las siguientes estimaciones de riesgo a la edad de 70 años. El riesgo acumulado de desarrollar cáncer de mama a la edad de 70 años para portadores de mutación en *BRCA1* fue del 57% (IC 95%: 47-66), y en *BRCA2* fue del 49% (IC 95%: 40-57). Y para cáncer de ovario el riesgo acumulado de desarrollarlo fue del 40% (IC 95%: 35-46) para portadores de mutación en *BRCA1*, y del 18% (IC 95%: 13-23) para portadores de mutación en *BRCA2* [90].

Puntualizar que, el cáncer de ovario hereditario suele aparecer a edades más tempranas (10-15 años antes) que el cáncer de ovario esporádico en las pacientes con mutación en *BRCA1*. En el caso de mutaciones en *BRCA2*, se suele observar a las mismas edades que el esporádico.

Se ha indicado que el riesgo de cáncer podría variar en función del gen afectado. Esto es porque se ha observado mutaciones que confieren un riesgo menor que otras a padecer cáncer de mama, como es el caso de la mutación gallega 330A>G en *BRCA1* [91]. También se han demostrado diferencias de penetrancia dependientes de características relativas a la mutación. Se ha identificado una región denominada OCCR (Ovarian Cancer Cluster Region) en el exón 11 del gen BRCA2. Esta región se le ha relacionado con una mayor penetrancia para el cáncer de ovario en comparación con el de mama [92].

Además, dentro de los portadores de una misma mutación también se ha encontrado variabilidad en la penetrancia, lo que sugiere que el riesgo que de padecer cáncer puede estar influenciado tanto por genes modificadores como por factores hormonales o ambientales.

Existen dos consorcios internacionales, el IBCCS (International BRCA1/2 Carrier Cohort Study) y el CIMBA (Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1 and BRCA2) creados para la identificación de factores ambientales y genéticos modificadores del riesgo en portadores de mutación en *BRCA1/2*. Hasta ahora el CIMBA ha logrado asociar más de 25 SNPs al riesgo de desarrollar cáncer de mama y ovario a portadores de mutación en *BRCA1/2*. El CNIO, en un trabajo internacional colaborativo (200 autores y 55 grupos de trabajo), presentó en 2014 el descubrimiento de dos nuevos SNPs que modulan el riesgo a desarrollar cáncer de mama y ovario en las mujeres portadoras de mutación en *BRCA1* y *BRCA2*. Los SNPs descubiertos están en los genes NEIL2 y OGG1, genes que intervienen en la ruta de reparación alternativa a *BRCA1/2* [93].

Los varones con mutación en *BRCA1/2* tienen un riesgo acumulado de cáncer de mama a los 70 años de edad del 1,2% para *BRCA1* y del 6% para *BRCA2*; así como del 8,6% para *BRCA1* y del 15% para *BRCA2* para cáncer de próstata [94,95].

2.5. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS DEL CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO

Los cánceres de mama hereditarios, portadores de mutación en *BRCA1* y *BRCA2*, presentan unas características clínico-patológicas que les diferencian entre sí y con los cánceres de mama esporádicos.

En cuanto a los factores no genéticos, que serían susceptibles de modular la expresión de *BRCA1* y *BRCA2*, serían los mismos que incrementan

el riesgo en la población general: menarquía temprana, nuliparidad, edad avanzada, menopausia tardía, obesidad, ejercicio y tabaco.

En cuanto al tamaño tumoral y tipo histológico, no se han encontrado diferencias significativas, siendo la mayoría de los CMH y los CME carcinomas ductales invasivos (74% vs 76%, respectivamente) [96]. En un único estudio [97] se señala una diferencia significativa en cuanto al tamaño tumoral, objetivándose tamaños tumorales más pequeños y menos afectación ganglionar en las pacientes que presentan mutación en *BRCAs*.

La primera diferencia se encuentra en la edad de diagnóstico, siendo menor en los caso de CMH *BRCA1+*, siendo la mediana de edad de aparición en este grupo de 42 años en comparación de la mediana de 64 años observada en el caso der CME [98].

Además, los cánceres asociados a *BRCA1* suelen ser cánceres de alto grado y con una tasa de proliferación elevada. Los estudios de expresión génica revelan que el 60-80% de los CMH *BRCA1+* presentan negatividad para receptores hormonales y para HER2 (fenotipo triple negativo), además de presentar positividad para citoqueratinas basales CK5/6 y para el receptor del factor de crecimiento epidérmico EGFR. Se clasifican en el subtipo basal [99]. Los cánceres de mama triple negativo son tumores agresivos, el 30% de las pacientes desarrollarán enfermedad metastásica, siendo frecuentes las viscerales y las metástasis cerebrales [100].

En cuanto a los CMH *BRCA2+* tienden a ser más heterogéneos, y la prevalencia de tumores positivos al receptor de estrógeno suele ser parecida a los CME. Se clasifican en el subtipo luminal, principalmente el luminal A [101, 102].

El problema de la enfermedad metacrónica en mujeres con cáncer de mama hereditario no se limita al desarrollo de tumores ipsilaterales, sino que el riesgo de cáncer de mama contralateral es aún mayor. Las mujeres afectas de cáncer de mama portadoras de mutación en *BRCA1/2*, tienen un riesgo aumentado de cáncer de mama contralateral, si lo comparamos con el de la población general (riesgo acumulado a los 10 años entre el 16-28% comparado con el de 5-6% de la población general, [103]). El riesgo de cáncer de mama ipsilateral es controvertido, ya que algunos estudios muestran un riesgo incrementado [104] (cuando el seguimiento es durante más tiempo), y en otros se muestra un riesgo similar [105].

La otra enfermedad metacrónica más preocupante es el riesgo aumentado a desarrollar cáncer de ovario en pacientes portadoras de mutación en *BRCA1/2*, respecto a la población general. Este aspecto ha sido detallado en el apartado anterior.

Otros tumores asociados a portadores de mutación en *BRCA1/2*, son el carcinoma de trompa de Falopio (se detectan mutaciones deletéreas en línea germinal hasta en un 30% de los casos) [94], melanoma uveal asociado a *BRCA2*, cáncer de páncreas (especialmente asociado a *BRCA2* si se presenta a edades tempranas), entre otros. En un estudio multicéntrico se detalló que las mutaciones en *BRCA2* están asociadas a un mayor espectro de tumores malignos que las de *BRCA1*, tanto en mujeres como en hombres (próstata, cáncer de páncreas, vía biliar, gástrico, melanoma) [106].

2.6. MEDIDAS PROFILÁCTICAS Y TERAPÉUTICAS EN PACIENTES CON MUTACIÓN EN BRCA1/2

Es imprescindible un manejo clínico meticuloso para diagnosticar estas enfermedades en un estadio precoz (potencialmente curable), y para prevenir la aparición de las mismas.

Se disponen de *medidas de seguimiento* y de *medidas reductoras* de riesgo [107, 20]:

1. *Medidas de seguimiento para el cáncer de mama*:
    - Autoexploración mamaria: autoexploración mensual mamaria desde los 18 años. Eficacia no demostrada, pero es frecuente que el diagnóstico de las portadoras se realice por autopalpación.
    - Exploración clínica: la mayoría de las guías las recomiendan cada 6 meses desde los 25 años de edad.
    - Ecografía mamaria: no recomendada como cribado en la mayoría de las guías, su utilidad es principalmente diagnóstica. Detecta cáncer de mama mamográficamente oculto en un pequeño porcentaje de mujeres. No irradia y presenta menor coste.
    - Mamografía: presente en todas las guías, aunque no existe consenso en edad de inicio. Sensibilidad del 23-40% [108, 109]. Presenta, además, baja sensibilidad en mamas densas y en portadoras de mutación *BRCA1/2* (una proporción significativa de estos casos son diagnosticados como cánceres de intervalo). Existen estudios retrospectivos que no demuestran asociación

entre mamografía y riesgo de cáncer de mama en portadoras. Otros señalan que si el inicio del cribado en portadoras se hace antes de los 35 años, la disminución de la mortalidad no es substancialmente superior al riesgo de cáncer de mama radioinducido.

- Resonancia magnética mamaria: desde 2006 presente en todas las guías como método complementario a la mamografía. Sensibilidad entre el 71-100% [109, 110]. Alrededor del 80% de los cánceres son detectados mediante RMN y sólo un 40% mediante mamografía. Sólo una minoría son diagnosticados como cánceres de intervalo. La mayor diferencia de sensibilidad de la RMN frente a la mamografía es en portadoras de mutación en *BRCA1*, que en las *BRCA2* positivas.

La RMN debe considerarse como prueba complementaria a la mamografía, ya que hay tumores (como aquellos con microcalcificaciones) que no son identificados por RMN, y sí por mamografía.

Con el "cuádruple screening" (exploración clínica, ecografía mamaria, mamografía y RMN) se consigue una sensibilidad global del 95% [111].

2. <u>Medidas de seguimiento para el cáncer de ovario:</u>
    - Ecografía transvaginal y determinación del CA125 sérico: periodicidad semestral a partir de los 30-35 años. Cribado de

dudosa utilidad por su baja eficacia, baja sensibilidad y frecuente aparición de falsos positivos.

3. Medidas reductoras de riesgo:
    - Salpingo-ooforectomía profiláctica bilateral: reducción del riesgo de padecer cáncer de ovario/trompas en un 85-95%, y del cáncer de mama en un 50% (más claro en premenopáusicas). Recomendado a partir de los 35-40 años, tras fin de deseo gestacional. Se realiza por vía laparoscópica, precisando exéresis, lo más completa posible, de las trompas. No se realiza histerectomía, a no ser que coexista patología uterina sugestiva de cirugía (el 92% de los carcinomas de trompa se originan en la porción distal o media, por lo que el riesgo en su porción intramural uterina es muy bajo). No previene de la aparición de cáncer peritoneal primario. El principal inconveniente de esta cirugía es la instauración brusca de una menopausia precoz, de ahí que algunos autores recomienden el uso de terapia hormonal sustitutiva durante periodos breves de tiempo.
    - Mastectomía bilateral profiláctica: ha demostrado una disminución del riesgo de padecer cáncer de mama del 90-95%. La técnica de elección es la mastectomía total con reconstrucción. Otras técnicas quirúrgicas como la mastectomía subcutánea, no se pueden considerar alternativa estándar a la mastectomía total hasta que no se dispongan datos a largo plazo. Como efectos adversos de esta técnica son la elevada tasa de

complicaciones y efectos psicológicos/físicos negativos, aunque cuenta con niveles de satisfacción elevados.

- Quimioprofilaxis: actualmente no existen estrategias de quimioprevención que reduzcan, claramente, el riesgo de padecer cáncer en mujeres portadoras de mutación en *BRCA1* o *BRCA2*. El uso de tamoxifeno reduce el riesgo de cáncer de mama contralateral en portadoras afectas, pero se desconoce el impacto en mujeres sanas portadoras de mutación.

En cuanto al tratamiento del cáncer de mama, hay varias maneras de tratar el mismo [112]:

- *Tratamientos locales*: tratan al tumor sin afectar al resto del cuerpo.
    - Cirugía: anteriormente descrita.
    - Radioterapia: radioterapia externa o braquiterapia. Se puede usar en diferentes situaciones como después de la cirugía de conservación de la mama, después de mastectomía (especialmente si el cáncer medía más de 5 cm o tenía ganglios axilares positivos) o en el caso de metástasis.

- *Tratamientos sistémicos*: se administran por vía oral o por vía sistémica. Alcanzan las células cancerosas en cualquier parte del cuerpo. Pueden utilizarse diferentes tipos de medicamentos:

- Quimioterapia: es más eficaz cuando se usan combinaciones de más de un medicamento. Los medicamentos más comúnmente usados para la quimioterapia adyuvante y neoadyuvante son antraciclinas (doxorrubicina, epirrubicina), taxanos (paclitaxel, docetaxel), 5-fluouracilo, ciclofosfamida, carboplatino. Algunos medicamentos de quimioterapia útiles en el tratamiento de mujeres con cáncer de mama avanzado: docetaxel, paclitaxel, cisplatino, carboplatino, vinorelbina, capecitabina, doxorrubicina liposomal, gemcitabina, mitoxantrona.
- Terapia Hormonal: se recomienda a las mujeres con cáncer de mama con receptores hormonales positivos. Se usa sobre todo como terapia adyuvante, y a veces también como terapia neoadyuvante. Se utilizan, entre otros, el Tamoxifeno, Toremifeno, Fulvestrant, Letrozol, Anastrozol y Exesmetano. Actualmente, el tratamiento convencional consiste en tomar estos medicamentos alrededor de 5 años.
- Terapia dirigida: diseñados para bloquear el crecimiento y propagación de células cancerosas. Algunas veces, estos medicamentos funcionan incluso cuando los medicamentos de quimioterapia no son eficaces.

- Terapia dirigida contra el cáncer de mama HER2 positivo: Tratuzumab, Pertuzumab, Ado-trastuzumab emtansina, Lapatinib.
- Terapia dirigida contra el cáncer de mama con receptores de hormonas positivos: Palbociclib, Everolimus.

Los tumores triple negativo son los más difíciles de tratar, ya que no se pueden utilizar tratamientos hormonales ni antiHer2. En el 2009, en el congreso anual de la American Society Clinical Oncology (ASCO), se presentó el BSI 201, un fármaco que es inhibidor de la poli-ADPribosa polimerasa. La enzima PARP-1 participa en la ruta de reparación del ADN de cadena sencilla mediante escisión de bases (BER). Posteriormente apareció el Olaparib, inhibidor de la PARP1 oral y actualmente utilizado para el cáncer de ovario platino sensible. Así, estos fármacos inhiben la única vía de reparación activa, debido a que la recombinación homóloga es deficiente por la pérdida de función de *BRCA1/2*, aumentando el número de errores en estas células e induciendo la apoptosis de las mismas. El tratamiento con inhibidores de PARP-1 en células tumorales con mutación deletérea en *BRCA1* o *BRCA2*, causa la muerte selectiva de las mismas mediante letalidad sintética entre el gen PARP1 y los genes *BRCA1* y *BRCA2* [113].

La inhibición de la PARP es un tratamiento activo y bien tolerado en pacientes con cáncer de mama triple negativo. En combinación con la quimioterapia, han demostrado una eficacia importante sin toxicidad.

3. CONSEJO GENÉTICO EN CÁNCER DE MAMA FAMILIAR

La American Society of Human Genetics define el asesoramiento genético como, “un proceso de comunicación que trata los problemas asociados con la aparición, o con el riesgo de aparición, de una enfermedad genética en una familia” [114].

Peter S. Harper, profesor de Genética del Hospital Universitario de Gales, lo define como “el proceso por el que los miembros de una familia con riesgo para una enfermedad que pueda ser hereditaria son informados de las consecuencias de esa enfermedad, de la posibilidad de padecerla y transmitirla, y de la forma de prevenirla o de reducir sus efectos” [115].

El objetivo del consejo genético en cáncer es detectar, de forma muy precoz, la predisposición a desarrollar cánceres y, en la medida de lo posible, evitar que lleguen a producirse.

Se trata de una práctica médica de carácter multidisciplinar. A nivel europeo, el equipo de consejo genético debería estar formado como mínimo por un Genetista Clínico, y un asesor genético o Enfermera especialista en Genética. En España, como no están reconocidas estas especialidades clínicas, son generalmente profesionales del ámbito de Ciencias de la Salud (médicos, enfermeras, biólogos, psicólogos) especializados en Genética, Oncología, Biología Molecular, Epidemiología y prevención, entre otros.

Se tiene que entender como un proceso de comunicación, en el cual el médico le informa al paciente del riesgo, y sobre las opciones de manejo en

caso de tener una mutación genética, del riesgo de tener una mutación su descendencia, y de las opciones reproductivas que se puedan tomar en esos casos. La buena comunicación médico-paciente, y el apoyo de psicólogos, resulta de vital importancia para el éxito del proceso. Y para que la persona que se someta a consejo genético reciba sus resultados sin que esto le produzca ansiedad, miedos o pérdida en la calidad de vida.

Un aspecto muy importante a tener en cuenta es que el consejo genético es un consejo, en ningún caso tiene que tener carácter directivo.

3.1. FASES DEL CONSEJO GENÉTICO

Las fases del asesoramiento genético se dividen en:

1. *Identificación de familias de riesgo y valoración del riesgo*. Elaboración de un árbol genealógico detallado incluyendo al menos tres generaciones consecutivas (la interpretación del mismo resulta clave para clasificar a las familias en bajo, moderado o alto riesgo de un síndrome de predisposición hereditaria al cáncer), motivos por lo que acude a la consulta, valoración de la percepción del riesgo, educación sanitaria sobre prevención primaria, y hábitos de vida saludables y promoción de la salud.
2. *Consejo genético pre-test*. Valoración de la indicación del estudio genético, información sobre las implicaciones médico-personales y familiares de la identificación de una susceptibilidad genética, asesoramiento de las ventajas y limitaciones del estudio genético en

cuestión, implicaciones sobre la toma de decisiones médica de detección precoz, prevención y tratamiento.

3. *Firma del consentimiento informado*.
4. *Realización del test genético*.
5. *Consejo genético post-test*. Información de resultados, educación y seguimiento. Así mismo, asegurarse que ha habido una correcta comprensión e interpretación del resultado del estudio genético.
6. *Seguimiento*. Plan de seguimiento médico en función del resultado del estudio genético, o de la historia personal y familiar. Es recomendable establecer un sistema de registro que permita recontactar con los individuos o familias contactadas, ya que la interpretación de los resultados médicos puede modificarse con el tiempo. En el caso de que haya habido una mutación, el seguimiento posterior puede facilitar el proceso de comunicación de los resultados a otros familiares de riesgo que puedan beneficiarse del estudio.

3.2. CÁLCULO DEL RIESGO

La realización de un test genético se debe recomendar a las familias con alto riesgo de “Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario”. Estas familias son clasificadas mediante la evaluación de la historia médica y familiar.

En las últimas décadas, se han desarrollado diversos modelos estadísticos que permiten estratificar a las mujeres según su riesgo de padecer cáncer de mama a lo largo de su vida. Se han usado dos enfoques

diferentes para desarrollarlos, el "enfoque empírico" y el "enfoque mendeliano".

El "enfoque empírico" se basa en familias a las que se ha realizado un test genético, y se intenta identificar características fenotípicas que se asocien con la presencia de mutación. A partir de esto, se desarrolla un modelo estadístico multivariante, que predice que una familia que presente una determinada combinación de variables sea portadora de una mutación. Permiten calcular la probabilidad pre-test en poco tiempo y de manera sencilla, pero sólo en familias con criterios de selección similares con los que se construyó dicho modelo.

Los modelos que siguen el "enfoque mendeliano" calculan la probabilidad de que un individuo concreto sea portador de una mutación en línea germinal, basándose en parámetros genéticos (como la penetrancia del cáncer en portadores y no portadores y la frecuencia alélica) y las leyes de herencia mendeliana [116]. El principal inconveniente es que no permiten el cálculo manual, y se necesita tiempo adicional para meter lo datos del árbol familiar a través de la página web de cada modelo.

Dentro de los modelos empíricos nos encontramos:

- El ***modelo de Gail*** fue el primero de estos modelos (se publicó en 1989). Utiliza cinco variables a la hora de determinar el riesgo (edad de diagnóstico, edad de menarquía, edad del primer embarazo, número de familiares de primer grado afectos y número de biopsias de mama realizadas), y con éstas se calcula el riesgo específico por edad. Este modelo no tiene en cuenta los casos de cáncer de mama en familiares de segundo grado, ni los

casos de cáncer de ovario en la familia [117]. Tampoco es sensible para menores de 35 años, historia previa de cáncer de mama, CDIS o CLIS.

- El ***modelo de Claus*** (publicado en 1990) estima el riesgo en función del número de familiares de primer grado afectas y de la edad al diagnóstico, pero tampoco tiene en cuenta la historia familiar de cáncer de ovario [118].

Los dos anteriores sobrestiman el riesgo en no portadoras y lo subestiman en portadoras de mutación en *BRCAs*.

De los modelos mendelianos destacan:

- El ***modelo BRCAPRO*** es un modelo estadístico Bayesiano informatizado, que se desarrolló en 1995 por Don Berry y Giovanni Parmigiani tras el descubrimiento de *BRCA1/2* [119]. Estima la probabilidad de ser portador de mutación en *BRCA1* y *BRCA2* basado en la historia familiar y edad al diagnóstico, tanto del probando como de familiares de primer y segundo grado. Este modelo se basa en la edad y la incidencia de cáncer de mama y ovario en pacientes portadoras de mutación en *BRCAs*, comparado con la incidencia en las no portadoras. Este modelo predice de forma correcta cuando la familia estudiada tiene un alto riesgo de presentar mutación en *BRCA1* o *BRCA2*. Disponible en:
  http://bcb.dfci.harvard.edu/bayesmendel/brcapro.php

- El ***modelo BOADICEA*** (Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm, Antoniou et al, 2004, 2008) [120]. Es un modelo que intenta ajustarse a la realidad incorporando el efecto simultáneo de *BRCA1* y *BRCA2*, considerando la agregación familiar no explicada por estos genes que se corresponde con un modelo poligénico, que incluso puede actuar como modificador del riesgo en portadores de mutación. Es el primer modelo de riesgo poligénico para el cáncer de mama. Este modelo matemático puede utilizarse tanto para calcular la probabilidad de ser portador de mutación en *BRCA1/2*, como para estimar el riesgo de desarrollar cáncer de mama u ovario a una edad determinada. También permite evaluar el efecto de la diferente sensibilidad que aportan las diferentes técnicas utilizadas en el estudio de los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Disponible en: http://ccge.medschl.cam.ac.uk/boadicea/boadicea-model/

3.3. ESTUDIO GENÉTICO

El test genético de predisposición al cáncer, se puede definir como el análisis que nos informa si un individuo ha heredado una alteración genética que le confiera un riesgo aumentado de desarrollar ciertos tipos de cáncer.

El estudio genético sólo debería ofrecerse cuando se cumplan los tres criterios siguientes, según la American Society of Clinical Oncology (ASCO) [121]:

- El individuo tenga una historia personal o familiar sugestiva de síndrome de predisposición hereditaria al cáncer.
- El test genético pueda ser interpretado adecuadamente.
- Los resultados del test tengan utilidad clínica, puedan ayudar al diagnóstico y/o influir en el manejo médico o quirúrgico del individuo o sus familiares a riego.

Actualmente, y aunque se considere que el cáncer de mama y ovario hereditario sigue un modelo poligénico, el estudio de los genes *BRCA1* y *BRCA2* son los únicos de utilidad clínica dentro del contexto del consejo genético. El análisis molecular de los mismos debe incluir la búsqueda de mutaciones puntuales, inserciones/deleciones en toda la región codificante y secuencias intrónicas adyacentes, así como grandes reordenamientos genómicos.

El estudio genético se puede realizar en:

- El *individuo probando*: debe escogerse el individuo con mayor probabilidad de ser portador en la familia. Idealmente un individuo afecto, a ser posible el de mayor afectación, y edad de comienzo más temprano. En este caso se debe realizar el estudio genético completo. Se pueden obtener varios resultados:
    - Resultado positivo: identificación de una mutación con significado patogénico.
    - Resultado de significado desconocido: se identifica una variante genética en *BRCA1* o en *BRCA2*, pero se desconoce si tiene o no significado patológico en el síndrome de cáncer de mama y ovario familiar.

- Resultado no concluyente o no informativo: no se ha identificado ninguna variante genética en *BRCA1* o *BRCA2* capaz de explicar síndrome de cáncer de mama y ovario familiar. En este caso no se puede descartar la presencia de otras variantes genéticas en *BRCA1* o *BRCA2* no conocidas, u otras variantes genéticas en genes adicionales.

❖ En *individuos adicionales* al probando: esto se hará en el caso de resultado positivo de mutación en el probando. Por lo que se ofrecerá al resto de familiares la posibilidad de realización de un estudio genético. En este caso el test se centra en la identificación de la variante concreta descrita en el probando.

- Resultado positivo: el individuo es portador de la variante genética familiar.
- Resultado negativo verdadero: el individuo no es portador de la variante genética familiar, y por lo tanto estará expuesto a un riesgo de cáncer de mama y ovario similar al de la población general [122].

3.4. MARCO LEGAL

La información genética tiene como características principales su capacidad predictiva, y el vínculo que establece entre el individuo y su familia. Existe acuerdo en proteger y regular esta información de manera diferenciada del resto de datos personales.

Como consecuencia de las características anteriores y de otras de la información genética (única, irrepetible, reflejo de la individualidad de la

persona e indestructible), e intentando recoger las preocupaciones de los diferentes sectores sociales, se han ido desarrollando diferentes normativas.

Por lo que todo el proceso de asesoramiento genético está cubierto por un amplio marco normativo, entre las que cabe destacar la Declaración de la Unesco de 2003 sobre los *Datos Genéticos Humanos* [123], y sobre todo el *Convenio de Oviedo sobre Derechos Humanos y Biomedicina* [124]. La primera define qué se entiende por datos genéticos, proteómicos y muestras biológicas, y con qué finalidad pueden ser tratadas y conservadas. Uno de los puntos centrales de la misma es el principio del consentimiento informado tanto para la obtención de datos, como para la utilización y conservación. Recuerda que los datos no pueden ser utilizados para una finalidad diferente que sea incompatible con el consentimiento original; a no ser que el derecho interno disponga que la utilización propuesta responda a motivos de interés público. También trata del derecho a ser informado, y del mismo modo del derecho a no ser informado.

El *Convenio de Oviedo sobre Derechos Humanos y Biomedicina* fue integrado en el ordenamiento jurídico español en el año 2000. Se prohíbe, en el mismo, la discriminación por razones genéticas, y se establece que el acceso a esta misma, y su uso médico o de investigación, precisa siempre del consentimiento del individuo.

Existen numerosas directivas a nivel europeo, a nivel estatal y dentro de cada comunidad. Pero hay que destacar en el ámbito jurídico estatal español la *Ley 14/2007 de Investigación Biomédica* [125]. En ésta, se regula la indicación y realización de estudios genéticos y tratamiento de los datos genéticos de carácter personal, el consentimiento informado, proveer de un

asesoramiento genético apropiado, derecho a la información y a no ser informado, confidencialidad y derecho a la protección de datos genéticos, requisitos de calidad y acreditación de centros de análisis genéticos, entre otros.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más frecuente entre las mujeres con 1.671.000 casos nuevos diagnosticados en el mundo en 2012 (25% del total de cánceres). Es el más frecuente en mujeres tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo.

En España, la incidencia en el año 2012 de cáncer de mama fue de 25.215 casos nuevos y con una previsión para el 2020 de 28.010 casos nuevos, lo que representa el 29-30% de los cánceres en la mujer.

Actualmente se estima que entre un 5 y 10% de todos los tumores de mama presentan un componente hereditario.

El cáncer de mama hereditario está causado por mutaciones en genes de susceptibilidad al cáncer de mama que predisponen al "Síndrome de cáncer de mama-ovario hereditario". Las mutaciones en línea germinal de los genes *BRCA1* y *BRCA2* son las más relevantes y de las que se dispone más información; pero sólo explican el 22%, aproximadamente, de los casos de CMH.

Al estudiar estos genes, se han encontrado un amplio porcentaje de variantes de significado desconocido. Este porcentaje varía dependiendo de la población analizada y de la casuística del laboratorio, pero se estima que oscila entre un 2-15%. La mayoría son específicas de una o muy pocas familias, por lo que es muy difícil su clasificación mediante modelos epidemiológicos o genéticos.

Se han descrito otras enfermedades con riesgo incrementado al cáncer de mama como son el Síndrome de Li-Fraumeni o el Síndrome de Cowden, entre otros. En éstas, se encuentran mutaciones en genes

implicados en la vía de reparación del ADN en las que están también involucrados *BRCA1* y *BRCA2*. Estas enfermedades son poco frecuentes y en algunos casos no existe evidencia de que las mutaciones germinales en determinados genes, como *STK11/LKB1* y *CDH1*, sean causa de cáncer de mama hereditario en ausencia de las características diagnósticas de estos síndromes.

Actualmente, con la información de la que disponemos, más del 60% de las familias de alto riesgo siguen sin causa genética conocida.

Es importante conocer las causas y características clínico-patológicas del CMH, para mejorar el diagnóstico y el consejo genético de los afectados por esta enfermedad, así como las opciones terapéuticas de los pacientes afectados.

El objetivo global de esta tesis es resumir el conocimiento actual sobre el cáncer de mama hereditario asociado a mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, y ver el comportamiento y características de las mismas en nuestra población de estudio.

OBJETIVOS

1. Determinar la prevalencia de mutaciones y variantes de significado desconocido en el gen *BRCA1* y en el gen *BRCA2* en la población de estudio[1]. Descripción de las mismas.

2. Estimar la frecuencia de las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en función del número de familiares afectos. Analizar si la presencia de antecedentes oncológicos familiares predicen la presencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2*.

3. Describir las características oncológicas y clínico-patológicas del cáncer de mama en la muestra. Contrastar las mismas entre los portadores y los no portadores de mutación en los genes *BRCA's*.

4. Comparación de los análisis univariante (Chi-cuadrado) y multivariante (Regresión Logística) de distintas características oncológicas del tumor.

5. Determinar el riesgo asociado en los portadores de mutación en los genes *BRCA1* y *BRCA2* a otros tumores diferentes al cáncer de mama.

6. Comparar las características clínico-patológicas del cáncer de mama entre el subgrupo de varones y el de mujeres.

7. Estudio del cáncer de ovario en los pacientes de estudio.

[1]*Población de estudio: Pacientes que acuden a la consulta de Cáncer Familiar del Servicio de Genética Médica del Hospital Ramón y Cajal, desde 2000-2012.*

MATERIAL Y MÉTODOS

1. MATERIAL

1.1. PACIENTES

Se han estudiado 541 pacientes (412 familias) que acuden a la consulta de Cáncer Familiar del Servicio de Genética Médica del Hospital Ramón y Cajal. De estos 541 pacientes (503 mujeres y 38 hombres), 349 (342 mujeres y 7 hombres) presentan cáncer de mama. La muestra de pacientes incluye los casos vistos en la consulta desde el año 2000 hasta el año 2012, inclusive.

Estos pacientes son remitidos a la consulta de Cáncer Familiar del Servicio de Genética Médica por presentar cáncer de mama (con antecedentes familiares o a edad temprana), o bien por tener antecedentes familiares con cáncer de mama, desde:

- Atención Primaria,
- Atención Especializada,
- propia iniciativa.

Los datos han sido recopilados de manera retrospectiva a través de la revisión de las historias clínicas de cada uno de los pacientes. Se han revisado los datos demográficos, y se ha elaborado un árbol genealógico (con la finalidad de identificar a las familias de riesgo y valoración del riesgo de las mismas). De los pacientes afectos de cáncer de mama se han recopilado además las características anatomo-patológicas del tumor (tipo, TNM y grado histológico), histopatología, marcadores IHQ (RE, RP,

HER2/neu), características clínico-patológicas (edad de menarquía, hijos, lactancia materna, edad de menopausia). Todos los datos clínicos corresponden al momento en el que se les vio en consulta y se les hizo posteriormente, a quienes correspondiese, el estudio genético.

Los criterios clínicos para identificar a familias con "Síndrome de cáncer de mama-ovario hereditario" según la SEOM, entre otros, y ofrecerles el estudio de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* son:

- Un caso de cáncer de mama diagnosticado antes de los 35 años.
- Un caso de cáncer de mama y cáncer de ovario sincrónico, o metacrónico, en la misma persona.
- Cáncer de mama bilateral, cuando el primero fue diagnosticado antes de los 40.
- Cáncer de mama TN diagnosticado antes de los 50 años.
- Carcinoma de ovario seroso-papilar de alto grado.
- Caso de cáncer de mama en el varón
- Dos casos familiares de cáncer, un caso de cáncer de mama bilateral y un caso de cáncer de mama diagnosticado antes de los 50 años.
- Dos casos de cáncer en la familia, uno de cáncer de mama y otro de cáncer de ovario.
- Dos casos de cáncer de mama en la familia diagnosticados antes de los 50 años.
- Tres casos o más de cáncer de mama y/o cáncer de ovario diagnosticados en la familia (independientemente de la edad).

A todos los pacientes que se les realizó el estudio genético se les informó sobre las implicaciones médico-personales y familiares de la identificación de una susceptibilidad genética, asesoramiento de las ventajas y limitaciones del estudio genético en cuestión, implicaciones sobre la toma de decisiones médica de detección precoz, prevención y tratamiento. Todos firmaron el consentimiento informado aprobado por el Comité Ético del Hospital Ramón y Cajal.

1.2. MUESTRAS

De los 541 pacientes, se han realizado estudios moleculares a 374 (341 mujeres y 33 hombres). A los 167 restantes no se les estudió por:

- no cumplir criterios del momento,
- por problemas administrativo-económicos o
- no se identificó la causa de la no realización del estudio genético.

Dichos estudios se han realizado a partir de ADN aislado de las muestras de sangre venosa extraída en tubos de EDTA en la consulta de Genética Médica. Se remitieron al Laboratorio de Biología Molecular del CNIO o al Laboratorio de Oncogenética del Hospital Universitario La Paz.

A todos los pacientes que se les realizó estudio de ADN se les hizo firmar un consentimiento informado, el cual se muestra a continuación, y quedó archivado en la historia clínica correspondiente.

Servicio de Genética Médica
Hospital Ramón y Cajal

29034 MADRID

Tel: 913 368 334

CONSENTIMIENTO INFORMADO. ESTUDIOS GENETICOS.

D/Dña……

Me han extraído una muestra de sangre periférica, para realizar estudios genéticos que me han sido previamente explicados por el Dr. ……del Servicio de Genética Médica del Hospital Ramón y Cajal y entiendo que:

1.- El objetivo de dicho estudio es analizar los genes que están implicados en la patología de mi enfermedad: ……..

2.- Se utilizarán para ello las técnicas citogenéticas y moleculares necesarias para el diagnóstico de la enfermedad.

3.- El Departamento de Genética del Hospital RyC, guardará absoluta confidencialidad tanto de mi identidad como de los resultados obtenidos.

4.- Es posible que de estos estudios no se derive ningún resultado beneficioso ni concluyente sobre la enfermedad, debido al conocimiento incompleto del gen o al número de genes implicados.

5.- Caso de identificarse la mutación responsable de la enfermedad, deseo ser informado/a: **SI / NO**

6.- Si de la investigación se derivasen resultados de interés para otros miembros de mi familia, estos podrán solicitar voluntariamente la realización del estudio.

7.- Mi **ADN** (muestra genética), sin identificación, se podrá utilizar como control en otros estudios genéticos: **SI / NO**

8.- Los resultados obtenidos podrán ser utilizados para una posible publicación científica, guardando estricta confidencialidad sobre mi identidad.

En Madrid, a…... de……. de 200

Firma:

DNI : Servicio de Genética

2. MÉTODOS

2.1. ESTUDIO MOLECULAR

Dependiendo del año en el que se realizó la determinación, el análisis genético se llevó a cabo mediante el estudio de algunos exones de los genes *BRCA1* (exón 2, 8 y 18) y *BRCA2* (exón 11, 23 y 25), por secuenciación completa del gen, por análisis dirigido en familias de portador/a de mutación conocida o por MLPA para grandes reordenamientos genéticos.

Las mutaciones fueron consideradas patogénicas si daban lugar a un codón de parada prematuro y/o eran consideradas patogénicas en las distintas bases de datos como Human Genome Variation Society (HGSV) o BIC.

Tanto las mutaciones como las variantes de significado desconocido han sido revisadas, en el momento de escribir la tesis, en las distintas bases de datos de cáncer de mama para confirma si había algún cambio en su significado o importancia clínica.

2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El estudio se inició con el cálculo de la prevalencia de mutación en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en nuestra población de estudio. La prevalencia es un valor estático que mide la cantidad de eventos en un determinado instante

y se basa en la proporción de sujetos afectados (casos) en la población examinada en el momento de efectuar el estudio.

Se ha realizado un análisis descriptivo de las variables demográficas y clínicas recogidas en el estudio tanto para los casos de cáncer de mama como para los pacientes sanos.

Para las variables categóricas ordinales y nominales se calculó la frecuencia de pacientes en cada categoría y para las variables cuantitativas se calcularon la media, mediana, DE y percentiles.

Se ha utilizado la prueba de Chi-cuadrado de Pearson (χ^2) para relacionar dos variables con 2 o más categorías, como son: la presencia de mutación y características oncológicas, la presencia de mutación y características clínico-patológicas entre los pacientes afectos por cáncer de mama, riesgo de los portadores de mutación a otros tumores y asociación entre los antecedentes oncológicos familiares y presencia de mutación.

Cuando alguna de las frecuencias esperadas ha sido inferior a 5, al tratarse de estudios de asociación entre dos variables categóricas, se ha utilizado la extensión de la *prueba exacta de Fisher*.

Como el valor de χ^2 no es una medida de la intensidad de la relación entre dos variables categóricas, porque aumenta con el número de casos, se he calculado el OR como medida adecuada para valorar la intensidad de la relación. La OR es el cociente entre las oportunidades de los sujetos expuestos y los no expuestos (indica una asociación de mayor magnitud que si se valora con RR), según la cual nos podemos encontrar los siguientes casos:

- OR>1: asociación positiva, se interpreta como factor de riesgo.

- OR=1: ausencia de asociación, no existe riesgo.
- OR<1: asociación negativa, se interpreta como factor protector.

La OR se ha acompañado del Intervalo de Confianza al 95%, debido a que la OR puede tomar valores que oscilan entre 0 e infinito dando una distribución normal asimétrica, normalizando la distribución muestral con la transformación logarítmica de OR. Los IC no deben contener el valor 1, así se demuestra que la variable es de interés para el modelo.

En los casos en los que la tabla presenta una casilla vacía (valor 0), se ha aplicado una corrección de continuidad para poder calcular la OR. Esta corrección ha consistido en sumar K=0,5 a todas las casillas, lo que se conoce como "*corrección clásica"*.

Por último, se ha querido calcular la relación entre una variable dependiente y una o más variables independientes. Para esto se ha utilizado un modelo de regresión, y en particular Regresión Logística al ser la variable dependiente dicotómica. Las variables independientes categóricas con más de dos categorías, se han dicotomizado para reducir sus dimensiones. El objetivo del estudio por este modelo es ver cómo afecta en las variables dependientes alguna característica independiente. En la regresión logística no se construye una ecuación para estimar el valor de la variable dependiente, sino una función basada en el cálculo de probabilidades. De forma que la variable dependiente no está restringida a un conjunto de valores sino que puede tomar distintas probabilidades. La técnica que se ha utilizado para construir el modelo de regresión es la "*técnica de pasos hacia atrás*". Se han tenido en cuenta los modelos que ha proporcionado el programa SPSS para la construcción de nuestra Regresión Logística, como

son la R cuadrado de Cox y Snell, la R cuadrado de Nagelkerke y el estadístico de Wald.

En todos los análisis se aceptó un nivel de significación estadística del 5% ($p<0,05$).

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa estadístico SPSS v15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, Estados Unidos).

RESULTADOS

Las 412 familias y 541 pacientes que acudieron a la consulta de Cáncer Familiar, se clasificaron en función de la historia familiar para la evaluación del riesgo. Y así proceder, en los casos oportunos, a la realización del estudio genético. Se utilizaron los criterios clínicos, para identificar a familias con "Síndrome de cáncer de mama-ovario hereditario", que se seguían en el momento. Las características de las 412 familias incluidas en el estudio están recogidas en la tabla 0.

Tabla 0. **Historia familiar de cáncer de mama y mutaciones en BRCA1 y BRCA2, en los pacientes que acuden a la consulta.**

HISTORIA FAMILIAR	Nº FAMILIAS (PACIENTES)	MUTACIÓN PATOGÉNICA	
		BRCA1	***BRCA2***
		Nº familias (pacientes)	Nº familias (pacientes)
Familias con CM exclusivamente:			
1 caso < 40 años	93 (128)	10 (16)	5 (15)
2 casos < 50 años	63 (75)	1 (1)	4 (4)
≥3 casos a cualquier edad	125 (181)	6 (8)	5 (7)
Familias con CM y CO	51 (73)	4 (6)	2 (4)
Familias con CO exclusivamente	5 (8)	-	-
Familias con CM varón	7 (8)	-	-
No procede	34		
No datos/no se realiza	34		

CM: cáncer de mama; CO: cáncer de ovario

1. Determinar la prevalencia de mutaciones y variantes de significado desconocido en el gen *BRCA1* y en el gen *BRCA2* en la población de estudio. Descripción de las mismas.

La prevalencia de mutación germinal en el grupo de pacientes que acude a la consulta de Cáncer Familiar ha sido de 11,3% (61/541). De las 61 mutaciones detectadas, el 86,9% corresponde a mujeres y un 13,1% a hombres. Como observamos en las *tablas 1.1* y *1.2*, la distribución de las mutaciones en los genes *BRCAx* es muy similar en ambos grupos y para ambos genes.

Así mismo, la prevalencia de mutación germinal en los genes *BRCA*1 y *BRCA2* cuando el consultante presentaba cáncer de mama alcanza el 10,6% (37/349). Las 37 mutaciones que se encontraron pertenecen a mujeres, no se encontró ninguna mutación en los hombres afectos, sólo 2 VSD en *BRCA2*.

Los resultados de la *tabla 1.3* muestran que, en el grupo de afectos por cáncer de mama, un 56,8% de las mutaciones se encuentran en *BRCA1* y un 43,2% en *BRCA2*. Mientras que en el grupo del total de pacientes que acuden a la consulta (*tabla 1.1* y *1.2*), un 50,8% de las mutaciones se localizan en *BRCA1* y un 49,2% en *BRCA2*.

De las mutaciones caracterizadas en el gen *BRCA1*, un 42,1% se localizaron en el exón 18; y de las mutaciones en el gen *BRCA2*, un 61,1% se localizaron en el exón 11.

Podemos observar en las *tablas 1.1*, *1.2* y *1.3,* como el estudio mutacional de los genes *BRCA1/2* detecta un alto porcentaje de variantes de significado desconocido. La prevalencia de las mismas en el total de pacientes que acuden a la consulta alcanza el 15,5% (84/541); y la prevalencia de las VSD cuando el consultante presenta cáncer de mama alcanza el 17,2% (60/349).

En nuestra población de estudio hemos encontrado: 19 VSD (42,1% en *BRCA1* y 57,9% en *BRCA2*), 8 variantes clasificadas actualmente como de carácter neutral (37,5% en *BRCA1* y 62,5% en *BRCA2)* y 12 SNPs (41,7% en *BRCA1* y 58,3% en *BRCA2*). La prevalencia observada de los polimorfismos en *BRCA1* es del 14,2% y en *BRCA2* es del 9,8%. Estos datos se reflejan en las *tablas 1.7* y *1.8*.

El estudio genético al principio se restringía a determinados exones de los genes, donde recaían la mayor parte de las mutaciones descritas. Posteriormente, se comenzó con la secuenciación completa del gen. El porcentaje de estudio completo de los genes *BRCAs* en las mujeres está en torno al 70%, y en los hombres es casi del 100%.

Hemos tenido casos perdidos, como se observa en las siguientes tablas, sobre todo por un momento puntual en el que hubo problemas económicos-administrativos con la comunidad. Durante el cual, no se ha hecho estudio mutacional a 42 pacientes, de los cuales 34 eran mujeres con cáncer de mama, un hombre con cáncer de mama y 5 mujeres y 2 hombres sanos pero con alto riesgo por los antecedentes familiares.

Tabla 1.1. **Presencia de mutación en el grupo de mujeres que acuden a la consulta de cáncer de mama (*N=503*).**

	N	%
CÁNCER DE MAMA		
Con cáncer de mama	342	68,0
Sana/familiares	161	32,0
Total	503	100,0
PRESENCIA DE MUTACIÓN		
No	211	61,9
Sí	53	15,5
VSD	77	22,6
Total	341	100,0
Sin estudiar*	162	
(*)Sin estudiar:		
Por no cumplir criterios	119	73,4
Por problemas administrativos-económicos	39	24,1
No se identifica causa	4	2,5
Total	162	100,0
ESTUDIO COMPLETO DEL GEN		
No	85	30,6
Sí	193	69,4
Total	278	100,0
Estudio dirigido	63	
Perdidos	162	
GEN MUTADO		
BRCA1	27	50,9
BRCA2	26	49,1
Total	53	100,0
GEN ALTERADO (VSD)		
BRCA1	38	49,4
BRCA2	17	22,1
BRCA1 y BRCA2	22	28,6
Total	77	100,0

Tabla 1.2. **Presencia de mutación en el grupo de hombres que acuden a la consulta de cáncer de mama (*N=38*).**

	N	%
CÁNCER DE MAMA		
Con cáncer	7	18,4
Sano/familiares	31	81,6
Total	38	100,0
PRESENCIA DE MUTACIÓN		
No	18	54,6
Sí	8	24,2
VSD	7	21,2
Total	33	100,0
Sin estudiar*	5	
(*)Sin estudiar:		
Por no cumplir criterios	1	20,0
Por problemas administrativos-económicos	3	60,0
No se identifica causa	1	20,0
Total	5	100,0
ESTUDIO COMPLETO DEL GEN		
No	0	0,0
Sí	13	100,0
Total	13	100,0
Estudio dirigido	20	
GEN MUTADO		
BRCA1	4	50,0
BRCA2	4	50,0
Total	8	100,0
GEN ALTERADO (VSD)		
BRCA1	3	42,9
BRCA2	4	57,1
Total	7	100,0

Tabla 1.3. **Cáncer de mama y mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* (*N=349*).**

	N	%
PRESENCIA DE MUTACIÓN		
No	169	63,5
Sí	37	13,9
VSD	60	22,6
Total	266	100,0
Sin estudiar*	83	
(*)Sin estudiar:		
Por no cumplir criterios	47	56,6
Por problemas administrativos-económicos	35	42,2
No se identifica causa	1	1,2
ESTUDIO COMPLETO DEL GEN		
No	82	32,5
Sí	170	67,5
Total	252	100,0
Estudio dirigido	14	100,0
GEN MUTADO		
BRCA1	21	56,8
BRCA2	16	43,2
Total	37	100,0
GEN ALTERADO (VSD)		
BRCA1	32	53,3
BRCA2	12	20,0
BRCA1 y BRCA2	16	26,7
Total	60	100,0

Tabla 1.4. **Presencia de mutación en el grupo de mujeres con cáncer de mama (*N=342*).**

	N	%
PRESENCIA DE MUTACIÓN		
No	165	63,5
Sí	37	14,2
VSD	58	22,3
Total	260	100,0
Sin estudiar (*)	82	
(*)Sin estudiar:		
Por no cumplir criterios	47	57,3
Por problemas administrativos-económicos	34	41,5
No se identifica causa	1	1,2
Total	82	100,0
ESTUDIO COMPLETO DEL GEN		
No	82	33,3
Sí	164	66,7
Total	246	100,0
Estudio dirigido	14	
GEN MUTADO		
BRCA1	21	56,8
BRCA2	16	43,2
Total	37	100,0
GEN ALTERADO (VSD)		
BRCA1	32	55,2
BRCA2	10	17,2
BRCA1 y BRCA2	16	27,6
Total	58	100,0

Tabla 1.5. **Presencia de mutación en el grupo de hombres con cáncer de mama (*N=7*).**

	N	%
PRESENCIA DE MUTACIÓN		
No	4	66,7
Sí	0	0,0
VSD	2	33,3
Total	6	100,0
Sin estudiar*	1	
(*)Sin estudiar:		
Por no cumplir criterios	0	0,0
Por problemas administrativos-económicos	1	100,0
No se identifica causa	0	0,0
Total	1	100,0
ESTUDIO COMPLETO DEL GEN		
No	1	14,3
Sí	6	85,7
Total	7	100,0
Estudio dirigido	0	
GEN ALTERADO (VSD)		
BRCA1	0	0,0
BRCA2	2	100,0
Total	2	100,0

A continuación se muestran las tablas con la descripción de las mutaciones encontradas así como de las VSD y SNPs.

Tabla 1.6. **Descripción de las mutaciones encontradas.**

GEN	EXÓN	ALTERACIÓN MOLECULAR	ALTERACIÓN Cdna	CAMBIO PROTEICO	dbSNP	TIPO	N
BRCA1	2	185delAG	c.66_67delAG	p.Leu22_Glu23LeuValfs	rs80357713	F	1
	5	330A>G	c.330A>G	p.Arg71Gly	no BIC	S	1
	7	P142H	c.425C>A	p.Pro142His	rs55971303	M	1
	8	S157X	c.589-590delCT	p.Ser157Ter	rs80357887	F	4
	8	638delG	no BIC	no BIC	no BIC	N	2
	11	S426X	-	p.Ser426Ter	no BIC	N	3
	11	3450del4	c.3331_3334delCAAG	p.Gln1111_Glu1112?fs	rs80357903	F	1
	I-18	IVS18-1 G>A	c.5153-1G>A	-	rs80358137	IVS/S	3
	I-18	IVS18+3 A/T	c.5152+3 A/T	-	no BIC	IVS/S	2
	18	G1706E	c.5117 G>A	p.Gly1706Glu	rs80356860	M	6
	18	A1708E	c.5123 C>A	p.Ala1708Glu	rs28897696	M	2
	18	A1693del	c.5077_5079delGCT	p.Ala1693delAla	80358345	In frame	1
	19	W1718X	c.5153G>A	p.Trp1718Ter	rs41293461	N	1
	19	Q1721R	c.5281delA	p.Gln1721ArgfsX9	no BIC	M	2
	-	desconocida	-	-	-	-	1
BRCA2	11	L1908R	no BIC	p.Leu1908Argfs	no BIC	M	1
	11	3036del4	c.2808_2811delACAA	p.Lys936_Gln937?fs	rs80359352	F	3
	11	3492insT	c.3264_3265insT	p.Pro1088_Gln1089?fs	rs80359380	F	6
	11	E1308X	c.3922G>T	p.Glu1308Ter	rs80358638	N	1
	11	Y1313X	c.3939C>A	p.Tyr1313Ter	rs80358641	N	2
	11	5032delA	no BIC	no BIC	no BIC	N	1
	11	5164del4	c.4936_4939delGAAA	p.Glu1646_Thr1647?fs	rs80359473	F	2
	11	5950delCT	c.5722_5723delCT	p.Leu1908Argfs	rs80359531	F	1
	11	6672del4	c.6444_6447delTATT	p.Ser2148_Ile2149?fs	rs80359591	F	1
	11	6310delGA	c.6082_6086delGA	p.Glu2028_Glu2029?fs	no BIC	F	1
	11	Q699X	no BIC	no BIC	no BIC	N	1
	16	C2549X	c.7647C>A	p.Cys2549Ter	rs80358993	N	3
	18	2678insGA	no BIC	no BIC	no BIC	F	2
	23	delCinsTACT	no BIC	no BIC	no BIC	F	3
	23	Y3006X	c.9018C>A	p.Tyr3006Ter	rs80359154	N	1
	25	desconocida	-	-	-	-	1

F: frameshift; S: splicing; N: nonsense; M: missense; BIC: Breast Cancer Information Core.

Tabla 1.7: **Descripción de las alteraciones encontradas en *BRCA1* con significado desconocido o no patológico.**

GEN	EXÓN/ INTRÓN	ALTERACIÓN MOLECULAR	ALTERACIÓN cDNA	CAMBIO PROTEICO	dbSNP	TIPO	IMPORTANCIA CLÍNICA	N
BRCA1	I-1	IVS1-33 insAT	c.-19-33_19-32insAT	-	no BIC	IVS	VSD	1(1)
	I-2	IVS2-55 T>C	c.81-55T>C	-	no BIC	IVS	VSD	1(1)
	I-2	IVS2-65 G>C	c.81-65G>C	-	rs.80358117	IVS	No	4(7)
	I-2	IVS2-11delT	c.81-11_81-11delT	-	-	IVS	VSD	1(2)
	7	P142H	c.425C>A	p.Pro142His	rs55971303	M	VSD	2(4)
	I-11	IVS11+15 T>C	c.4096+15T>C	-	no BIC	IVS	VSD	1(2)
	11	Q356R	c.1067A>G	p.Gln356Arg	rs1799950	M	SNP	8(14)
	11	L973R	-	-	-	M	VSD	1(2)
	11	M1008I	c.3024G>A	p.Met1008Ile	rs1800704	M	VSD	1(1)
	11	E1250K	c.3748G>A	p.Glu1250Lys	rs28897686	M	No	1(2)
	11	S1040N	c.3119G>A	p.Ser1040Asn	rs4986852	M	SNP	5(10)
	I-15	IVS15-55C>T	c.4676-55C>T	-	no BIC	IVS	VSD	2(4)
	16	M1652I	c.4956G>A	p.Met1652Ile	rs1799967	M	SNP	1(2)
	I-17	IVS17-53C>T	c.5075-53C>T	-	rs8176258	IVS	SNP	7(11)
	I-17	IVS17+65 G>A	c.5074+65G>A	-	rs8176235	IVS	SNP	25(40)
	I-20	IVS20-4delTTC	-	-	no BIC	IVS	No	1(1)

VSD: variante de significado desconocido; SNP: polimorfismo; M: missense; IVS: variante secuencia intrónica.

Tabla 1.8: **Descripción de las alteraciones encontradas en *BRCA2* con significado desconocido o no patológico.**

GEN	EXÓN/ INTRÓN	ALTERACIÓN MOLECULAR	ALTERACIÓN cDNA	CAMBIO PROTEICO	dbSNP	TIPO	IMPORTANCIA CLÍNICA	N
BRCA2	3	A75P	c.223G>C	p.Ala75Pro	rs28897701	M	VSD	1(1)
	I-4	IVS4+67A>C	c.425+67A>C	-	-	IVS	No	11(21)
	4	S142N	c.653G>A	P.Ser142Asn	no BIC	M	VSD	1(1)
	I-6	IVS6-19C>T	c.517-19C>T	-	rs11571623	IVS	SNP	3(5)
	I-7	IVS7+25C/T	c.631+25C/T	-	no BIC	IVS	VSD	1 (1)
	9	D252N	c.982G>A	p.Asp982Asn	no BIC	M	VSD	2(4)
	10	N372H	c.1114A>C	p.Asn372His	no BIC	M	Sí	1(2)
	I-11	IVS11-20 T>A	c.6842-20T>A	-	rs81002811	IVS	VSD	1(2)
	11	R2034C	c.6100C>T	p.Arg2034Cys	rs1799954	M	SNP	7 (12)
	11	T1915M	c.5744C>T	p.Thr1915Met	-	M	SNP	3(6)
	11	Q1416E	c.4474C>G	p.Gln1416Glu	-	M	VSD	2(3)
	11	E1644Q	c.5158G>C	p.Glu1644Gln	no BIC	M	VSD	1(2)
	11	N991D	c.2971A>G	p.Asn991Asp	rs1799944	M	SNP	4(7)
	I-12	IVS12-120 C>T	c.6938-120C>T	-	no BIC	IVS	VSD	2(4)
	I-13	IVS13-62A>G	c.7008-62A>G	-	rs76584943	IVS	VSD	3(5)
	14	T2399I	c.7195C>T	p.Thr2399Ile	no BIC	M	VSD	1(2)
	14	A2466V	c.7397C>T	p.Ala2466Val	rs169547	M	SNP	2(4)
	I-19	IVS19+47C>T	c.8487+47C>T	-	rs11571744	IVS	No	2(4)
	I-19	IVS19-113 insC	no BIC	-	no BIC	IVS	No	2(4)
	22	A2951T	c.8851G>A	p.Ala2951Thr	rs11571769	M	SNP	3(6)
	I-24	IVS24-113T>C	c.9257-113T>C		no BIC	IVS	No	3(4)
	I-24	IVS24-83G>A	c.9257-83G>A		-	IVS	No	2 (3)
	I-24	IVS24+58T>C	c.9256+58T>C	-	no BIC	IVS	VSD	1(2)
	27	I3412V	c.10234A>G	p.Ile3412Val	rs1801426	M	SNP	2 (3)

VSD: variante de significado desconocido; SNP: polimorfismo; M: missense; IVS: variante secuencia intrónica.

2. Estimar la frecuencia de las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en función del número de familiares afectos. Analizar si la presencia de antecedentes oncológicos familiares predicen la presencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2*.

Se ha recogido toda la información posible de los antecedentes familiares de cáncer de mama y ovario de los pacientes que acudieron a la consulta. Pero, en todos los casos, no ha sido posible.

Como se ilustra en la *tabla 2.1*, el porcentaje mayor de mutaciones lo encontramos cuando el número de familiares afectos es de 3 o mayor. El 80,5% de las mutaciones en *BRACx* se observan en pacientes con 3 o más familiares afectos de cáncer de mama.

Tabla 2.1. **Distribución de la presencia de mutación según el número de familiares con cáncer de mama.**

	MUTACIÓN	
	N	**%**
Nº Familiares afectos:		
1	2	3,6
2	9	16,1
3	14	25,0
4	14	25,0
5	10	17,9
6	3	5,4
7	2	3,6
8	2	3,6
Total	56	100,0
Perdidos	5	
Total	61	

Se ha considerado familia de alto riesgo a aquella que presenta, por lo menos, 3 familiares afectos de cáncer de mama.

Como se observa en la *tabla 2.2*, sólo se ha encontrado significación estadística entre la presencia de mutación y el presentar al menos tres familiares afectos (*p=0,007*). Así, los casos de familias con 3 o más casos de cáncer de mama tienen un riesgo 2,6 veces mayor de presentar mutación en los genes de susceptibilidad al cáncer de mama *BRCA1/2*.

Tabla 2.2. **Asociación entre la presencia de mutación y el número de afectos en la familia por CMO.**

	Nº FAMILIARES AFECTOS					
	<2		**≥2**			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR (IC95%)**	***p***
MUTACIÓN						
Sí	2	3,6	53	96,4	0,3 (0,1-1,3)	0,091
No	32	11,3	252	88,7		
Total	34	10	305	90		
	<3		**≥3**			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR (IC95%)**	***p***
MUTACIÓN						
Sí	11	19,6	45	80,4	**2,6 (1,3-5,2)**	**0,007**
No	110	38,6	175	61,4		
Total	121	35,5	220	341		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

3. Describir las características oncológicas y clínico-patológicas del cáncer de mama en la muestra. Contrastar las mismas entre los portadores y los no portadores de mutación en los genes *BRCAs*.

Un total de 412 familias (541 pacientes) acudieron a la consulta de Cáncer Familiar del Servicio de Genética Médica y de estos, 349 pacientes presentaban cáncer de mama.

En la *tabla 3.1*, se muestran las características demográficas de todos los pacientes con cáncer de mama con el fin de analizar la situación en nuestra muestra. Así observamos que, el 98% de los pacientes con CM son mujeres y sólo un 2% hombres. En ambos grupos, el carcinoma ductal infiltrante es el más frecuente observado (72,3% en mujeres y 57,1% en hombres). Respecto a la edad de presentación del CM, un 71,4% de las mujeres es antes de los 50 años; en contraposición del grupo de hombres, con un 28,6% presentándolo antes de los 50 años.

En cuanto a las características oncológicas (*tabla 3.2*) del grupo de mujeres con CM, un 90,1% no presentó bilateralidad, ni recaída, observándose metástasis en un 44,3% de los casos. Todos estos datos son del momento en el que acudieron a la consulta, no tenemos datos posteriores. El 53,3% de las pacientes presentó CM en estadio I/II y un 60,8% un índice de proliferación medio-bajo. Además, aproximadamente el 70% presenta positividad a RE y negatividad para Her2.

En la *tabla 3.3* y *tabla 3.4*, se resumen las características ginecológicas de las pacientes. Observándose una edad de menarquía temprana sólo en el 20,7% de los casos, nuliparidad en el 20,1%, un 44,1% con una edad de

menarquía por encima de los 50 años; y quizá lo más reseñable es el 58,5% de las pacientes que no dieron lactancia a sus hijos (aunque un 20,1% fue porque no tuvieron hijos). Como se puede ver en la *tabla 3.4*, la media de la edad de menopausia observada en nuestra muestra es bastante temprana. Esto es así porque se ha incluido la edad de menopausia iatrogénica de determinadas pacientes.

***Tabla 3.1*. Distribución de los casos de cáncer de mama en función del sexo, edad, y tipo histológico.**

	MUJER		**HOMBRE**	
	N	**%**	**N**	**%**
SEXO	342	98	7	2
EDAD				
< 40 años	112	33,6	1	14,3
40-50 años	126	37,8	1	14,3
51-60 años	61	18,3	3	42,9
> 60 años	35	10,5	2	28,6
Perdidos	8			
CÁNCER DE MAMA				
Ductal infiltrante	232	72,3	4	57,1
Ductal “in situ”	35	10,9	1	14,3
Lobulillar infiltrante	23	7,1	0	0,0
Otros	31	9,7	2	28,6
Perdidos	21			

***Tabla 3.2*. Estudio del cáncer de mama en el grupo de mujeres (*N=342*).**

		N	%
BILATERALIDAD	No	290	90,1
	Sí	32	9,9
	Total	322	100,0
	Perdidos	20	
RECAÍDA	No	263	81,7
	Sí	59	18,3
	Total	322	100,0
	Perdidos	20	
METÁSTASIS	No	157	55,7
	Sí	125	44,3
	Total	282	100,0
	Perdidos	60	
GRADO	GI	33	13,7
	GII	95	39,6
	GIII	111	46,1
	GIV	2	0,8
	Total	241	100,0
	Perdidos	101	
RECEPTOR DE ESTRÓGENOS	No	88	31,9
	Sí	188	68,1
	Total	276	100,0
	Perdidos	66	
RECEPTOR DE PROGESTERONA	No	119	43,3
	Sí	156	56,7
	Total	275	100,0
	Perdidos	67	
HER2	No	174	73,1
	Sí	64	26,9
	Total	238	100,0
	Perdidos	104	
P53	No	155	73,8
	Sí	55	26,2
	Total	210	100,0
	Perdidos	132	
ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN	Muy alta	33	19,3
	Alta	34	19,9
	Media	32	18,7
	Baja	66	38,6
	Muy baja	6	3,5
	Total	171	100,0
	Perdidos	171	

Tabla 3.3. **Características ginecológicas del cáncer de mama en mujeres (*N=342*).**

	N	%
EDAD DE MENARQUIA		
< 12 años	55	20,7
12-13 años	132	49,7
14-15 años	69	25,9
> 16 años	10	3,8
Total	266	100,0
Perdidos	76	
LACTANCIA		
No	127	58,5
Sí	90	41,5
Total	217	100,0
Perdidos	125	
NÚMERO DE HIJOS		
Nulípara	59	20,1
1 hijo	57	19,4
2-3 hijos	156	53,1
≥ 4 hijos	22	7,4
Total	294	100,0
Perdidos	48	
EDAD DEL PRIMER HIJO		
< 20 años	2	2,9
20-25 años	18	26,9
26-30 años	32	47,8
31-35 años	12	17,9
> 35 años	3	4,5
Total	67	100,0
Perdidos	214	
MENOPAUSIA		
Sí	183	65,4
No	97	34,6
Total	280	100,0
Perdidos	62	
EDAD MENOPAUSIA		
≤ 40 años	5	5,4
41-45 años	15	16,1
46-50 años	32	34,4
> 50 años	41	44,1
Total	93	100,0
Perdidos	90	

Tabla 3.4. **Estudio descriptivo de la edad de menarquía, edad a la que tuvo el primer hijo y edad de menopausia, en el grupo de mujeres con cáncer de mama (*N=342*).**

	EDAD DE MENARQUIA	*EDAD PRIMER PARTO*	*EDAD DE MENOPAUSIA*
MEDIA	12,74	27,87	45,96
DE	1,487	4,426	6,652
MEDIANA	13	28	47
MÍNIMO	9	18	25
MÁXIMO	18	37	58
P25	12	25	42
P75	14	30,5	51

En la *tabla 3.5* y en la *tabla 3.6,* se comparan las características oncológicas y clínico patológicas del CM entre los potadores y los no portadores de mutación en *BRCAs*. Como podemos ver, sólo se observa asociación (*p<0,001*) entre la presencia de mutación y presentar un tumor TN con un 0R: 12,1. Y al desglosar las mutaciones en *BRCAs*, en *BRCA1* y *BRCA2* (*tabla 3.7*, *tabla 3.8*, *tabla 3.9* y *tabla 3.10*), se corrobora lo descrito en la introducción; mostrándose que la asociación observada, es entre la presencia de mutación en *BRCA1* y tumores TN con un OR: 9,3. Mientras que se obtiene una asociación negativa, o factor protector, entre mutación en *BRCA2* y tumor TN. El resto de los parámetros estudiados no presentaron asociación alguna con la presencia de mutaciones.

Tabla 3.5. **Asociación entre la presencia de mutación y características oncológicas en los pacientes afectos de cáncer de mama (*N=349*).**

	MUTACIÓN					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR (IC 95%)	*p*
CÁNCER INFILTRANTE						
Sí	30	13,9	186	86,1	1,9 (0,5-6,5)	0,435
No	3	7,9	35	92,1		
Total	33	13,0	221	87,0		
BILATERALIDAD						
Sí	6	24,0	19	76,0	2,4 (0,9-6,5)	0,083
No	27	11,7	203	88,3		
Total	33	12,9	222	87,1		
TRIPLE NEGATIVO						
Sí	16	50,0	16	50,0	**12,1 (5,0-29,2)**	**0,000**
No	14	7,7	169	92,3		
Total	30	14,0	185	86,0		
OTROS CÁNCERES						
Sí	4	13,3	26	86,7	1,1 (0,4-3,2)	1,000
No	33	14,0	203	86,0		
Total	37	13,9	229	86,1		
CÁNCER DE OVARIO						
Sí	2	33,3	4	66,7	0,3 (0,1-1,7)	0,197
No	35	13,5	225	86,5		
Total	37	13,9	229	86,1		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Tabla 3.6. **Asociación entre la presencia de mutación e historia ginecológica (*N=349*).**

	MUTACIÓN					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR (IC 95%)	*p*
MENARQUIA						
< 12 años	4	10,0	36	90,0	0,9 (0,3-2,7)	1,000
≥ 12 años	18	11,3	141	88,7		
Total	22	11,1	177	88,9		
HIJOS						
Sí	18	10,2	158	89,8	2,0 (0,8-4,7)	0,121
No	9	18,4	40	81,6		
Total	27	12,0	198	88,0		
EDAD PRIMER PARTO						
< 30 años	4	10,3	35	89,7	1,6 (0,3-8,2)	0,673
≥ 30 años	3	15,8	16	84,2		
Total	7	12,1	51	87,9		
LACTANCIA						
Sí	11	11,8	82	88,2	0,7 (0,3-1,8)	0,495
No	11	15,5	60	84,5		
Total	22	13,4	142	86,6		
MENOPAUSIA						
≤ 52 años	3	8,6	32	91,4	0,3 (0,0-3,5)	0,615
>52 años	1	3,1	31	96,9		
Total	4	6,0	63	94,0		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Tabla 3.7. **Asociación entre la presencia de mutación en *BRCA1* y características oncológicas en los pacientes afectos de cáncer de mama (*N=37*).**

	BRCA1					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR IC (95%)	*p*
CÁNCER INFILTRANTE						
Sí	18	60,0	12	40,0	0,8 (0,1-9,2)	1,000
No	2	66,7	1	33,3		
Total	20	60,6	13	39,4		
BILATERALIDAD						
Sí	3	50,0	3	50,0	0,6 (0,1-3,5)	0,659
No	17	63,0	10	37,0		
Total	20	60,6	13	39,4		
TRIPLE NEGATIVO						
Sí	14	87,5	2	12,5	**9,3 (1,5-57,7)**	**0,019**
No	6	42,9	8	57,1		
Total	20	66,7	10	33,3		
OTROS CÁNCERES						
Sí	2	50,0	2	50,0	1,4 (0,2-10,8)	1,000
No	19	57,6	14	42,4		
Total	21	56,8	16	43,2		
CÁNCER DE OVARIO						
Sí	1	50,0	1	50,0	1,3 (0,1-23,1)	1,000
No	20	57,1	15	42,9		
Total	21	56,8	16	43,2		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Tabla 3.8. **Asociación entre la presencia de mutación en *BRCA1* e historia ginecológica (*N=37*).**

	BRCA1					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR IC (95%)	*p*
MENARQUIA						
< 12 años	3	75,0	1	25,0	2,4 (0,2-27,7)	0,616
≥ 12 años	10	55,6	8	44,4		
Total	13	59,1	9	40,9		
HIJOS						
Sí	10	55,6	8	44,4	2,8 (0,5-17,4)	0,406
No	7	77,8	2	22,2		
Total	17	63,0	10	37,0		
EDAD PRIMER PARTO						
< 30 años	3	75,0	1	25,0	0,7 (0,0-18,1)	1,000
≥ 30 años	2	66,7	1	33,3		
Total	5	71,4	2	28,6		
LACTANCIA						
Sí	6	54,5	5	45,5	0,5 (0,1-2,7)	0,659
No	8	72,7	3	27,3		
Total	14	63,6	8	36,4		
MENOPAUSIA						
≤ 52 años	2	66,7	1	33,3	5,0 (0,1-220,4)	1,000
> 52 años	0	0,0	1	100,0		
Total	2	50,0	2	50,0		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Tabla 3.9. **Asociación entre la presencia de mutación en *BRCA2* y características oncológicas en los pacientes afectos de cáncer de mama (*N=37*).**

	BRCA2					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR IC (95%)	*p*
CÁNCER INFILTRANTE						
Sí	12	40,0	18	60,0	1,3 (0,1-16,4)	1,000
No	1	33,3	2	66,7		
Total	13	39,4	20	60,6		
BILATERALIDAD						
Sí	3	50,0	3	50,0	1,7 (0,3-10,1)	0,659
No	10	37,0	17	63,0		
Total	13	39,4	20	60,6		
TRIPLE NEGATIVO						
Sí	2	12,5	14	87,5	**0,1 (0,0-0,7)**	**0,019**
No	8	57,1	6	42,9		
Total	10	33,3	20	66,7		
OTROS CÁNCERES						
Sí	2	50,0	2	50,0	0,7 (0,1-5,9)	1,000
No	14	42,4	19	57,6		
Total	16	43,2	21	56,8		
CÁNCER DE OVARIO						
Sí	1	50,0	1	50,0	0,8 (0,0-13,0))	1,000
No	15	42,9	20	57,1		
Total	16	43,2	21	56,8		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Tabla 3.10. **Asociación entre la presencia de mutación en *BRCA2* e historia ginecológica (*N=37*).**

	BRCA2					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR IC (95%)	*p*
MENARQUIA						
< 12 años	1	25,0	3	75,0	0,4 (0,0-4,8)	0,616
≥ 12 años	8	44,4	10	55,6		
Total	9	40,9	13	59,1		
HIJOS						
Sí	8	44,4	10	55,6	0,4 (0,1-2,2)	0,406
No	2	22,2	7	77,8		
Total	10	37,0	17	63,0		
EDAD PRIMER PARTO						
< 30 años	1	25,0	3	75,0	1,5 (0,1-40,6)	1,000
≥ 30 años	1	33,3	2	66,7		
Total	2	28,6	5	71,4		
LACTANCIA						
Sí	5	45,5	6	54,5	2,2 (0,4-13,2)	0,659
No	3	27,3	8	72,7		
Total	8	36,4	14	63,6		
MENOPAUSIA						
≤ 52 años	1	33,3	2	66,7	0,3 (0,1-1,7)	1,000
> 52 años	1	100,0	0	0,0		
Total	2	50,0	2	50,0		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Tabla 3.11. **Asociación entre gen mutado y características oncológicas en las pacientes afectas de cáncer de mama (*N=37*).**

	GEN MUTADO					
	BRCA1		BRCA2			
	n	%	n	%	OR IC (95%)	*p*
CÁNCER INFILTRANTE						
Sí	18	60,0	12	40,0	1,3 (0,1-16,4)	1,000
No	2	66,7	1	33,3		
Total	20	60,6	13	39,4		
BILATERALIDAD						
Sí	3	50,0	3	50,0	1,7 (0,3-10,1)	0,659
No	17	63,0	10	37,0		
Total	20	60,6	13	39,4		
ALTO GRADO TUMORAL						
Sí	15	68,2	7	31,8	0,5 (0,1-2,9)	0,634
No	3	50,0	3	50,0		
Total	18	64,3	10	35,7		
TRIPLE NEGATIVO						
Sí	14	87,5	2	12,5	**0,1 (0,0-0,7)**	**0,019**
No	6	42,9	8	57,1		
Total	20	66,7	10	33,3		
METÁSTASIS						
Sí	3	25,0	9	75,0	**0,1 (0,0-0,4)**	**0,002**
No	16	84,2	3	15,8		
Total	19	61,3	12	38,7		
OTROS CÁNCERES						
Sí	2	50,0	2	50,0	0,7 (0,1-5,9)	1,000
No	19	57,6	14	42,4		
Total	21	56,8	16	43,2		
CÁNCER DE OVARIO						
Sí	1	50,0	1	50,0	0,8 (0,0-13,0)	1,000
No	20	57,1	15	42,9		
Total	21	56,8	16	43,2		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).

El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Tabla 3.12. **Asociación entre gen mutado e historia ginecológica en las pacientes afectas de cáncer de mama (*N=37*).**

	GEN MUTADO					
	BRCA1		BRCA2			
	n	%	n	%	OR IC (95%)	*p*
MENARQUIA						
< 12 años	3	75,0	1	25,0	0,4 (0,0-4,8)	0,616
≥ 12 años	10	55,6	8	44,4		
Total	13	59,1	9	40,9		
HIJOS						
Sí	10	55,6	8	44,4	0,4 (0,1-2,2)	0,406
No	7	77,8	2	22,2		
Total	17	63,0	10	37,0		
EDAD PRIMER PARTO						
< 30 años	3	75,0	1	25,0	1,5 (0,1-40,6)	1,000
≤ 30 años	2	66,7	1	33,3		
Total	5	71,4	2	28,6		
LACTANCIA						
Sí	6	54,5	5	45,5	2,2 (0,4-13,2)	0,659
No	8	72,7	3	27,3		
Total	14	63,6	8	36,4		
EDAD MENOPAUSIA						
≤ 52 años	2	66,7	1	33,3	5,0 (0,1-220,4)	1,000
> 52 años	0	0,0	1	100,0		
Total	2	50,0	2	50,0		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

No se ha obtenido asociación entre la presencia de mutación con cualquiera de las características ginecológicas de las pacientes. Es cierto que en estas características tenemos bastantes “datos perdidos”, pero también

hay que puntualizar que las características ginecológicas de las pacientes, incluidas en el estudio, son factores de riesgo tanto para el CME que para el CMH.

Se ha encontrado diferencia estadísticamente significativa (*p=0,003*) entre la presencia de mutación en *BRCAs* y edad de presentación del cáncer temprana (antes de los 40 años). En este grupo se observa un riesgo 2,8 veces superior de presentar mutación en *BRCAs*, como se detalla en la siguiente tabla.

***Tabla 3.13*. Asociación entre la presencia de mutación en *BRCAs* y edad de presentación.**

	MUTACIÓN					
	Sí		**No**			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR IC (95%)**	***p***
EDAD DE PRESENTACIÓN						
≤ 40 años	22	22,0	78	78,0	**2,8 (1,4-5,8)**	**0,003**
> 40 años	15	9,0	151	91,0		
Total	37	13,9	229	86,1		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson.

***Tabla 3.14*. Asociación entre edad de presentación y mutación en *BRCA1* o *BRCA2*.**

	GEN MUTADO					
	BRCA1		***BRCA2***			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR IC (95%)**	***p***
EDAD DE PRESENTACIÓN						
≤ 40 años	14	63,6	8	36,4	2,0 (0,5-7,6)	0,306
> 40 años	7	46,7	8	53,3		
Total	21	56,8	16	43,2		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson.

***Tabla 3.15.* Asociación entre la presencia de mutación en *BRCA1* y edad temprana de presentación del cáncer de mama (≤40 años), en el grupo de afectos con tumores triple negativo.**

	BRCA1					
	Sí		**No**			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR IC (95%)**	***p***
EDAD DE PRESENTACIÓN						
≤ 40 años	11	100,0	0	0,0	16,4 (0,63-428,7)	0,083
> 40 años	3	60,0	2	40,0		
Total	14	87,5	2	12,5		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

En cuanto a *BRCA2*, encontramos asociación entre mutación en dicho gen y presentar RE positivos (OR: 16; *p=0,004*; *tabla 3.16*) y RP positivos (OR: 13,2; *p=0,005*; *tabla 3.16*); incluso seleccionando portadores de mutación en *BRCA2* y Her2 negativo con RE positivo (OR: 15; *p<0,021*; *tabla 3.16*). Esto se asociaría con que los portadores de mutación en *BRCA2* presentarían fenotipo luminal, tanto fenotipo luminal A como fenotipo luminal B.

Tabla 3.16. Asociación de cáncer de mama subtipo "luminal" y mutación en *BRCA2*.

	BRCA2					
	Sí		**No**			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR IC (95%)**	***p***
RECEPTOR DE PROGESTERONA						
Positivo	7	70,0	3	30,0	**13,2 (2,1-82,1)**	**0,005**
Negativo	3	15,0	17	85,0		
Total	10	33,3	20	66,7		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

	BRCA2					
	Sí		**No**			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR IC (95%)**	***p***
RECEPTOR DE ESTRÓGENO						
Positivo	8	66,7	4	33,3	**16 (2,4-106,7)**	**0,004**
Negativo	2	11,1	16	88,9		
Total	10	13,9	20	86,1		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Seleccionando HER2 (-), obtenemos:

	BRCA2					
	Sí		**No**			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR IC (95%)**	***p***
RECEPTOR DE ESTRÓGENO						
Positivo	4	66,7	2	33,3	**15,0(1,6-142,2)**	**0,021**
Negativo	2	11,8	15	88,2		
Total	6	26,1	17	73,9		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

4. Comparación de los análisis univariante (Chi-cuadrado) y multivariante (Regresión Logística) de distintas características oncológicas del tumor.

Se ha realizado un análisis de regresión logística para definir si determinadas variables dependientes (distintas características del tumor) se ven influenciadas por determinadas variables independientes (presencia de mutación, edad de presentación del cáncer, edad de menarquía y edad de menopausia).

El estudio de regresión logística evidenció la presencia de mutación como único factor predictivo independiente de las distintas características del tumor (variables dependientes). No pasó lo mismo con la edad de presentación, así que esta variable se eliminó de la ecuación final. En la

tabla 4.1, se observa como la presencia de mutación fue una variable predictiva de presencia de cáncer TN, de bilateralidad del cáncer, de alto grado tumoral y tumor pobremente diferenciado.

Cabe destacar que mediante el análisis univariante, realizado por Chi-cuadrado, tanto la presencia de mutación como la edad de presentación temprana del tumor fueron factores predictivos de tumores TN, pobremente diferenciados y de alto grado tumoral. Aunque la magnitud del efecto, en cuanto a capacidad predictiva, fue mayor para el estatus TN (OR: 10,3 IC 95%: 4,2-25,4).

Tabla 4.1. **Análisis multivariante (ajustado por mutación y edad de presentación del tumor) vs univariante de las distintas características del tumor en el grupo de mujeres con cáncer de mama (N=342).**

		UNIVARIANTE			MULTIVARIANTE		
		N	**0R IC (95%)**	***p***	**N**	**0R IC (95%)**	***p***
TRIPLE NEGATIVO	Mutación	210	11,7(4,8-28,3)	**<0,001**	210	10,3(4,2 - 25,4)	**<0,001**
	Edad de presentación	272	2,5(1,3 - 4,8)	**0,008**	210	1,8(0,8 - 4,2)	0,175
BILATERALIDAD	Mutación	249	2,3(0,8 - 6,3)	0,103	249	3,0(1,0 - 8,5)	**0,043**
	Edad de presentación	322	0,7(0,3 - 1,5)	0,295	249	0,4(0,1 - 1,1)	0,067
DIFERENCIACIÓN DEL TUMOR	Mutación	183	5,1(1,9 - 13,2)	**0,001**	183	4,6(1,7 - 12,2)	**0,002**
	Edad de presentación	241	1,9(1,1 - 3,2)	**0,019**	183	1,5(0,8 - 2,8)	0,209
ALTO GRADO TUMORAL	Mutación	183	5,1(1,9 - 13,2)	**0,001**	183	4,6(1,7 - 12,2)	**0,002**
	Edad de presentación	241	1,9(1,1 - 3,2)	**0,019**	183	1,5(0,8 - 2,8)	0,209
CÁNCER INFILTRANTE	Mutación	248	1,9(0,5 - 6,5)	0,320	248	1,8(0,5 - 6,2)	0,374
	Edad de presentación	321	1,0(0,5 - 1,9)	0,948	248	1,3(0,6 - 2,7)	0,531

En las *tablas 4.2 y 4.3*, se encuentra mediante el análisis de regresión logística lo mismo que en la tabla anterior. Sólo se observa la presencia de mutación como variable predictiva independiente de estatus TN, cáncer de alto grado tumoral y pobremente diferenciados. Tanto la edad de menarquía como la edad de menopausia, no se consideran variables predictivas. Dato esperable ya que en los análisis realizados con anterioridad (Chi-cuadrado) se obtenía este dato. Por lo que estas variables actúan como factor de confusión y se eliminan de la ecuación.

Tabla 4.2. **Análisis multivariante (ajustado por mutación y edad de menarquia) vs univariante de las distintas características del tumor en el grupo de mujeres con cáncer de mama (*N=342*).**

		UNIVARIANTE			MULTIVARIANTE		
		N	**0R IC (95%)**	***p***	**N**	**0R IC (95%)**	***p***
TRIPLE NEGATIVO	Mutación	210	11,7(4,8-28,3)	**<0,001**	170	19,3 (6,7 - 55,8)	**<0,001**
	Edad de menarquia	226	0,9 (0,3 - 2,1)	0,722	170	0,8 (0,2 - 2,6)	0,691
BILATERALIDAD	Mutación	249	2,3 (0,8 - 6,3)	0,103	198	2,0 (0,6 - 6,6)	0,257
	Edad de menarquia	261	1,3 (0,5 - 3,3)	0,551	198	2,1 (0,8 - 5,7)	0,130
DIFERENCIACIÓN DEL TUMOR	Mutación	183	5,1(1,9 - 13,2)	**<0,001**	146	4,9 (1,5 - 15,5)	**0,007**
	Edad de menarquia	197	0,7 (0,4 - 1,4)	0,343	146	0,8 (0,4 - 1,9)	0,655
ALTO GRADO TUMORAL	Mutación	183	5,1(1,9 - 13,2)	**<0,001**	146	4,9 (1,5 - 15,5)	**0,007**
	Edad de menarquia	197	0,7 (0,4 - 1,4)	0,343	146	0,8 (0,4 - 1,9)	0,655
CÁNCER INFILTRANTE	Mutación	248	1,9(0,5 - 6,5)	0,434	197	0,3 (0,0 - 2,2)	0,232
	Edad de menarquia	260	0,6 (0,3 - 1,4)	0,246	197	1,7 (0,6 - 4,3)	0,298

Tabla 4.3. **Análisis multivariante (ajustado por mutación y edad de menopausia) vs univariante de las distintas características del tumor en el grupo de mujeres con cáncer de mama (*N=342*).**

		UNIVARIANTE			MULTIVARIANTE		
		N	**0R IC (95%)**	***p***	**N**	**0R IC (95%)**	***p***
TRIPLE NEGATIVO	Mutación	210	11,7(4,8- 28,3)	**<0,001**	210	11,9 (4,9 - 29,0)	**<0,001**
	Edad de menopausia	272	0,9 (0,4 - 1,7)	0,689	210	0,6 (0,3 - 1,5)	0,280
BILATERALIDAD	Mutación	249	2,3 (0,8 - 6,3)	0,103	249	2,3 (0,8 - 6,4)	0,101
	Edad de menopausia	322	0,6 (0,3 - 1,3)	0,198	249	0,6 (0,3 - 1,4)	0,210
DIFERENCIACIÓN DEL TUMOR	Mutación	183	5,1 (1,9 - 13,2)	**<0,001**	183	5,1 (2,0 - 13,3)	**0,001**
	Edad de menopausia	241	1,0 (0,6 - 1,7)	0,977	183	0,9 (0,5 - 1,7)	0,757
ALTO GRADO TUMORAL	Mutación	183	5,1 (1,9 - 13,2)	**<0,001**	183	5,1 (2,0 - 13,3)	**0,001**
	Edad de menopausia	241	1,0 (0,6 - 1,7)	0,977	183	0,9 (0,5 - 1,7)	0,757
CÁNCER INFILTRANTE	Mutación	248	1,9 (0,5 - 6,5)	0,320	248	1,9 (0,5 - 6,5)	0,319
	Edad de menopausia	321	0,8 (0,4 - 1,6)	0,528	248	0,7 (0,3 - 1,5)	0,369

5. Determinar el riesgo asociado en los portadores de mutación en los genes *BRCA1* y *BRCA2* a otros tumores diferentes al cáncer de mama.

El 10,9% de los pacientes con CM que acudieron a la consulta presentó otro tipo de cáncer. El más frecuente en las mujeres de este grupo fue el de colon, seguido del cáncer de ovario. En los hombres fue el cáncer de próstata (*tablas 5.1*, *5.2* y *5.3*).

Tabla 5.1. **Presencia de otro tipo de cáncer en los pacientes afectos de cáncer de mama que acuden a la consulta de nuestro hospital (se excluye el cáncer de piel no melanoma).**

	N	%
CÁNCER		
Sí *	38	10,9
No	311	89,1
Total	349	100,0
(*) Sí:		
Colon	10	23,8
Ovario	7	16,6
Endometrio	5	11,9
Pulmón	3	7,1
Renal	3	7,1
Melanoma	3	7,1
Próstata	2	4,8
Tiroides	2	4,8
Suprarrenal	1	2,4
Recto	1	2,4
Vías biliares	1	2,4
Leucemia	1	2,4
Gammapatía monoclonal	1	2,4
Vulva	1	2,4
Cérvix	1	2,4
Total	42	100,0

Tabla 5.2. **Distribución de los mismos en el grupo de hombres con cáncer de mama.**

	N	%
CÁNCER		
Sí *	2	28,6
No	5	71,4
Total	7	100,0
(*) Sí:		
Próstata	2	100,0
Total	2	100,0

Tabla 5.3. **Distribución de los mismos en el grupo de mujeres con cáncer de mama.**

	N	%
CÁNCER		
Sí *	36	10,5
No	306	89,5
Total	342	100,0
(*) Sí:		
Colon	10	25,0
Ovario	7	17,5
Endometrio	5	12,5
Renal	3	7,5
Melanoma	3	7,5
Pulmón	3	7,5
Tiroides	2	5,0
Suprarrenal	1	2,5
Recto	1	2,5
Vías biliares	1	2,5
Leucemia	1	2,5
Gammapatía monoclonal	1	2,5
Vulva	1	2,5
Cérvix	1	2,5
Total	40	100,0

Un 14,8% de los pacientes portadores de mutación en *BRCAs* que acudieron a la consulta, presentaron otro tipo de cáncer (70% CO, 20% endometrio, 10% colon), como se aprecia en la *tabla 5.4*. El 70% de los casos de observaron en pacientes con mutación en *BRCA2* y un 30% en *BRCA1*. Pero los casos de CO se distribuyeron de manera similar entre los portadores de mutación en *BRCA1* y *BRCA2* (30% vs 40%, respectivamente).

Tabla 5.4. **Presencia de otro tipo de cáncer, distinto al de mama, en los pacientes que acuden a la consulta del hospital y en los cuales se encuentra mutación en *BRCA1/2* (*N=61*).**

	N	%
CÁNCER		
Sí *	9	14,8
No	52	85,2
Total	61	100,0
(*) Sí:		
Colon	1	10,0
Endometrio	2	20,0
Ovario	7	70,0

	GEN MUTADO			
	BRCA1		***BRCA2***	
	N	**%**	**N**	**%**
Colon	-	-	1	10,0
Endometrio	-	-	2	20,0
Ovario	3	30,0	4	40,0

En el grupo de pacientes con CM y portadores de mutación, se encontró otro tipo de cáncer en el 10,8% de los mismos. En este grupo el cáncer observado con mayor frecuencia también fue el de ovario (aunque el número de casos es muy reducido). Como pasó en el grupo anterior, se han

localizado más tumores diferentes al CM entre los pacientes con mutación en *BRCA2 (*75%*)*. Pero la distribución del CO fue como en el caso anterior, 50% de los casos con mutación en *BRCA1* y 50% de los casos asociados a mutación en *BRCA2*.

Tabla 5.5. **Presencia de otro tipo de cáncer en los pacientes afectos de cáncer de mama y con mutación en el gen BRCA1/2 (*N=37*).**

	N	%
CÁNCER		
Sí *	4	10,8
No	33	89,2
Total	37	100,0
(*) Sí:		
Colon	1	25,0
Endometrio	1	25,0
Ovario	2	50,0
Total	4	100

	GEN MUTADO			
	BRCA1		***BRCA2***	
	N	**%**	**N**	**%**
Colon	-	-	1	25,0
Endometrio	-	-	1	25,0
Ovario	1	25,0	1	25,0
Total	1	25,0	3	75,0

Como se observa en las *tablas 5.6, 5.7* y *5.8*, no se ha encontrado asociación entre la presencia de mutación en *BRCAs* con el riesgo a presentar otros cánceres, tanto en los pacientes portadores de mutación como en los pacientes con CM y portadores de mutación. Se debería haber ampliado a familiares de primer grado para obtener muestras más grandes y así haber podido realizar un estudio comparativo fuerte. En ese caso, podríamos haber obtenido conclusiones más veraces respecto a la relación de otros tumores diferentes al CMO con la presencia de mutaciones en *BRCAs*.

***Tabla 5.6. E*stimación del riesgo asociado a distintos cánceres en los pacientes portadores de mutación que acuden a la consulta.**

	MUTACIÓN					
	Sí		**No**			
	n	**%**	**n**	**%**	**OR (IC 95%)**	***p***
OTROS CÁNCERES						
Sí	9	19,6	37	80,4	0,8 (0,4-1,7)	0,523
No	52	15,9	276	84,1		
Total	61	16,3	313	83,7		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).

El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson.

Tabla 5.7. **Estimación del riesgo asociado a distintos cánceres en los pacientes con cáncer de mama y portadores de mutación que acuden a la consulta.**

	MUTACIÓN					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR (IC 95%)	*p*
OTROS CÁNCERES						
Sí	4	13,3	26	86,7	1,1 (0,4-3,2)	1,000
No	33	14,0	203	86,0		
Total	37	13,9	229	86,1		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

Tabla 5.8. **Asociación entre melanoma y mutación en BRCA1 / 2 en todos los pacientes que acuden a la consulta de cáncer familiar.**

	MUTACIÓN					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR IC (95%)	*p*
CÁNCER DE PIEL						
Sí	1	25,0	3	75,0	1,7 (0,2-16,8)	0,511
No	60	16,2	310	83,8		
Total	61	16,3	313	83,7		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

6. Comparar las características clínico-patológicas del cáncer de mama entre el subgrupo de varones y el de mujeres.

En nuestro estudio, como observamos en la tabla 3.1, un 2% de los casos de cáncer de mama corresponden a varones (7 casos) frente al 98% de los casos de CM en mujeres.

Se ha elaborado una tabla para poder comparar las características oncológicas del CM en el grupo de varones y mujeres. Debido a la diferencia tan grande en cuanto a tamaño muestral, seguramente no se ha alcanzado significación estadística debido al bajo número de pacientes en el subgrupo de varones.

Como se observa en la *tabla 6.1*, en ambos grupos el tipo de cáncer con mayor frecuencia es el infiltrante. En los hombres no se observa bilateralidad del cáncer en ningún caso.

Todos los casos de cáncer de mama en los hombres fueron RE positivos, y todos menos uno RP positivos. Respecto a HER2, todos los casos de los que disponíamos fueron negativos para HER2.

Sólo hubo dos casos de CM masculino asociado a otro tipo de cáncer, en concreto próstata. Estos pacientes presentaron VSD en *BRCA2*. No se encontró mutación en *BRCAs* en los pacientes masculinos afectos por cáncer de mama.

Tabla 6.1. **Asociación entre la condición sexo y características oncológicas entre los pacientes con cáncer de mama.**

	SEXO					
	MUJER		HOMBRE			
	n	%	n	%	OR (IC 95%)	*p*
CÁNCER INFILTRANTE						
Sí	278	97,9	6	2,1	1,1 (0,1-9,2)	1,000
No	43	97,7	1	2,3		
Total	321	97,9	7	2,1		
BILATERALIDAD						
Sí	32	100,0	0	0,0	1,6 (0,1-28,5)	1,000
No	302	97,7	7	2,3		
Total	334	97,9	7	2,1		
TRIPLE NEGATIVO						
Sí	42	100,0	0	0,0	0,4(0,1-28,8)	0,596
No	230	97,5	6	2,5		
Total	272	97,8	6	2,2		
RECEPTOR ESTRÓGENO						
Sí	188	96,9	6	3,1	6,1(0,1-29,6)	0,182
No	88	100,0	0	0,0		
Total	276	97,9	6	2,1		
RECEPTOR DE PROGESTERONA						
Sí	156	96,9	5	3,1	0,3 (0,0-2,3)	0,244
No	119	99,2	1	0,8		
Total	275	97,9	6	2,1		

HER2						
Sí	64	100,0	0	0,0	0,3(0,0-5,7)	0,576
No	174	97,8	4	2,2		
Total	238	98,3	4	1,7		
OTROS CÁNCERES						
Sí	39	95,1	2	4,9	3,1 (0,6-16,6)	0,193
No	303	98,4	5	1,6		
Total	342	98,0	7	2,0		
MUTACIÓN						
Sí	37	100,0	0	0,0	0,5 (0,0-8,9)	1,000
No	304	97,7	7	2,3		
Total	342	98,0	7	2,0		

OR (IC 95%): Odds Ratio (Intervalo de confianza 95%).
El valor de p corresponde al test de la chi cuadrado de Pearson, salvo en los casos con < 5 observaciones en alguna celda en los que se utiliza el test exacto de Fisher.

7. Estudio del cáncer de ovario en los pacientes de estudio.

En la siguiente tabla observamos que, la prevalencia de CO en nuestro estudio ha sido del 4,4% (22/503). El 2,4% de esa prevalencia corresponde a pacientes que presentan sólo CO, y el 2% corresponde a pacientes con CO junto con otros cánceres. Como era de esperar, de los otros cánceres observados en las pacientes con CO, el 70% corresponde a CM, un 20% a cáncer de endometrio y un 10% a cáncer de colon.

Todos los pacientes con CO presentaban COE (cáncer de ovario epitelial). En estos, la prevalencia de mutaciones en los genes *BRCA1/2* fue del 31,8% (7/22). Se ha encontrado presencia de mutación en *BRCAs* en 7 casos, un 42,9% en *BRCA1* y un 57,1% en *BRCA2*. Y 3 pacientes con VSD, tres VSD en *BRCA1* y 2 en *BRCA2*.

Tabla 7.1. **Estudio del cáncer de ovario *(*N=503*).***

	N	%
CÁNCER DE OVARIO		
Sí	22	4,4
No	481	95,6
Total	503	100,0
Aislado	12	54,5
Presencia con otros cánceres (*)	10	45,5
Total	22	100,0
Otros cánceres (*)		
Mama	7	70,0
Endometrio	2	20,0
Colon	1	10,0
Total	10	100,0
PRESENCIA DE MUTACIÓN		
No	7	41,2
Sí	7	41,2
VSD	3	17,6
Total	17	100,0
Sin estudiar*	5	
(*)Sin estudiar:		
Por causas justificadas	5	100,0
Total	5	100,0
ESTUDIO COMPLETO DEL GEN		
No	2	14,3
Sí	12	85,7
Total	14	100,0
Estudio dirigido	3	100,0
GEN MUTADO		
BRCA1	3	42,9
BRCA2	4	57,1
Total	7	100,0
GEN ALTERADO (VSD)		
BRCA1	1	33,3
BRCA1 y BRCA2	2	66,7
Total	3	100,0

En la tabla 7.2 se muestra la distribución del cáncer de ovario respecto al tipo histológico en los pacientes que acuden a la consulta, observándose un 36,5% de carcinomas serosos, un 27,3% de carcinomas mucinosos, un 22,7% de carcinomas endometrioides y un 4,5% de carcinoma de células claras. Señalar, como refleja la tabla 7.3, que en los pacientes de CO y portadores de mutación el 42,8% corresponde a carcinomas endometrioides, el 28,6% a carcinomas serosos y el 14,3% a carcinomas mucinosos.

Tabla 7.2. **Distribución del cáncer de ovario en cuanto a tipo histológico**.

	N	%
CÁNCER DE OVARIO		
Seroso	8	36,5
Mucinoso	6	27,3
Endometroide	5	22,7
Células claras	1	4,5
Desconocido	2	9,0
Total	20	100,0

Tabla 7.3. **Distribución del cáncer de ovario en los pacientes portadores de mutación en cuanto a tipo histológico.**

	N	%
CÁNCER DE OVARIO		
Seroso	2	28,6
Mucinoso	1	14,3
Endometroide	3	42,8
Desconocido	1	14,3
Total	7	100,0

Como se puede observar en la tabla 7.4, se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre la presencia de mutación en *BRCAs* y cáncer de ovario (OR= 4,4; *p=0,001).*

Tabla 7.4. **Asociación entre cáncer de ovario y presencia de mutación en *BRCAs*.**

	MUTACIÓN *BRCA*					
	Sí		No			
	n	%	n	%	OR IC (95%)	*p*
CÁNCER OVARIO						
Sí	7	31,8	15	68,2	**4,4 (1,7-11,3)**	**0,001**
No	46	9,6	431	90,4		
Total	53	10,6	446	89,4		

El estudio descriptivo de la edad de presentación del cáncer de ovario, en función del gen portador de mutación, se muestra en la tabla 7.5. Observándose una edad de presentación menor en los portadores de mutación en *BRCA2* frente a los portadores de mutación en *BRCA1* (58 años vs 68,5 años).

Tabla 7.5. **Estudio descriptivo de la edad de presentación del cáncer de ovario en los portadores de mutación en *BRCA1* y *BRCA2*.**

		N	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIA	DESV. TÍPICA
EDAD DE PRESENTACIÓN CÁNCER DE OVARIO	**PORTADORES MUTACIÓN EN *BRCA1***	2	64	73	68,5	6,4
	PORTADORES MUTACIÓN EN *BRCA2*	4	49	80	58	14,8

DISCUSIÓN

1. Determinar la prevalencia de mutaciones y variantes de significado desconocido (VSD) en el gen *BRCA1* y en el gen *BRCA2* en la muestra. Descripción de las mismas.

La prevalencia de mutaciones germinales en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en el total de pacientes que acudieron a la Consulta de Cáncer Familiar es de 11,3% (61/541; *tabla 1.1* y *1.2*). Así mismo, la prevalencia de mutación germinal en los genes *BRCA1* y *BRCA2* cuando el consultante presentaba cáncer de mama alcanza el 10,6% (37/349; *tabla 1.3*).

Como se observa en la *tabla 1.3*, los resultados han mostrado que en el grupo de afectos por cáncer de mama, el 56,8% de las mutaciones se encuentran en *BRCA1*. Este dato concuerda con otros estudios realizados en población española en los que se observa una mayor prevalencia de mutaciones en *BRCA1* relacionada con el cáncer de mama-ovario hereditario [126]. Si bien es cierto, que la prevalencia alélica de las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* puede variar según el área geográfica, como es el caso del área del mediterráneo con mayor prevalencia alélica en el gen *BRCA2* [127]. Otros estudios también muestran mutaciones más frecuentes en *BRCA1* pero sobre todo a medida que disminuye la edad al diagnóstico, la presencia de más de tres familiares afectos y la presencia de carcinoma de ovario en la familia [128].

Estas prevalencias encontradas son similares a las observadas en otros estudios efectuados en población española o incluso algo menores, ya que la gran mayoría de los pacientes que acudieron presentaban un elevado

componente familiar y hay estudios que señalan una prevalencia incluso del 20% para estos grupos [129].

En el caso de las VSD encontradas en los genes *BRCA1/2*, la prevalencia de las mismas en el total de pacientes que acuden a la consulta alcanza el 15,5% (84/541; *tabla 1.1* y *1.2*); y la prevalencia cuando el consultante presenta cáncer de mama alcanza el 17,2% (60/349; *tabla 1.3*). Dato que concuerda con la bibliografía actual, en la cual la estimación de la detección de VSD es hasta en un 15% de los análisis genéticos [130].

En cuanto al estudio genético, al principio se restringía a determinados exones de los genes donde recaían la mayoría de las mutaciones descritas: en *BRCA1* los exones 2, 8 y 18; y en *BRCA2* los exones 11, 23 y 25. Posteriormente, se comenzó con la secuenciación completa del gen con la consiguiente aparición de mutaciones en exones no estudiados con anterioridad, en regiones intrónicas flanqueantes y sobre todo de VSD.

Por lo que en las primeras familias estudiadas puede que hayamos perdido información, ya que en nuestro estudio, *tabla 1.6*, las mutaciones caracterizadas en el gen *BRCA1*, un 45,2% se localizan en el exón 18 y un 67,7% se han encontrado en los exones 2, 8 y 18. En el gen *BRCA2*, un 66,7% se localizan en el exón 11 y un 83,3% se encuentran en los exones 11, 23 y 25. Por lo que si sólo hubiésemos estudiado dichos exones, hubiésemos perdido información respecto a mutaciones y sobre todo a VSD.

Cabe reseñar que en este estudio, del grupo de las VSD sólo se ha considerado como patogénica la P142H, clasificada en BIC como VSD pero como probable patogénica por Osorio et al.

Mutaciones patogénicas encontradas

En nuestro estudio, se han identificado 37 mutaciones en los 349 pacientes diagnosticados de cáncer de mama (un 56,8% en *BRCA1* y un 43,2% en *BRCA2;* tabla 1.3). Y 61 mutaciones en los 541 pacientes totales que acuden a la consulta de cáncer familiar (50,8% en *BRCA1* y un 49,2% en *BRCA2;* tabla 1.1 *y* 1.2).

Entre las mutaciones detectadas en *BRCA1*, cabe destacar la presencia de la mutación 185delAG en el exón 2 en un caso por ser una de las mutaciones fundadoras de los judíos Ashkenazi, aunque este tipo de mutaciones también han sido identificadas en otras muchas poblaciones. Esta mutación produce un codón stop y truncamiento prematuro de la proteína. La 330A>G es una mutación fundacional gallega que se detecta con frecuencia en nuestra población (131); se localiza en una región cercana a la estructura en "dedo de zinc" y no altera el marco de lectura, pero la proteína causa la sustitución de un aminoácido básico cargado positivamente (Arg) por otro polar no cargado de mayor tamaño (Gly). En nuestro estudio la mutación que presenta mayor número de casos es la G1706A, un 20% de las mutaciones en *BRCA1*. Esta mutación está localizada en el dominio BRCT del exón 18, región muy conservada del ADN. Está considerada en población española como patogénica, e incluso es de las más frecuentemente observadas, pero en la base de datos BIC está considerada como VSD. Otro estudio la clasifica como variante de riesgo moderado ya que al realizar estudios funcionales con ella se observa una actividad reducida en células de mamífero y una segregación parcial familiar

de la enfermedad (132). El grupo de Osorio et al, que es uno de los que ha realizado el estudio genético de nuestra consulta, la clasifica como patogénica (133). Se ha incluido como mutación patogénica la P142H clasificada como VSD en BIC, pero que Osorio et al la clasifican como probable carácter patogénico por estudios funcionales y carácter predictivo. También se observan otras mutaciones frecuentes en *BRCA1* en familias españolas como A1708E y 589-590delCT, que junto con 330A>G y G1706A explicarían el 42% de las mutaciones observadas en *BRCA1* en nuestro estudio. Dato que concuerda con el aportado en la bibliografía y de ahí que algún autor justifique el meter estas mutaciones como pre-cribado [89].

Entre las mutaciones detectadas en *BRCA2* encontramos la 3036del4 y la 3492insT, ambas en el exón 11 y frecuentes en población española. Ambas son mutaciones frameshift, causantes del truncamiento prematuro de la proteína BRCA2 en los codones 958 y 1098, respectivamente. La mutación más prevalente en *BRCA2* en todos los pacientes del estudio es la 3492insT, pero la de mayor frecuencia encontrada en los pacientes con cáncer de mama es la delCinsTACT detectada en el exón 23. Otras mutaciones encontradas, como la c.9018C>A y la c.4936del4, también están descritas en población española aunque con menor prevalencia (134). Las mutaciones más frecuentes en *BRCA2* en población española, cubrirían un 30% de las mutaciones en BRCA2 observadas en nuestro estudio.

En el presente estudio se observa el 36% de las mutaciones más prevalentes en población española, considerando las mutaciones descritas anteriormente.

Variantes de significado desconocido

El estudio mutacional de los genes *BRCA1/2* detecta un alto porcentaje de variantes de significado desconocido.

La identificación de este tipo de variantes dificulta el asesoramiento genético de los portadores de las mismas y en algunos casos genera ansiedad. Al buscar en las diferentes bases de datos el significado clínico actual de las distintas VSD, hemos observado discordancia entre las mismas. Existe alguna variante clasificada en BIC como VSD, y catalogada como neutra en otras bases como LODV (135). Esta discordancia demanda la necesidad de actualizaciones frecuentes en las bases de datos y que estén conectadas a otras bases de datos genéticos pre-existentes, así como de desarrollo e implementación de nueva metodología para la clasificación de estas variantes.

A nivel internacional, el Consorcio Enigma (Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles) combina variables genéticas, clínico y morfopatológicas de las VSD a lo largo de todo el mundo para tratar de clasificarlas en base a modelos de probabilidad a posteriori [136]. A nivel nacional, disponemos del Proyecto Spanex del Ciberer [137] y del Proyecto Spain Mutation Database [138] del Instituto de Salud Carlos III. El primero pretende, entre otras cosas, reforzar las bases de datos con las variantes genómica y genéticas de la población normal y crear una población de referencia. El segundo, pretende recoger las mutaciones germinales que afectan a la población española.

Una vez puntualizado lo anterior, en la *tabla 1.7* se describe lo obtenido en nuestra población de estudio: 19 VSD (42,1% en *BRCA1* y 57,9% en *BRCA2*), 8 variantes clasificadas actualmente como de carácter neutral (37,5% en *BRCA1* y 62,5% en *BRCA2*) y 12 SNPs (41,7% en *BRCA1* y 58,3% en *BRCA2*).

Destacar dos VSD en BRCA2. La primera es la variante c.1114A>C observada en el exón 10, y descrito en revisiones como que puede conferir riesgo adicional al cáncer de mama y ovario [139-140]. La segunda es la variante c.A3199G, a la cual se le ha relacionado en un único artículo con melanoma maligno.

La gran mayoría de las VSD son específicas de una o muy pocas familias lo que dificulta su clasificación mediante modelos epidemiológicos, genéticos o multifactoriales.

La prevalencia observada de los polimorfismos en *BRCA1* es del 14,2% y en *BRCA2* es del 9,8%. La mayoría de los polimorfismos han sido reportados anteriormente tanto en casos de CMH como CME, especialmente los de mayor prevalencia [142,143]. Cabe destacar la elevadísima frecuencia del polimorfismo IVS17+65 G>A detectado en *BRCA1*, dato actualmente conocido.

El análisis de los genes *BRCA1* y *BRCA2* no permite identificar todos los casos de cáncer de mama familiar. La mayoría de las alteraciones identificadas son pequeñas inserciones o deleciones y mutaciones puntuales. Además de estos genes, otros como *TP53*, *PTEN*, *STK11* o *CDH1*, son considerados como genes de alta penetrancia. Se estima que el

conjunto de genes conocidos como de alta penetrancia sólo podrían explicar aproximadamente el 25% de los casos de CMH, lo que sugiere que en la mayoría de los casos las causas siguen sin identificación [144] y los factores ambientales son incapaces de explicar todos los casos de CMH restantes.

2. Estimar la frecuencia de las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en función del número de familiares afectos. Analizar si la presencia de antecedentes oncológicos familiares predicen la presencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2*.

La historia familiar de cáncer de mama constituye el principal criterio para la identificación de los casos con mutación germinal en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. El presentar un historial familiar de cáncer de mama duplica el riesgo de padecer la enfermedad en relación con la población sin antecedentes familiares.

Sin embargo, la ausencia de familiares afectados no excluye la posible presencia de mutación en dichos genes, siendo la prevalencia estimada hasta del 18% de mutaciones en el gen *BRCA1* en tumores de mama triple negativos en pacientes sin historia familiar y de edad mayor a 50 años [145]. A pesar de esto, no se puede recomendar de forma indiscriminada el test genético en línea germinal de los genes *BRCA1* y *BRCA2* a todos los afectos de cáncer de mama. No sólo por el impacto económico ni estudio molecular complejo, sino también por el impacto ético, legal y psicológico.

En la presente tesis, se ha recogido información de los antecedentes familiares de cáncer de mama y ovario de los pacientes que acudieron a la

consulta. Se intentó recoger la máxima información posible intentando llegar hasta a familiares de tercer grado, pero no ha sido posible en todos los casos.

Los criterios de selección utilizados (descritos en el apartado métodos) presentan similitudes entre los distintos grupos de trabajo, dado que todos ellos se basan en la historia personal y familiar de cáncer de mama y ovario. Cuanto mayor sea la información proporcionada por el árbol genealógico, mayor será la precisión con la que podamos estimar la probabilidad de identificar una mutación en *BRCA1* o *BRCA2*.

En el presente trabajo, se ha considerando como familia de alto riesgo la que presenta al menos tres familiares de primer grado afectados con cáncer de mama. En la tabla 2.1, se observa que el 80,3% de las mutaciones encontradas en los pacientes de estudio corresponde a pacientes con al menos 3 familiares afectos. Sólo un 3,6% de las mutaciones encontradas se observaron en el grupo de mujeres con CM y que no presentaban antecedentes familiares de cáncer de mama-ovario. Podemos observar, por tanto que hay una mayor proporción de mutaciones patogénicas según aumenta el número de casos de antecedentes familiares de CMO.

En los grupos analizados, sólo se ha encontrado significación estadística entre la presencia de mutación y el presentar al menos tres familiares afectos (*p=0,007*, *tabla 2.2*). En este grupo el riesgo de presentar mutación en los genes de susceptibilidad al cáncer de mama *BRCA1/2* se multiplica por 2,6.

En el grupo de pacientes sin familiares con CMO, el 3,6% (2 únicos casos) presentan mutación en el gen *BRCA*; frente al 96,4% (53 casos) de los pacientes con antecedentes familiares de CMO. Esto corrobora el hecho de no hacer el estudio genético a todos los pacientes.

Además, puntualizar que esos 2 casos en los que se encontró mutación, sin antecedentes familiares de CMO, eran de mujeres con diagnóstico de cáncer de mama antes de los 40 años. Por lo que también fue correcto incluirlas para la realización del estudio mutacional.

Podemos afirmar que la inclusión de los pacientes para estudio mutacional en nuestro consulta se ha realizado de manera correcta, en contraposición de otros estudios que señalan que no se ofrece lo suficiente el estudio genético a pacientes con CM [146]. Si bien es cierto que durante un periodo en el cual no se realizaron estudios mutacionales, por problemas administrativos-económicos, hemos perdido resultados de pacientes con cáncer de mama con alta sospecha de CMH a los cuales no se les pudo realizar dicho estudio (entre ellos 24 casos de pacientes con cáncer de mama antes de los 40 años).

3. Describir las características oncológicas y clínico-patológicas del cáncer de mama en la muestra. Contrastar las mismas entre los portadores y los no portadores de mutación en los genes *BRCAs*.

El CM es una enfermedad muy heterogénea. Algunos estudios publicados tratan de encontrar características propias de los tumores presentes en las mujeres portadoras de mutación en los genes *BRCAs*.

En la introducción se ha señalado como los tumores de mama asociados a mutación en *BRCA1* suelen ser cánceres de alto grado, con una tasa de proliferación elevada, con fenotipo triple negativo y presentan positividad para citoqueratinas basales CK5/6 y para el receptor del factor de crecimiento epidérmico EGFR. Además, la edad de aparición de estos es menor que en los casos de CME. En cuanto a los tumores asociados a mutación en *BRCA2* suelen ser más heterogéneos y se clasifican en el subtipo luminal. En ambos casos, el riesgo de cáncer de mama contralateral se estima mayor.

Se han recogido en una base de datos las características clínicas y oncológicas de todos los pacientes incluidos en el estudio, con el fin de analizar la situación en nuestra muestra. Se han comparado los datos de las pacientes portadoras de mutación con los datos de las no portadoras.

La edad de presentación precoz es una de las características distintivas de los síndromes hereditarios de cáncer. En nuestra muestra, en la tabla 3.1, se aprecia que un 71,4% de los casos de cáncer de mama en mujeres se presentó antes de los 50 años (33,6% antes de los 40 años y 37,8% entre los 40-50 años). No existe un consenso establecido para definir un cáncer de mama como precoz. En nuestro estudio, se ha considerado como edad de presentación precoz menos de 40 años. Se observa en la tabla 3.13, que las pacientes portadoras de mutación presentan CM a edad más temprana que las no portadoras, con un riesgo 2,8 veces superior de presentar mutación en *BRCAs* en el grupo de pacientes con edad de presentación del CM menor de 40 años. Lo que respalda el hecho de que la

presencia de mutaciones en los genes de susceptibilidad al cáncer de mama adelanta la edad de presentación del mismo [147].

En cuanto al tipo histológico, el 83% de los CM son de tipo invasivo y se confirma que la mayoría (72,3%, tabla 3.1) de estos son del tipo ductal infiltrante [19], como en la mayoría de los estudios realizados en esta campo.

Acorde con lo publicado [148], en nuestro trabajo, el estatus TN fue factor predictivo de mutación en *BRCA* (OR: 12,1 *p<0,0001*, *tabla 3.5*). Y en particular de *BRCA1* (OR: 9,3; *p=0,019*, *tabla 3.7*), ya que en *BRCA2* se encontró una asociación negativa o factor protector (OR: 0,1; *p=0,019*, *tabla 3.9*). Como también era esperable, en la cohorte de mujeres jóvenes, el 79% de las mutaciones en *BRCA* en los pacientes con tumores TN, fueron en *BRCA1*.

En cuanto a *BRCA2*, encontramos asociación, en la tabla 3.16, entre mutación en dicho gen y presentar RE positivos (OR: 16; *p=0,004*) y RP positivos (OR: 13,2; *p=0,005*); incluso seleccionando portadores de mutación en *BRCA2* y Her2 negativo con RE positivo (OR: 15; *p=0,021*). Esto se asociaría con que los portadores de mutación en *BRCA2* presentarían fenotipo luminal. Tanto luminal A como luminal B, aunque para diferenciarlos falta el dato de ki-67.

Conviene señalar algún estudio publicado observado en mutaciones fundadoras de judíos ashkenazi, tanto en el gen *BRCA1* como en el gen *BRCA2*, en los que los CM desarrollados no presentaban RE ni RP ni Her2 [149].

Así que, a pesar de lo anteriormente comentado, la capacidad predictiva del fenotipo TN en cuanto a la presencia de mutaciones en *BRCA* parece ligada exclusivamente a las mutaciones en *BRCA1*.

Los casos de metástasis fueron mayores en *BRCA2* que en *BRCA1* (75% vs 25%, *tabla 3.11*), presentando este hallazgo una OR: 0,1 y *p=0,002*. Por lo que al ser la OR<1 (asociación negativa o Factor de protección), la presencia de mutación en *BRCA* no se asocia con la presencia de metástasis.

4. Comparación de los análisis univariante (Chi-cuadrado) y multivariante (Regresión Logística) de distintas características oncológicas del tumor.

Se ha pretendido conocer la influencia que una serie de variables tienen en una variable respuesta. Para ello, se ha llevado a cabo un estudio de distintas características del tumor (variables dependientes) por regresión logística con el fin de ver si éstas se veían influenciadas por determinadas condiciones (variables independientes) como es la presencia de mutación en los genes *BRCA1/2*, la edad de presentación del cáncer, edad de menarquía y edad de menopausia.

Mediante el análisis realizado por regresión logística hemos obtenido significación estadística entre la presencia de mutación y cáncer TN, bilateralidad del cáncer, alto grado tumoral y diferenciación del tumor. No ha pasado lo mismo con la edad de presentación, por lo que se eliminó esta variable de la ecuación final.

Por lo que si un paciente tiene como factor de riesgo el presentar mutación en los genes de susceptibilidad *BRCA1/2*, la oportunidad de tener un cáncer de mama triple negativo es mayor en 10,3 veces que si no presentase mutación en dichos genes. Así como, la oportunidad de presentar bilateralidad del cáncer de mama es mayor en 3 veces, o la oportunidad de presentar un alto grado tumoral y pobremente diferenciado es 4,6 veces mayor que si no presentasen mutación en dichos genes (datos reflejados en la *tabla 4.1).*

Lo primero ya se ha descrito en el apartado anterior y se vuelve a confirmar mediante este estudio, por lo que se afianza el concepto de mutación en *BRCA* con tumores TN. En cuanto a lo observado respecto a bilateralidad, alto grado tumoral y diferenciación pobre del tumor, concuerda con el comportamiento más agresivo de los CMH [98].

Hay que puntualizar que si bien es cierto que hemos observado significación estadística entre los anteriores ($p<0,05$) y con OR>1 (asociación positiva), el porcentaje de la variación de la variable dependiente explicada por la variable incluída en el modelo no es demasiado alto (≈24% para presencia de mutación y tumor TN, dato aportado por la R cuadrado de Nagelkerke).

Como se ha comentado arriba, la edad de presentación no obtuvo significación estadística mediante análisis de regresión logística. Sin embargo mediante análisis univariante (Chi-cuadrado) sí que se vio significación entre edad de presentación precoz y no sólo con tumores TN, sino con tumores de alto grado tumoral y pobremente diferenciados. Características compatibles con tumores más agresivos.

En el análisis multivariante de distintas características del tumor ajustados por mutación y edad de menarquía y menopausia (tabla 4.2 y 4.3), se han obtenido resultados similares a los obtenidos mediante análisis univariante (Chi-cuadrado). En ambos análisis se ha obtenido significación sólo para la presencia de mutación con las distintas características del tumor. En la edad de menarquía y la edad de menopausia no se ha visto asociación entre éstas y las distintas características del tumor. Quizá porque en estas variables los datos perdidos son bastante más numerosos, o porque estas características influyen en el mayor tiempo de exposición de los pacientes a estrógenos con la consiguiente posibilidad a cánceres que no tienen porqué ser más agresivos o incluso son de RH positivos. Además la edad de menarquía y menopausia es un factor de riesgo tanto para CMH como para CME.

5. Determinar el riesgo asociado en los portadores de mutación en los genes *BRCA1* y *BRCA2* a otros tumores diferentes al cáncer de mama.

Se ha relacionado las mutaciones en los genes *BRCAs* con un aumento del riesgo a padecer otros tumores. Principalmente cáncer de ovario, pero pueden observarse otros como el carcinoma de trompa de Falopio, melanoma uveal, cáncer de páncreas y cáncer biliar, entre otros.

En un estudio multicéntrico se ha descrito que las mutaciones asociadas a *BRCA2* están asociadas a un mayor espectro de tumores malignos que las asociadas a *BRCA1*, tanto en mujeres como en hombres [106].

En nuestro estudio, un 10,9% (*tabla 5.1*) del total de pacientes con cáncer de mama que acudieron a la consulta de Cáncer Familiar presentaron otro tipo de cáncer. En la *tabla 5.2* se detalla que, en el grupo de mujeres con cáncer de mama, el más frecuente fue el cáncer de colon, seguido del de ovario y de endometrio. El que el cáncer de colon sea el más frecuente, puede regirse por la propia casuística del cáncer de colon en la población general (el más frecuente si contamos ambos sexos, y el segundo más frecuente en mujeres). Ya que en este grupo tendremos CMH por *BRCAs*, CMH por genes todavía no conocidos o siguiendo un modelo poligénico y CME. Entre los hombres afectos por CM sólo dos presentaron otro tipo de cáncer, específicamente cáncer de próstata (*tabla 5.3*).

En el grupo de pacientes portadores de mutación, sólo 9 (14,8%, *tabla 5.4*) presentaron otro tipo de cáncer; y entre los pacientes con cáncer de mama y portadores de mutación sólo 4 (10,8%, *tabla 5.5)* presentaron otro tipo de cáncer. En los anteriores el cáncer más frecuente observado fue, como cabría esperar, el de ovario, seguido de endometrio y colon. El CO se distribuyó de manera similar entre *BRCA1* y *BRCA2*, pero el resto (endometrio y colon) se observaron en los pacientes portadores de mutación en *BRCA2*, dato que corrobora que las mutaciones en *BRCA2* están asociadas a mayor espectro de tumores.

Se ha intentado estimar el riesgo asociado a otros cánceres (*tablas 5.6, 5.7 y 5.8*) tanto en los pacientes portadores de mutación en *BRCAs* que acuden a la consulta, como en los pacientes afectos de CM y portadores de

mutación. Pero el resultado no ha sido significativo, quizá por el tamaño reducido de casos.

Para que el estudio realizado en este punto fuese correcto y tuviese aplicabilidad y sentido, deberíamos haber dispuesto de datos actualizados, ya que son datos que se obtuvieron de los pacientes en el momento que acudieron a la consulta y no sabemos qué ha pasado después. Es probable que los pacientes portadores de mutación a lo largo del tiempo hayan podido presentar otro tipo de cáncer.

6. Comparar las características clínico-patológicas del cáncer de mama entre el subgrupo de varones y el de mujeres.

El cáncer de mama es una enfermedad rara en hombres, representa menos del 1% de las neoplasias en el hombre y sólo el 1% del total neoplasias en la mama [150].

En nuestro estudio, un 2% de los casos de cáncer de mama corresponden a varones (7 casos, *tabla 3.1*). Observamos una prevalencia un poco superior, posiblemente porque es una consulta dirigida de cáncer familiar, que seguramente no corresponde con la prevalencia observada en la población general.

La media de edad al diagnóstico es de 67 años, aunque puede afectar a cualquier edad, la cual es de 5 a 10 más tardía que en mujeres [151]. En nuestra muestra, la media de edad al diagnóstico en hombres es de 55,6 años (con un mínimo de 38 y un máximo de 76, *tabla 3.1*) y en mujeres es

de 45 años (con un mínimo de 21 y un máximo de 78). En ambos grupos la edad de presentación del cáncer de mama es más temprana, dato esperable encontrar en pacientes con sospecha de cáncer de mama hereditario. Aunque la edad de diagnóstico sea más temprana, se observa que la misma es 10 años más tardía en hombres que en mujeres.

En la mayoría de los casos de CM en hombres no se identifican factores de riesgo, como ocurre en los casos de mujeres. Sin embargo numerosas situaciones han sido reconocidas como factores de riesgo como: situaciones en las que se produzca un exceso de estrógenos (enfermedad hepática o administración exógena) o una deficiencia de andrógenos (prolactinoma), factores genéticos, historia de fractura ósea después de los 45 años, obesidad, baja actividad física, orquitis, infertilidad, alcohol y radiación, entre otros.

En consecuencia, dentro de los factores de riesgo genéticos cabe destacar las mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*, el Síndrome de Klinefelter, ser Judío Ashkenazi o presentar historia familiar, entre otros.

La historia familiar de cáncer de mama confiere un RR de 2.5. En nuestro caso sólo dos pacientes presentaban alto riesgo por historia familiar.

Las mutaciones en *BRCAs* incrementan el riesgo de CM, pero no al mismo nivel que en las mujeres, y parece ser mayor cuando la mutación es en *BRCA2* (riesgo estimado del 6%) [152]. En nuestro estudio, no se ha encontrado ninguna mutación patológica en *BRCA1* o *BRCA2* en los hombres con cáncer de mama. Sólo se han encontrado dos VSD en *BRCA2*

en dos de ellos, *tabla 1.5*. En uno de los casos, no se hizo estudio mutacional por problemas económico-administrativos con la Comunidad.

No han sido identificados otros factores de riesgo en nuestra muestra.

En numerosos estudios, el mayor porcentaje de mutaciones se observa en *BRCA2* en los casos de cáncer de mama en hombres [86-152].

Respecto al tipo histológico, observamos en la *tabla 3.1*, que el 93,7% de los cánceres de mama en hombres son de tipo ductal invasivo y sólo 1,5% son lobulillar infiltrante (a diferencia de los casos de cáncer en mujeres que los tipo lobulillar infiltrante alcanza el 15-20%). Otros tipos observados son papilares (2,6%) o mucinosos (1,8%) [151]. En cuanto al CDIS, la proporción observada en mujeres es también mayor que en hombres (aproximadamente un 20% frente a un 10%, respectivamente). En nuestro estudio, el tipo histológico más frecuente en hombres es el ductal invasivo, siendo así en nuestra muestra en un 71,4% (similar a la observada en el grupo de mujeres). El resto de carcinomas son un carcinoma medular atípico (14,3%) y un CDIS (14,3%). La distribución de los canceres en cuanto a tipo histológico, tanto en hombres como en mujeres, es similar a la descrita en la bibliografía.

En la *tabla 6.1*, se describe que son tumores que presentan positividad a RH, aproximadamente un 90% expresan RE y un 81% expresan RP, en contraste con el 60-70% de expresión en cánceres de mama en mujeres. Todos los casos de cáncer de mama en hombres observados en nuestra muestra presentaban RE positivos y todos menos uno RP positivos, además de un índice de proliferación bajo.

Respecto al grado tumoral, la mayor parte de los cánceres de mama en varones se diagnostican en grado II (54-58%). Dato que se confirma en nuestro estudio, diagnosticándose en grado II un 50% de los cánceres de mama en hombres (vs. 39,6% GII y 46,1 GIII de los cánceres de mama en mujeres).

El subtipo molecular más frecuente observado en hombres es el Luminal A (83%), seguido por el Luminal B (17%), mientras que el basal-like o Her2 no se expresan [151]. Esto se confirma en nuestra muestra.

El riesgo de CM contralateral parece ser mayor en hombres que en mujeres [153], pero en nuestro estudio en el momento de la recogida de datos ningún hombre presentó CM contralateral.

El riesgo a otros cánceres parece estar aumentado en los supervivientes al CM, sobre todo en los portadores de mutación en *BRCA*. Sólo se observaron dos pacientes (28,6%, *tabla 5.2*) con cáncer de próstata en nuestra muestra y ninguno de estos pacientes era portador de mutación en *BRCA2*, aunque uno de ellos tenía una VSD en *BRCA2*.

El tratamiento del CM en hombres es igual que en mujeres: terapia hormonal adyuvante, RT, quimioterapia; y las recomendaciones se extrapolan de los resultados de ensayos en mujeres.

Se ha elaborado una tabla (*tabla 6.1*) para agrupar las características oncológicas del cáncer de mama entre los dos subgrupos (varones y mujeres). En cualquier caso, es evidente que, no se pueden comparar ambos grupos por el escaso número de muestras en el de varones.

7. Estudio del cáncer de ovario en los pacientes de estudio.

En el mundo occidental el cáncer de ovario es el más letal, dentro de las patologías ginecológicas malignas. La mayoría de los casos son diagnosticados en estadio avanzado y los métodos de cribado no son del todo eficaces.

La historia familiar es el principal factor de riesgo. En la población general el riesgo para desarrollar cáncer de ovario es del 1,6%, mientras que en mujeres con un familiar de primer grado con CO el riesgo es del 5% y con dos familiares de primer grado con CO el riesgo es del 7%, aproximadamente [154].

Las mujeres con mutación germinal en *BRCAs* tienen un elevado riesgo de cáncer de mama y ovario, así como de trompas de Falopio y carcinomas peritoneales [155].

La prevalencia de cáncer de ovario obtenida en nuestro estudio ha sido del 4,4% (22/503, *tabla 7.1*), coincidiendo con la descrita en la bibliografía (4,1%). El 2,4% de esa prevalencia corresponde a pacientes que presentan sólo CO, y el 2% corresponde a pacientes con CO junto con otros cánceres. De los otros cánceres observados en las pacientes con CO, el 70% corresponde a CM.

Entre las mujeres con COH son más frecuentes las mutaciones en *BRCA1* que en *BRCA2* [156]. Sin embargo, en *BRCA2* existe un dominio denominado OCCR que confiere riesgo más elevado de padecer cáncer de ovario. Al analizar nuestros pacientes afectos de CO, se ha encontrado

presencia de mutación en *BRCA* en 7 casos, un 42,9% en *BRCA1* y un 57,1% en *BRCA2*. Y 3 pacientes con VSD, tres VSD en *BRCA1* y 2 en *BRCA2*.

La prevalencia de mutaciones en los genes *BRCA1/2* entre los pacientes con cáncer de ovario epitelial (COE) fue del 31,8%. Esta alta prevalencia hace que estudios y diversa guías incluyan el estudio mutacional de los genes *BRACs* a COE de alto grado [157].

En nuestra muestra, la edad de presentación del CO en portadores de mutación en *BRCA1* fue de 68,5 años y en portadores de mutación en *BRCA2* fue de 58 años. Por lo que en nuestra muestra ocurre lo contrario a lo descrito en la bibliografía, que señala un comienzo más tardío de la enfermedad y sin historia familiar de CM a los portadores de mutación en *BRCA2* [158]. También hay que decir que son muy pocos casos como para sacar una conclusión general. Señalar que todos los afectos de CO y portadores de mutación presentaban casos familiares tanto de CO como de CM.

El riesgo estimado para mujeres con mutación en *BRCA1* es de un 35-60% con un promedio de edad al diagnóstico de 50 años. La penetrancia para el cáncer de ovario para *BRCA2* es algo menor, el cual confiere un riesgo del 12-25% con una edad promedio de diagnóstico de 60 años [159].

Los carcinomas de ovario asociados a mutaciones en *BRCA1/2* tienen un fenotipo clínico diferente, siendo la mayoría serosos de alto grado y estadio avanzado. Otros tipos histológicos que pueden presentar son endometrioide, carcinosarcoma, carcinoma indiferenciado y carcinoma de células claras [160]. Respecto al tipo histológico de los CO observados en los

pacientes que acuden a la consulta (tabla 7.2), un 36,5% son serosos, un 27,3% mucinosos, un 22,7% endometrioides y un 4,5% de células claras. Un 68,2% fueron diagnosticados en GIII-GIV. Hay que puntualizar que dentro de los pacientes con CO y portadores de mutación en *BRACs (tabla 7.3)* corresponde el 42,8% a cacinomas endometrioides, un 28,6% a carcinomas serosos y un 14,3% a carcinomas mucinosos. El tipo seroso está descrito en la bibliografía como el más frecuente tanto en portadores como en no portadores, y en el total de pacientes que acuden a la consulta con CO si ocurre así, pero no entre los portadores de mutación. Además, los casos de carcinomas endometrioides corresponden todos a pacientes con mutación en *BRCA2*. El 66,7% de los tumores entre los portadores de mutación se diagnosticaron en estadio III y un 33,3% en estadio Ic. Todos los tumores endometrioides se diagnosticaron en estadio III.

En nuestro estudio se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre los pacientes con cáncer de mama y presencia de mutación en *BRCAs.* Así, el riesgo de presentar cáncer de ovario entre los portadores de mutación en *BRCAs* es 4,4 veces superior al de los no portadores.

Señalar que los carcinomas de ovario asociados a *BRCA1/2* presentan una supervivencia más larga [161], sensibilidad incrementada a la terapia con platino y con los PARP [162].

Familias de alto riesgo no explicadas por los genes conocidos de susceptibilidad sugiere que otros genes o factores tienen un papel en el desarrollo del cáncer de ovario. En los últimos años el cáncer de ovario

hereditario fue atribuido casi enteramente a mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*, pero tres genes más se han asociado con carcinoma de ovario hereditario: *RAD51C*, *RAD51D* y *BRIP1* [163-165]. Estos genes no fueron incluidos en nuestro estudio, ya que en el momento del análisis no estaban disponibles para la práctica clínica.

Las personas con riesgo de padecer HBOC deben ser remitidas a las unidades de Consejo Genético para recibir asesoramiento genético, el cual debe incluir la valoración de la probabilidad de que exista predisposición hereditaria, evaluación del riesgo de cáncer, valoración de las necesidades y preocupaciones del paciente, apoyo psicológico, realización de pruebas genéticas, explicación de los resultados y de las medidas de reductoras de riesgo y terapéuticas.

Aunque las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* son los principales responsables de la predisposición hereditaria al HBOC, existen otros genes de riesgo moderado y bajo. El conjunto de todos los genes conocidos explicaría, como mucho, el 40% de los casos. Se asume que si existiese un gen con la frecuencia y penetrancia similar a la de los genes *BRCA1* y *BRCA2* ya se habría encontrado.

En nuestro estudio se ha detectado mutación en *BRCA* en 37 familias de las 354 familias estudiadas por riesgo de HBOC, por lo que en el 89,5 % de las mismas no se detecta ninguna mutación en los genes de susceptibilidad conocidos al CM. Todo esto respalda la propuesta de un modelo poligénico que explicaría la mayoría del exceso familiar por la

acumulación de variantes de riesgo que se acumularían en estas familias y serían las responsables de la susceptibilidad al CM.

Entre los portadores de mutación en *BRCAs*, un modelo de medidas de seguimiento podría ser el siguiente:

MUJERES
- Autoexploración mamaria mensual a partir de los 18-25 años. - Exploración mamas por especialista, cada 6-12 meses a partir de los 25 años. - RM/mamografía/ecografía mamaria, cada 6-12 meses a partir de los 25 años. - Exploración ginecológica con EcoTV Y CA125, cada 6-12 meses a partir de los 30 años.
HOMBRES
- Examen de próstata mediante tacto rectal y PSA anual, a partir de los 40 años. - Autoexploración de mamas mensual y consulta ante cualquier anormalidad.

Actualmente, la identificación de las mutaciones en *BRCAs* no sólo tiene importancia para la identificación de familias de alto riesgo de HBOC, sino también por la implantación de nuevas terapias como son los inhibidores de la PARP.

La demanda creciente de los estudios genéticos ha supuesto un aumento de la carga asistencial, sólo asumible con metodologías de alto rendimiento. Además, lo ideal sería la implantación de nuevas metodologías que consigan reducir costes para así poderlos incorporar en la práctica

clínica, testar de forma simultánea los genes de moderada penetrancia, y extender los estudios genéticos a mayor número de pacientes con CMO.

CONCLUSIONES

A continuación se indican las conclusiones a las que se ha llegado en la presente tesis:

1. La prevalencia de mutaciones germinales en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en los pacientes que acuden a la consulta de Cáncer Familiar alcanza el 11,3% y la de las variantes de significado es del 15,5%.

2. El porcentaje mayor de mutaciones identificadas corresponde a pacientes con 3 o más casos de familiares afectos por cáncer de mama y ovario.

3. Los pacientes jóvenes con cáncer de mama y mutación en *BRCAs* presentan tumores de alto grado tumoral y pobremente diferenciados.

4. El estatus triple negativo se debe valorar como factor predictivo de mutación en *BRCA,* y ofrecer el estudio genético a pacientes con cáncer de mama triple negativo.

5. No se evidencia riesgo asociado a otros cánceres en lo portadores de mutación en los genes *BRCAs*.

6. Se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre la presencia de mutación con cáncer de ovario. Se debe considerar ofrecer el estudio mutacional de los genes BRCAs a COE de alto grado, debido a la

alta prevalencia de mutación en los mismos entre los pacientes con cáncer de ovario epitelial (31,8%).

7. Considerando que la mayor parte de los pacientes que acudieron a nuestra consulta presentaban un elevado componente familiar y la baja frecuencia de mutaciones observada, se respalda un modelo poligénico de susceptibilidad al cáncer de mama.

El consejo genético es una pieza clave en todo el proceso. Primero determinando el riesgo de cada paciente, ofreciendo el estudio genético a los pacientes con riesgo alto, explicando las medidas reductoras de riesgo así como las opciones terapéuticas y de seguimiento. La detección de mutaciones en *BRCA1* y en *BRCA2* abre la posibilidad al tratamiento con inhibidores de la PARP.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ferlay JS, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0. Cancer Incidence and Mortality Wordlwide: IARC Cancer Base Nº11[Internet]. Disponible en: http://globocan.iarc.fr/ [último acceso en abril de 2017].

   Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. Estimates of global cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. Int J Cancer. 2013; 132(5): 1133-45.

2. www.geicam.org

3. EUROCARE-5, www.eurocare.it/

4. Karim-Kos HE, de Vries E, Soerjomataran I, Lemmens V, Siesling S, Coebergh JW. Recent trends of Cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. Eur J Cancer. 2008; 44(10): 1345-89.

5. Cabanes-Domenech A, Aragonés N, Pollán M, López Abente G. La situación del cáncer en España, 1975-2006. Madrid: Instituto Carlos III; 2002 [Monografía en Internet].

6. Silvestrini R, Daidone MG, Valagussa P. Cells kinetics and prognosis in locally advanced breast cancer. Cancer Treat Rep 1987; 70: 375-9.

7. Gentili C, Sanfilippo O, Silvestrini R. Cell proliferation in relation to clinical features and relapse in breast cancer. Cancer 1981; 48:974-9.

8. Page DL, Dupont WD, Rogers LW, Rados MS. Atypical Hiperplasic lesions. Of the female breast: A long time followup study. Cancer 1985; 55: 2698-708.
9. Nielsen M, Jensen J, Andersen J. Precancerous and cancerous breast lesions during lifetime and at autopsy: a study of 83 women. Cancer 1984; 54: 612-7.
10. Hayward OS. The history of oncology. I. Early oncology and the literature of discovery. Surgery 1965; 58: 460-8.
11. Koscielny S, Tubiana M, Le MG, Valleron AJ, Mouriesse H, Contesso G, Sarrazin D. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumor and the probability of metastatic dissemination. BR J Cancer 1984; 49: 709-15. 11.
12. Rutqvist I F, Wallgren A, Nilsson B. Is breast cancer a curable disease? Cancer 1985; 56: 898-902.
13. González Blanco I, García Hervás JM. Historia natural del cáncer de mama. Toko-Gin Pract 2002; 61(5): 264-269.
14. Anderson DE. Genetic study of breast cancer: identification of a high risk group. Cancer 1974; 34: 1090-7.
15. Oldenburg RA, Meijers-Heijboer H, Cornelisse CJ, Devilee P. Genetic susceptibility for breast cancer: how many more genes to be found? Critical reviews in oncology/hematology. 2007; 63: 125-49.
16. Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk—where do we stand in 2005? Journal of cellular and molecular medicine. 2005; 9: 208-21.

17. Breast CGoHFi. 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. 2001; 358: 1389-99.

18. Stuckey A. Breast cancer: epidemiology and risk factors. Clinical obstetrics and gynecology. 2011; 54: 96-102.

19. Álvarez Hernández C, Vich Pérez P,Brusint B, Cuadrado Rouco C, Díaz García N, Robles Díaz L. Actualización del cáncer de mama en Atención Primaria (III/V). Semergen 2014; 40(8): 460-472.

20. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL et al. AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, NY: Springer; 2010.p.347-76.

21. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. N Engl J Med. 2010; 363(20): 1938-48.

22. Garcia Toro E. Hacia una clasificación molecular del cáncer de mama. Electron J Biomed. 2008; 1: 72-6.

23. Schnitt SJ. Classification and prognosis of invasive breast cáncer: From morphology to molecular taxonomy. Mod Pathol. 210; 23 Suppl 2:S60-4.

24. Soerjomataram I, Louwman M, ribot J, Roukema J, Coebergh J. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cáncer. Breast cancer Res Treat. 2008; 107: 309-30.

25. Maciejczyk A. New prognostic factors in breast cancer. Adv Clin Exp Med. 2013; 22: 5-15.

26. Arriagada R, Dunant A. Twenty-five years of follow-up in patients with operable breast carcinoma: Correlation between clinicopathologic factors and the risk of death in each 5-year period. Cancer. 2006; 106: 743-50.
27. Graña B, Lastra E, Llort G, Brunet J, Isla D. SEOM clinical guidelines for hereditary cáncer. Clin Transl Oncol. 2011; 13(8): 580-6.
28. Broca P. Traité des tumeurs. Paris: Asselin; 1866.
29. Lynch HT, Krush AJ, Guirgis H. Genetic factors in families with combines gastrointestinal and breast cancer. Am J Gastroenterol 1973; 59(1):31-40.
30. Adami Ho, Hansen J, Jung B, Rimsten A. Familiality in breast cancer: a case control study in a Sweden population. Br J Cancer 1980; 42(1): 71-7.
31. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58209 women with breast cancer and 101986 women without the disease. Lancet 2001; 358(9291): 1389-99.
32. Varley JM. Germline TP53 mutations and Li-Fraumeni syndrome. Hum Mutat. 2003; 21(3): 313-20.
33. Levine AJ, Oren M. The first 30 years of P53: growing ever more complex. Nat Rev Cancer. 2009; 9(10): 749-58.
34. Dumay A, Feugeas JP, Wittmer E, et al. Distinct tumor protein p53 mutants in breast cancer subgroups. International Journal of Cancer. 2013; 132: 1227-31.

35. Walerych D, Napoli M, Collavin L, del Sal G. The rebel angel: mutant *p53* as the driving oncogene in breast cancer. Carcinogenesis. 2012; 33: 2007-17.

36. Goberdham DC, Wilson C. PTEN: tumour suppressor, multifunctional growth regulator and more. Hum Mol Genet. 2003; 12 Spec No 2: R 239-48.

37. Pilarski R, Eng C. Will the real Cowden Syndrome please stand up (again)? Expanding mutational and clinical spectra of the *PTEN* hamartoma tumour syndrome. J Met Genet. 2004; 41(5): 323-6.

38. Tan MH, Mester JL, Ngeow J, Rybicki LA, Orloff MS, Eng C. Lifetime cancer risks in individuals with germline *PTEN* mutations. Clin Cancer Res. 2012; 18(2). 400-7.

39. Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, Avizienyte E, Roth S, Loukola A, et Al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. Nature. 1998; 391(6663): 184-7.

40. Pharoah PD, Guilford P, Caldas C. Incidence of gastric cancer and breast cancer in *CDH1* (e-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. Gastroenterology. 2001; 121(6): 1348-53.

41. Masciari S, Larsson N, Senz J, Boyd N, Kaurah P, Kandel MJ, et al. Germline E-cadherin mutations in familial lobular breast cancer. J Med Genet. 2007; 44(11): 726-31.

42. Paravisini A, Gurbindo MD, Sánchez S. Ataxia-telangiectasia. Med Clin. 2012; 138 (6): 249-253.

43. Su Y, Swift M. Mortality rates among carriers of ataxia-telangiectasia mutant alleles. Ann Intern Med. 2000; 133(10): 770-8.

44. Swift M, Morrell D, Massey RB, Chase CL. Incidence of cancer in 161 families affected by ataxia-telangiectasia. N Engl J Med. 1991; 325: 1831-6.

45. Lavin MF. Ataxia-telangiectasia: from a rare disorder to a paradigm for cell signalling and cancer. Nat Rev Mol Cell Biol. 2008; 9(10): 759-69.

46. Renwick A, Thompson D, Seal S, Kelly P, Chagtai T, Ahmed M, et al. ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. Nat Genet. 2006; 38(8): 873-5.

47. Ahmed M, Rahman N. *ATM* and breast cancer susceptibility. Oncogene. 2006; 25(43): 5906-11.

48. Kee Y, D'Andrea A.D. Molecular pathogenesis and clinical management of Fanconi Anemia. J Clin Invest. 2012; 122(11): 3799-806.

49. D'Andrea A.D. Susceptibility pathways in Fanconi's anemia and breast cancer. N Engl J Med. 2010; 362: 1909-19.

50. Berwick M, Santagopan J.M, Ben Porat L, Carlson A, Mah K, Henry R, et al. Genetic heterogeneity among Fanconi anemia heterozygotes and risk of cancer. Cancer Research. 2007; 67: 9591-9596.

51. Howlett NG, Taniguchi T, Olson S, Cox B, Waisfizs Q, De Die-Smulders et al. Biallelic inactivation of *BRCA2* in Fanconi anemia. Sciencie. 2002; 297: 606-609.

52. Stratton MR, Rahman N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. Nat Genet. 2008; 40 (1): 17-22.

53. Hollestelle A, Wasielewski M, Martens JW, Schutte M. Discovering moderate-risk breast cancer susceptibility genes. Curr Opin Genet Dev. 2010; 20 (3): 268-73.

54. Ghoussaini M, Fletcher O, Michailidou K, Turnbull C, Schmidt MK, Dicks E, et al. Genome wide association analysis identifies three new breast cancer susceptibility loci. Nat Genet. 2012; 44 (3): 312-8.

55. Couch FJ, Nathanson KL, Offit K. Two decades after *BRCA*: Setting paradigms in personalized cancer care and prevention. Science. 2014; 343: 1466-1470.

56. Ripperger T, Gadzicki D, Meindl A, Schlegelberger B. Breast cancer susceptibility: current knowledge and implications for genetic counselling. European Journal of Human Genetics. 2009; 17: 722-731.

57. Ghoussaini M, Pharoah PD. Polygenic susceptibility to breast cancer: current state-of-the-art. Future Oncol. 2009; 5 (5): 689-701.

58. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. Nature. 2007; 447: 1087-93.

59. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Libro cáncer hereditario. Edición Dispublic. Madrid; 2006. ISBN: 84 - 611- 1748 – 4.

60. Clark SL, Rodriguez AM, Snyder RR, Hankins GD, Boehning D. Structure-Function of the tumor suppressor *BRCA1*. 2012. Computational and structural biotechnology journal vol 1, no 1, 2012.

61. Narod SA, Foulkes WD. *BRCA1* and *BRCA2*: 1994 and beyond. Nat Rev Cancer. 2004; 4 (9): 665-76.

62. Rosen EM. *BRCA1* in DNA damage response and at telomeres. Front. Genet. 2013; 4: 85.

63. Gudmundsdottir K, Ashworth A. The roles of *BRCA1* and *BRCA2* and associated proteins in the maintenance of genomic stability. Oncogene. 2006; 25: 5864-5874.

64. Roy R, Chun J, Powell SN. *BRCA1* and *BRCA2*: different roles in a common pathway of genome protection. Nat Rev Cancer. 2011; 12 (1): 68-78.

65. Rich T, Allen RL, Wyllie AH. Defying death after DNA damage. Nature. 2000; 407: 777-783.

66. van Gent DC, Hoeijmakers JH, Kanaar R. Chromosomal stability and the DNA double-stranded break conecction. Nat Rev Genet 2. 2001: 196-206.

67. Lieber MR, Ma Y, Pannicke U, Schwarz K. Mechanism and regulation of human non-homologous DNA end-joining. Nat Rev Mol Cell Biol. 2003; 4: 712-720.

68. Takata M, Sasaki MS, Sonoda E, Morrison C, Hashimoto M, Utsumi H, et al. Homologous recombination and non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. Embo J. 1998; 17: 5497-5508.

69. Huen MS, Sy SM, Chen J. *BRCA1* and its toolbox for the maintenance of genome integrity. Nat Rev Mol Cell Biol. 2010; 11(2): 138-48.

70. Brunet J, Vazquez-Martín A, Colomer R, Graña Suárez B, Martín Castillo B, Menendez JA. *BRCA1* and acetyl CoA carboxylase: the metabolic syndrome of breast cancer. Mol Carcinog 2008; 47(2): 157-63.

71. Hodson C, Walden H. Towards a molecular understanding of the fanconi anemia core complex. Anemia 2012; ID 926787.

72. Maxwell CA, Benítez J, Gómez-Baldo L, Osorio A, Bonifaci N, Fernandez-Ramires M, et al. Interplay between *BRCA*1 and RHAMM regulates epithelial apicobasal polarization and may influenze risk of breast cancer. PLOS Biology. 2011; 9, e1001199.

73. Summerer D, Wu H, Haase B et al. Microarray-based multicycle-enrichment of genomic subsets for targeted next-generation sequencing. Genome Res. 2009; 19: 1616-1621.

74. Schroeder C, Stutzmann F, Webwe BH, Riess O, Bonin M. High-throughput resenquencing in the diagnosis of *BRCA1/2* mutations using oligonucleotide resenquencing microarrays. Breast Cancer Res Treat. 2010; 122: 287-97.

75. Zhang L, Kirchhoff T, Yee CY, et al. A rapid and realible test for *BRCA1* and *BRCA2* founder mutation analysis in paraffin tissue using pyrosequencing. J Mol Diagn. 2009; 11: 176-81.

76. Walsh T, Lee M, Casadei S, et al. Detection of inherited mutations for breast and ovarian cancer using genomic capture and massively parallel sequencing. PNAS. 2012; 107: 12629-12633.

77. Gracia-Aznarez FJ, Fernández V, Pita G, et al. Whole exome sequencing suggests much of non-*BRCA1/BRCA2* familial breast cancer is due to moderate and low penetrance susceptibility alleles. PLoS One. 2013; 8(2): e55681.

78. Frank TS, Deffenbaugh AM, Reid JE, et al. Clinical characteristics in individuals with germline mutations in *BRCA1* and *BRCA2*: analysis of 10,000 individuals. JCO. 2002; 20: 1480-1490.

79. Palanca S. Identificación y estudio de grandes reordenamientos en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en familias con cáncer de mama y ovario hereditario. Tesis Doctoral de la Universitat de Valencia; 2011.

80. Hogervorst FB, Nederlof PM, Guille JJ, et al. Large genomic delections and duplications in the *BRCA1* gene identified by a novel quantitative method. Cancer Res. 2003; 63: 1449-1453.

81. Nanda R, Schumm LP, Cumming S, et al. Genetic Testing in a Ethnically Diverse Cohort of High-Risk Women. Comparative Analysis of *BRCA1* and *BRCA2* Mutations in American Families of European and African Ancestry. JAMA. 2005; 294: 1925-1933.

82. Weitzel JN, Lagos V, Blazer KR, et al. Prevalence of *BRCA* mutations and founder effect in high-risk Hispanic families. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005; 14: 1666-1671.

83. Díez O, Osorio A, Durán M, Martínez-Ferrandis JI, de la Hoya M, Salazar R, el 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. 2003; 22: 301-12.

84. de Juan Jiménez I, Esteban Cardenosa E, Palanca Suela S, Barragán González E, Aznar Carretero I, Munarriz Gandia B, et al. Low prevalence of *BRCA1* and *BRCA2* mutations in the sporadic breast cáncer of Sapanish population. Fam Cancer. 2012; 11(1): 49-56.

85. Roa BB, Boyd AA, Volcik K, Richards CS. Ashkenazi jewish population frequencies for common mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. Nat Genetics. 1996; 14(2): 185-7.

86. Thorlacius S, Sigurdsson S, Bjarnadottir H, Olafsdottir G, Jonasson JG, Tryggvadottir L, et al. Study of a single *BRCA2* mutation with high carrier frecuency in a small population. Am J Hum Genet. 1997; 60: 1079-84.

87. Peelen T, van Vliet M, Petrij-Bosch A, Mieremet R, Szabo C, van den Ouweland AM, et al. A high proportion of novel mutations in *BRCA1* with strong founder effects among Dutch and Belgian hereditary breast and ovarian cancer families. Am J Hum Genet. 1997; 60: 1041-9.

88. Borg A, Dorum A, Heimdal K, Maehle L, Hovig E, Moller P. *BRCA1* 1675delA and 1135insA account for one third of Norwegian familial breast-ovarian cancer and are associated with later disease onset than less frequent mutations. Dis Markers. 1999; 15: 79-84.

89. Filippini S, Balnco A, Fernandez-Marmiesse A, Álvarez Iglesias V, Ruiz Ponte C, Carracedo A, et al. Multiplex SNaPshot for detection of

BRCA1/2 common mutations in Spanish and Spanish related breast/ovarian cancer families. BMC Med Genet. 2007; 8: 40.

90. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of *BRCA1* and *BRCA2* penetrance. J Clin Oncol. 2007; 25(11): 1329-33.

91. Milne RL, Osorio A, Cajal TR, Vega A, Llort G, de la Hoya M, et al. The average cumulative risk of breast and ovarian cáncer for carriers of mutations in *BRCA1* and *BRCA2* attending genetic counseling units in Spain. Clin Cancer Res. 2008; 14(9): 2861-9.

92. Lubinsky J, Phelan CM, Ghadirian P, Lynch HT, Garber J, Weber B, Tung N, et al. Cancer variation associated with the position of the mutation in the *BRCA2* gene. Familial Cancer. 2004; 3: 1-10.

93. Osorio A, Roger M, Milne R, Kuchenbaecker K, Vaclová T, Pita G, et al. DNA glycosylases involved in base excision repair may be associated with cancer risk in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. PLOS Genetics. 2014; doi: 10.1371/journal.pgen.1004256

94. Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M, Saunders E, Dadaev T, Castro E, et al. Germline *BRCA1* mutations increase prostate cancer risk. Br J Cancer. 2012; 106(10): 1697-701.

95. Fentiman IS, Fourquet A, Hortobagyi GN. Male breast cancer. Lancet. 2006; 367(9510): 595-604.

96. Breast Cancer Linkage Consortium. Pathology of familial breast cancer: differences between breast cancers in carriers of *BRCA1* or *BRCA2* mutations and sporadic cases. Lancet. 1997; 349: 1505-1510.

97. Marcus JN, Watson P, Page DL, Narod SA, Tonin P, Lenoir GM, et al. *BRCA2* hereditary breast cancer pathophenotype. Breast Cancer Res Treat. 1997; 44: 275-7.

98. van der Groep P, Bouter A, van der Zanden R, et al. Distinction between hereditary and sporadic breast cancer on the basis of clinicopathological data. J Clin Pathol. 2006; 59: 611-617.

99. Palacios J, Honrado E, Osorio A, et al. Phenotypic characterizacion of *BRCA1* and *BRCA2* tumors based in a tissue microarray study with 37 immunohistochemical markers. Breast Cancer Res. Treat. 2005; 90: 5-14.

100. Lin NU, Claus E, Sohl J, Razzak AR, Arnaout A, et al. Sites of distant recurrence and clinical outcomes in patients with metastatic Triple-negative Breast Cancer. Cancer. 2088; 113: 2638-2645.

101. Kenemans P, Verstraeten RA, Verheijen RHM. Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. Maturitas. 2004; 49: 34-43.

102. van der Groep P, van der Wall E, van Diest PJ. Pathology of hereditary breast cáncer. Cell Oncol. 2011; 34: 71-88.

103. Malone KE, Begg CB, Haile RW, Borg A, Concannon P, Tellhed L, et al. Population-based study of the risk of second primary contralateral breast cancer associated with carrying a mutation in *BRCA1* or *BRCA2*. J Clin Oncol. 2010; 28(14): 2404-10.

104. Haffty BG, Harrold E, Khan AJ, Pathare P, Smith TE, Turner BC, et al. Outcome of conservatively managed early-onset breast cancer by *BRCA1/2* status. Lancet. 2002; 359(9316): 1471-7.

105. Alpert TE, Haffty BG. Conservative management of breast cancer in *BRCA1/2* mutation carriers. Clin Breast Cancer. 2004; 5(1): 37-42.

106. The Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer risks in *BRCA2* mutation carriers. J NatlCancer Inst. 1999; 91(15): 1310-6.

107. Graña B, Vega A, Cueva J. Cáncer de mama y ovario hereditario: consejo genético, seguimiento y reducción del riesgo. Psicooncología. 2005; 2(2-3): 229-242.

108. Leach MO, Boggis CR, Dixon AK, Easton DF, Eeles RA, Evans DG, et al. Screening with magnetic resonance imaging and mammography of a UK population at high familial risk of breast cancer: a prospective multicentre cohort study (MARIBS). Lancet. 2005; 365(9473): 1769-78.

109. Kriege M, Brekelmans CT, Boetes C, Besnard PE, Zonderland HM, et al. Efficacy of MRI and mammography for breast cancer screening in women with a familial or genetic predisposition. N Engl J Med. 2004; 351(5): 427-37.

110. Lehman CD, Blume JD, Weatherall P, Thickman D, Hylton N, Warner E. Screening women at high risk for breast cancer with mammography and magnetic resonance imaging. Cancer.2005; 103(9): 1898-1905.

111. Warner E, Plewes DB, Hill KA, Causer PA, Zubovits JT, et al. Surveillance of *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers with magnetic resonance imaging, ultrasound, mammograohy, and clinical breast examination. JAMA. 2004; 292(11): 1317-25.

112. González Sarmiento R, Jesús Cruz J, Timón Sánchez A, Sánchez Tapia EM, Martín Gómez T, Santos de Dios E, Pandiella Alonso A. Consejo Genético. Salamanca: Edición Divulga; 2009.

113. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt AN, Johnson DA, Richardson TB, et al. Targeting the DNA repair defect in *BRCA* mutant cells as a therapeutic strategy. Nature. 2005; 434(7035): 917-21.

114. Balmaña I Gelpí J, Mensa Rodríguez I, Brunet I vidal J, Cruzado Rodríguez JA, Pérez Segura P, et al. Cáncer Hereditario. Módulo II: Principios del Asesoramiento Genético. ©Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). 2006. M-30868-2006. ISBN: 84-611-1748-4.

115. Consejo Genético. Guía para prevenir el cáncer hereditario. ©Fundación para la Investigación del Cáncer. Salamanca, 2009. M-53893-2009.

116. Marroni F, Aretini P, D'Andrea E, Caligo MA, Cortesi L, Viel A, et al. Evaluation of widely used models for predicting *BRCA1* and *BRCA2* mutations. J Med Genet. 2004; 41(4): 278-85.

117. Gail MH, Brinton LA, Byar DP, Corle DK, Green SB, Schairer C, et al. Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. J Natl Cancer Ins. 1989; 81: 1879-86.

118. Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. Am J Hum Genet. 1991; 48: 232-42.

119. Euhus DM, Smith K, Robinson L, Stucky A, Olopade OI, Cummings S, et al. Pretest Prediction of *BRCA1* or *BRCA2* Mutation by risk counselors and the computer model BRCAPRO. J Natl Cancer Inst. 2002; 94: 844-851.

120. Antoniou AC, Cunningham AP, Peto J, Evans DG, Lalloo F, Narod SA, et al. The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancers: updates and extensions. Br J Cancer. 2008; 98(8): 1457-66.

121. Robson ME, Storm CD, Weitzel J, Wollins DS, Offit K. American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic and Genomic Testing for Cancer Susceptibility. Journal of Clinical Oncology. 2010; 28 (5): 893-901.

122. Korde LA, Mueller CM, Loud JT, Struewing JP, Nichols K, Greene MH, et al. No evidence of excess breast cancer risk among mutation-negative women from *BRCA* mutation-positive families. Breast Cancer Research and treatment. 2011; 125: 169-173.

123. Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos. Octubre 2003. http://www.unesco.org

124. Convenio para la protección de los Derechos Humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina. Convenio relativo a los derechos humanos y la Biomedicina. Consejo de Europa. Boletín Oficial del Estado. 1999; 36825-30. Monografía en internet.

125. Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, 3 Julio de 2007. Jefatura del Estado. Boletín Oficial del Estado. 2007; 159: 28826-48.

126. Díez Gilbert O, del Río E, Doménech M, Hernández EM, Sanz J, Brunet J. Mutations in the *BRCA1* gene in Young Spanish women with breast cáncer. Med Clin. 1999; 112: 51-54.

127. Martínez-Ferrandis JI, Vega A, Chirivella I, Marín-García P, Insa A, Lluch A. Mutational analysis of *BRCA1* and *BRCA2* in Mediterranean Spanish women with early-onset breast cáncer: Identification of three novel pathogenic mutations. Hum Mutat. 2003; 22: 417-418.

128. Malone KE, Daling JR, Neal C, Suter NM, O'Brien C, Cushing-Haugen K, et al. Frequency of *BRCA1/BRCA2* mutations in a population-based sample of young breast carcinoma cases. Cancer. 2000; 88: 1393-402.

129. Fackenthal JD, Olufunmilayo I O. Breast cancer risk associated with *BRCA1* and *BRCA2* in diverse populations. Nature Reviews Cancer. 2007; 7: 937-948.

130. Radice P, De Summa S, Caleca L, Tommasi S. Unclassified variants in *BRCA* genes: guidelines for interpretation. Ann Oncol. 2011; 11(1): 18-23.

131. Esteban E, de Juan I, Bolufer P, Palanca S, Barragán E, Chirivella I, et al. Broad *BRCA1* and *BRCA2* mutational spectrum and high incidence of recurrent and novel mutations in the eastern Spain population. Breast Cancer Res Treat. 2010; 121: 257-60.

132. Phelan CM, Dapic V, Tice B, et al. Classification of *BRCA1* missense variants of unknown clinical significance. J Med Genet. 2005; 42: 138-46.

133. Osorio A, Milne RL, Honrado E, et al. Classification of missense variants of unknown significance in *BRCA1* based on clinical and tumor information. Hum Mutat. 2007; 28(5): 477-85.

134. De Juan Jiménez I, García Casado Z, Palanca Suela S, 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. 2013; 12(4): 367-77.

135. LOVD: http://brca.iarc.fr/LOVD/home.php

136. Lindor NM, Guidugli L, Wang X, Vallée MP, Monteiro A, 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. 2012; 33(1): 8-21.

137. Proyecto Spanex: csvs.babelomics.org

138. Spain Mutation Database: http://spainndb.isciii.es

139. Healey CS, Dunning AM, Teare MD, Chase D, Parker L, Burn J, et al. A commont variant in *BRCA2* is associated with both breast cancer risk and prenatal viability. Nat Genet. 2000; 26: 362-364.

140. Auranemn A, Spurdle AB, Chen X, Lipscombe J, Purdie DM, Hopper J, et al. *BRCA2* Arg372 Hispolymorphism and epithelial ovarian cancer risk. Int J Cancer. 2003; 103: 427-30.

141. Cruz C, Teule A. Uveal melanoma and BRCA1/BRCA2 genes: A relationship that needs further investigation. Journal on Clinical Oncology. 2011; 29(34): 827-829.

142. Díez O, Osorio A, Durán M, Matínez-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. 2003; 22: 301-312.

143. Infante M, Durán M, Esteban -Cardeñosa E, et al. High proportion of novel mutations of *BRCA1* and *BRCA2* in breast/ovarian cancer patients from Castilla-León (central Spain). Journal of Human Genetics. 2006; 51: 611-617.

144. Lalloo F, Evans DG. Familial breast cancer. Clinical Genetics. 2012; 82: 105-114.

145. Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, et al. Germline *BRCA1* mutations and a basal ephitelial phenotype in breast cancer. Journal of the National Cancer Institute. 2003; 95:1482-5.

146. Kurian AW, Griffith KA, Hamilton AS, et al. Genetic testing and counseling among patients with newly diagnosed breast cancer. JAMA. 2017; 317(5): 531-534.

147. González-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Potter J, Lanchbury JS, et al. Incidence and outcome of *BRCA* mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. ClinCancer Res. 2011; 17(5): 1082-9.

148. Murria R, Palanca S, de Juan I, Alenda C, Egoavil C, Seguí FJ, et al. Immunohistochemical, genetic and epigenetic profiles of hereditary and triple negative breast cancers. Relevance in personalized medicine. Am J Cancer Res. 2015; 5(7): 2330-43.

149. Comen E, Davids M, Kirchhoff T, Hudis C, Offit K, Robson M. Relative contributions of *BRCA1* and *BRCA2* mutations to "triple-negative" breast cancer in Ashkenazi women. Breast Cancer Research and treatment. 2011; 129: 185-90.

150. Fentiman IS, Fourquet A, Hortobagyi GN. Male breast cancer. Lancet. 2006; 367(18): 595-604.

151. Gómez-Raposo C, Zambrana Tévar F, Sereno Moyano M, López Gómez M, Casado E. Male breast cancer. Cancer treatment reviews. 2010; 36: 451-457.

152. Kwiatkowska E, Teresiak M, Filas V, et al. *BRCA2* mutations and androgen receptor expression as independent predictors of outcome of male breast cancer patients. Clin Cancer Res. 2003; 9: 4452-9.

153. Auvinen A, Curtis RE, Ron E. Risk of subsequent cancer following breast cancer in men. J Natl Cancer Inst. 2002; 94: 1330-2.

154. Prat J, FRCPath, Ribé A, Gallardo A. Hereditary ovarian cancer. Human Pathology. 2005; 36: 861-870.

155. Pennington KP, Swisher EM. Hereditary ovarian cancer: Beyond the usual suspects. Gynecologic Oncology. 2012; 124: 347-53.

156. Boyd J, Sonoda Y, Federici MG, et al. Clinicopathologic features of *BRCA*-linked and sporadic ovarian cancer. JAMA. 2000; 283: 2260-5.

157. Song H, Cicek MS, Dicks E, et al. The contribution of deleterious germline mutations in *BRCA1*, *BRCA2* mismatch repair genes to ovarian cancer in the population. Hum Mol Genet. 2014; 23(17): 4703-9.

158. Risch HA, McLaughlin J, Cole DEC, et al. Prevalence and penetrance of germline *BRCA1* and *BRCA2* mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. Am J Hum Genet. 2001; 68: 700-10.

159. King MC, Marks JH, Mandell JB, New York Breast Cancer Study Group. Breast and ovarian cancer risk due to inherited mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. Science. 2003; 302: 643-6.

160. Pal T, Permuth-Wey J, Betts JA, Krischer JP, Fiorica J, Arango H, et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases. Cancer. 2005: 104: 2807-16.

161. Yang D, Khan S, Sun Y, Hess K, Shmulevich I, Sood AK, et al. Association of *BRCA1* and *BRCA2* mutations with survival, chemotherapy sensitivity, and gene mutator phenotype in patients with ovarian cancer. JAMA. 2011; 306: 1557-65.

162. Fong PC, Boss DS, Yap TA, Tutt A, Wu P, Mergui-Roelvink M, et al. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase in tumors from *BRCA* mutation carriers. N Engl J Med. 2009; 361: 123-34.

163. Meindl A, Hellebrand H, Wiek C, Erven V, Wappenschmidt B, et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish *RAD51C* as a human cancer susceptibility gene. Nat Genet. 2010; 42: 410-4.

164. Loveday C, Tumbull C, Ramsay E, Hughes D, Ruark E, Frankum JR, et al. Germline mutations in *RAD51D* confer susceptibility to ovarian cancer. Nat Genet. 2011; 43: 879-82.

165. Rafnar T, Gudbjartsson DF, Sulem P, Jonasdottir A, Sigurdsson A, et al. Mutations in *BRIP1* confer high risk of ovarian cancer. Nat Genet. 2011; 43: 1104-7.