



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
TESIS DOCTORAL

Abordaje del estudio genético del cáncer de ovario
epitelial de alto grado sensible a derivados del platino
mediante técnicas de secuenciación masiva con un
amplio panel de genes

D.^a Ángeles García Aliaga
2023



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
TESIS DOCTORAL

Abordaje del estudio genético del cáncer de ovario
epitelial de alto grado sensible a derivados del platino
mediante técnicas de secuenciación masiva con un
amplio panel de genes

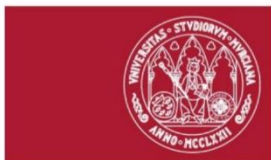
Autor: D.^a Ángeles García Aliaga

Director/es:

Francisco Ruiz Espejo

M^a Desamparados Sarabia Meseguer

José Luis Alonso Romero



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

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Ángeles García Aliaga

doctorando del Programa de Doctorado en

Ciencias de la Salud (Plan 2013)

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Abordaje del estudio genético del cáncer de ovario epitelial de alto grado sensible a derivados del platino mediante técnicas de secuenciación masiva con un amplio panel de genes

y dirigida por,

D./Dña. Francisco Ruis Espejo

D./Dña. M^a Desamparados Sarabia Meseguer

D./Dña. José Luis Alonso Romero

DECLARO QUE:

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

Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:

- La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

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

En Murcia, a 14 de Septiembre de 2023


Fdo.: Ángeles García Aliaga

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

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

*En mi casa han florecido de repente,
todas aquellas promesas,
que me hice al empezar.*

La Pegatina

A mis padres

A mi hermano

A mi Yaya

A Salva

Agradecimientos

Terminar este desafío ha sido tan satisfactorio como duro, pero en los momentos en los que casi tiro la toalla he tenido una red de apoyo increíble sin la cual esto no hubiera sido posible. Siempre os estaré agradecida...

A mis directores de tesis, Amparo Sarabia, Paco Ruiz y José Luis Alonso por ser unos mentores impecables, creer en mí y hacer que esto fuera posible. Sin vuestra orientación constante, vuestra paciencia y vuestro compromiso con mi formación, no sería la persona que soy.

Al Laboratorio de Genómica, en especial a Ángeles, Geles y Patry por todo lo que me han enseñado. Desde que me dejaron cargar un gel de agarosa en las prácticas no he podido parar.

A Ana y Vero por ser las mejores referentes que podía tener.
Y a Laura y Younes por compartir conmigo este camino lleno de descubrimientos y desafíos.

A las Unidades de Asesoramiento Genético del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca y del Hospital General Universitario Morales Meseguer, por sus aportaciones y colaboración.

A todo el personal del Servicio de Análisis Clínicos por acogerme como una más, en especial a José Antonio Noguera por dejarme hacer la tesis en su servicio y poder cumplir este sueño.

A todo el Servicio de Radiofarmacia por ser una fuente inagotable de sabiduría, en especial a Teresa Martínez por su apoyo y disposición como jefa de servicio, tus consejos y palabras de ánimo siempre llegan en el mejor momento.

A Alejandra Abella por ser brillante a la hora de enseñar y un ejemplo a seguir.
Y a mis resis Ángela, Luz y Andrea por compartir mis alegrías y mis penas, ojalá hubiera coincidido más tiempo con vosotras.

A mi compañera de residencia Alejandra Asensio por estar a mi lado durante estos años y brindarme su apoyo en los momentos más difíciles. Juntas hemos superado desafíos y alcanzado metas mientras aprendíamos la una de la otra.

A todos los miembros del Servicio de Medicina Nuclear por acompañarme durante mi residencia. A mis compañeros de residencia Rocío, Tatiana y Tomás por las aventuras que hemos vivido juntos. A las resis pequeñas Claudia, Ángela y Sofía por acogerme como una más desde la distancia. Y en especial a Pepe Contreras por inspirarme y por su dedicación como jefe de servicio.

A Tamara, Almu, Rocío y Cristina sois como una extensión de mi familia, siempre estáis presentes en los momentos más felices y difíciles, aunque nos separen miles de kilómetros.

A mi familia, por estar siempre a mi lado y motivarme para continuar.
A mi tías Charo y Marisol, y a mis padrinos Ramón y Fina por estar tan orgullosos de mí y darme tanto cariño.
Y a mi Yaya por ser la mejor.

A mis padres, porque su amor incondicional ha sido la fuerza que hay detrás de este logro. Vuestra paciencia y comprensión siempre me han sostenido en los momentos más oscuros.

A mi hermano, por ser la persona más buena que conozco y tener un corazón enorme. Todos los momentos compartidos contigo son un regalo maravilloso.

A Salva, por todas las aventuras que hemos vivido y nos quedan por vivir. Gracias por darme aliento en los momentos más difíciles y ser mi razón para seguir adelante.

La gratitud es un sentimiento tan profundo que a veces se queda sin palabras, a todos los que me habéis ayudado a lograr este proyecto.
Gracias, una vez más, de todo corazón.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
ÍNDICE DE TABLAS.....	16
I. INTRODUCCIÓN	19
1. EPIDEMIOLOGÍA	20
2. FACTORES DE RIESGO	21
2.1. Historia reproductiva	21
2.2. Factores hormonales.....	22
2.3. Inflamación pélvica	23
2.4. Obesidad	23
2.5. Historia familiar.....	24
3. CLASIFICACIÓN Y PRONÓSTICO DEL CÁNCER DE OVARIO.....	24
3.1. Clasificación del CO	24
3.2. Estadíaaje y supervivencia	25
3.3. Otros factores pronósticos.....	27
4. CÁNCER DE OVARIO HEREDITARIO.....	28
4.1. Estudio genético CO	30
4.2. Criterios de selección	31
5. TIPOS DE ERRORES EN EL ADN Y MECANISMOS DE REPARACIÓN.....	32
5.1. Daños en una hebra de ADN	34
5.2. Reparación por escisión de bases (BER).....	34
5.3. Reparación por escisión de nucleótidos (NER)	35
5.4. Reparación de desajustes de ADN (MMR)	35
5.5. Daños en ambas hebras del ADN	36
5.6. Unión de extremos no homólogos (NHEJ)	36
5.7. Recombinación homóloga (RH).....	37
6. GENES RELACIONADOS CON EL CÁNCER DE OVARIO HEREDITARIO	39

6.1. Genes relacionados con el Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (SCMOH).....	40
6.1.1. Estructura y función de BRCA1.....	40
6.1.2. Estructura y función de BRCA2.....	41
6.1.3. Variantes genéticas en <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	42
6.1.4. Gen relacionado con ataxia-telangiectasia: <i>ATM</i>	44
6.1.5. Genes relacionados con la anemia de Fanconi.....	45
6.2. Otros síndromes relacionados con el cáncer de ovario hereditario.....	49
6.2.1. Síndrome de Lynch.....	49
6.2.2. Síndrome de Li-Fraumeni.....	49
6.2.3. Síndrome de Peutz-Jeghers.....	50
7. CARACTERIZACIÓN DE LAS VARIANTES.....	51
7.1. Clasificación de las variantes.....	51
7.2. Herramientas para la clasificación de las variantes.....	53
7.2.1. Bases de datos.....	54
7.2.2. Programas <i>in silico</i>	56
7.3. Estudios de la frecuencia de la variante en población control.....	60
8. IMPACTO CLÍNICO DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO.....	60
8.1. Fenotipo asociado a defectos en la RH.....	61
8.2. Tratamiento asociado a alteraciones en la RH.....	62
8.2.1. Quimioterapia convencional.....	62
8.2.2. Tratamiento con inhibidores de la Poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARPi).....	63
8.2.3. PARPi autorizados para uso terapéutico.....	65
8.3. Estrategias de prevención.....	72
8.3.1. Quimioprevención.....	72
8.3.2. <i>Screening</i>	72
8.3.3. Cirugía profiláctica.....	73
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	75
1. HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	76
2. OBJETIVOS.....	78
2.1. Objetivo principal.....	78
2.2. Objetivos específicos.....	78

III. METODOLOGÍA	80
1. PACIENTES EN ESTUDIO.....	81
1.1. Selección y clasificación de los pacientes	81
1.2. Características clínicas e inmunohistoquímicas de los pacientes.....	83
1.2.1. Historia oncológica del CI	84
1.2.2. Antecedentes familiares de cáncer del CI	85
1.2.3. Recogida de datos	86
2. ANÁLISIS GENÉTICO	87
2.1. Extracción de ADN.....	87
2.2. Estudio genético	88
2.2.1. Técnicas de <i>Next Generation Sequencing</i>	88
2.2.2. Secuenciación por Sanger	93
2.2.3. Estudio de grandes reordenamientos	95
3. SECUENCIAS DE REFERENCIA UTILIZADAS.....	96
4. CATEGORIZACIÓN DE VARIANTES	97
4.1. Análisis molecular	98
4.2. Análisis clínico	99
4.2.1. <i>Software</i> de apoyo a las decisiones clínicas: <i>VarSome</i>	105
4.3. Priorización de las variantes de significado clínico desconocido halladas	105
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	106
5.1. Análisis inferencial.....	107
5.2. Análisis de supervivencia	107
6. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	108
IV. RESULTADOS	110
1. POBLACIÓN BRCA	111
1.1. Descripción de la muestra.....	111
1.2. Estudio genético BRCA	114
1.2.1. Rendimiento diagnóstico.....	114
1.2.2. Correlación genotipo-fenotipo	114
1.2.3. Tipos de variantes detectadas.....	115
1.2.4. Variantes patogénicas halladas en <i>BRCA1</i>	117
1.2.5. Variantes patogénicas halladas en <i>BRCA2</i>	122

1.2.6.	Correlación genotipo-fenotipo	128
1.2.7.	Variantes con significado clínico desconocido	129
1.3.	Análisis de supervivencia	131
1.3.1.	Curva de supervivencia según el estadiaje.....	132
1.3.2.	Curva de supervivencia en función de la respuesta al tratamiento	133
1.3.3.	Curva de supervivencia en función del genotipo	135
2.	POBLACIÓN PANEL	137
2.1.	Descripción de la muestra.....	137
2.2.	Estudio genético PANEL	141
2.2.1.	Rendimiento diagnóstico.....	141
2.2.2.	Correlación genotipo-fenotipo.....	141
2.2.3.	Tipos de variantes detectadas.....	142
2.2.4.	Variantes patogénicas halladas en la población PANEL.....	147
2.2.5.	Correlación genotipo-fenotipo.....	157
2.2.6.	Variantes de significado clínico desconocido	158
V.	DISCUSIÓN.....	170
1.	DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.....	171
2.	RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO	178
2.1.	Rendimiento diagnóstico de los genes <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	178
2.2.	Rendimiento diagnóstico del panel de 20 genes	180
3.	ESPECTRO MUTACIONAL DEL CÁNCER DE OVARIO HEREDITARIO	183
3.1.	Análisis conjunto de los genes <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	183
3.2.	Genes no <i>BRCA1/2</i> estudiados mediante NGS	186
4.	VARIANTES DE SIGNIFICADO CLÍNICO DESCONOCIDO.....	191
4.1.	Reclasificación y priorización de VUS.....	192
5.	CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO.....	196
5.1.	Genotipo-fenotipo población BRCA.....	196
5.2.	Genotipo-fenotipo de la población PANEL	197
5.3.	Análisis conjunto de la respuesta al tratamiento	200
6.	ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA	203
6.1.	Pronóstico según el estadiaje	204

6.2. Pronóstico según la respuesta al tratamiento	204
6.3. Pronóstico según el genotipo.....	205
7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	205
7.1. Análisis de supervivencia	206
7.2. Estudio en línea somática	206
VI. CONCLUSIONES	207
VII. ANEXOS.....	211
VIII. BIBLIOGRAFÍA	222

ABREVIATURAS

5'UTR	<i>Untranslated región 5'</i> (región no traducida cinco prima)
ACGS	<i>The Association for Clinical Genomic Science</i> (Asociación de Ciencias de Genética Clínica)
ACHO	Anticonceptivos hormonales orales
ACMG	<i>American College of Medical Genetics and Genomics</i> (Colegio Americano de Genética y Genómica)
AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
AMP	<i>Association for Molecular Pathology</i> (Asociación de Patología Molecular)
ARN	Ácido ribonucleico
BCCR	<i>Breast Cancer Cluster Region</i> (región asociada a cáncer de mama)
BER	<i>Base-excision repair</i> (Reparación por escisión de base)
BRCA+	Portadores de variantes genéticas patogénicas en los genes <i>BRCA1/2</i>
BRCA1+	Portadores de variantes genéticas patogénicas en <i>BRCA1</i>
BRCA2+	Portadores de variantes genéticas patogénicas en <i>BRCA2</i>
BRCAwt	Ausencia de variantes genéticas patogénicas en <i>BRCA1/2</i>
CCC	Cáncer de ovario subtipo células claras
CEAG	Cáncer de ovario subtipo endometrioides de alto grado
CI	Caso índice

CM	Cáncer de mama
CO	Cáncer de ovario
COSAG	Cáncer de ovario subtipo seroso de alto grado
dNTPs	Dinucleótidos trifosfato
DSBs	<i>Double-strand breaks</i> (roturas en ambas hebras de ADN)
EC	Ensayo clínico
EMA	<i>European Medicines Agency</i> (Agencia Europea de Medicamentos)
FIGO	Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
GCO	<i>Global Cancer Observatory</i> (Observatorio Global de Cáncer)
GIS	<i>Genomic Instability Score</i> (Estimación de la inestabilidad genómica)
HGMD	<i>Human Gene Mutation Database</i> (Base de datos de Mutaciones Génicas Humanas)
HGVS	<i>Human Genome Variation Society</i> (Sociedad de la Variación del Genoma Humano)
HCUVA	Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
HGUMM	Hospital General Universitario Morales Meseguer
IC	Intervalo de confianza
ICL	<i>Interstrand crossed links</i> (enlace cruzado de ADN)
ILP	Intervalo libre de platino
LDG	Laboratorio de Genómica
LOVD	<i>Leiden Open Variation Database</i>
LGR	<i>Large Genomic Rearrangements</i> (grandes reordenamientos genómicos)

MLPA	<i>Multiplex Ligation Probe Amplification</i> (Amplificación de sonda dependiente de ligadura multiplex)
MMR	<i>Mismatch repair</i> (reparación del desajuste)
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i> (Centro Nacional para la Información en Biotecnología)
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i> (Red Nacional Integral de Cáncer)
NER	<i>Nucleotide-excision repair</i> (reparación por escisión de nucleótidos)
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i> (Secuenciación Nueva Generación)
NHEJ	<i>Non-homologous end joining</i> (unión de extremos no homólogos)
NIH	<i>National Institutes of Health</i> (Institutos Nacionales de Salud)
NMD	Degradación de ARN mensajero mediada por mutaciones terminadoras (<i>Nonsense Mediated Decay</i>)
OCCR	<i>Ovarian Cancer Cluster Region</i> (región asociada a cáncer de ovario)
OMS	Organización Mundial de la Salud
PARP	Poli (ADP-ribosa) polimerasa
PARPi	Inhibidores de la poli (ADP-ribosa) polimerasa
Pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
REDECAN	Red Española de Registros de Cáncer
RH	Recombinación homóloga
RHD	Recombinación homóloga deficiente
ROCA	<i>Risk of ovarian cancer algorithm</i> (algoritmo de riesgo de cáncer de

	ovario)
RR	Riesgo relativo
SCMOH	Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario
SEOM	Sociedad Española de Oncología Médica
SG	Supervivencia global
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (polimorfismo de un solo nucleótido)
SNS	Sistema Nacional de Salud
SNV	<i>Single Nucleotide Variant</i> (variante de un solo nucleótido)
SOBP	Salpingo-ooforectomía bilateral profiláctica
SSBs	<i>Single-strand breaks</i> (roturas en una hebra de ADN)
VB	Variante benigna
VPB	Variante probablemente benigna
VP	Variante patogénica
VPP	Variante probablemente patogénica
VUS	<i>Variant of Uncertain Significance</i> (variante de significado clínico desconocido)

ÍNDICE DE FIGURAS

I. INTRODUCCIÓN

Figura I.1. Distribución de frecuencias de cáncer en la mujer por tipo de tumor en la Región de Murcia.....	21
Figura I.2. Frecuencia alélica de las variantes génicas y el riesgo relativo de desarrollar cáncer	29
Figura I.3. Genes implicados en el cáncer de ovario hereditario y su prevalencia ..	31
Figura I.4. Papel de la proteína PARP-1 en la reparación del ADN, reclutando el complejo para la reparación por BER.....	35
Figura I.5. Proteínas implicadas en la vía de la recombinación homóloga.....	39
Figura I.6. Esquema de los dominios funcionales de BRCA1 y de las proteínas que interaccionan con él.....	41
Figura I.7. Esquema de los dominios funcionales de BRCA2 y de las proteínas que interaccionan con él.....	42
Figura I.8. Estructura de BRCA1 y BRCA2 con las localizaciones de las regiones BCCR (<i>Breast Cancer Cluster Region</i>) y OCCR (<i>Ovarian Cancer Cluster Region</i>) .	44
Figura I.9. Representación esquemática de los dominios de la proteína ATM.....	45
Figura I.10. Resumen de los distintos cambios moleculares que pueden alterar el ADN.....	52
Figura I.11. Mecanismos de letalidad sintética entre inhibidores de PARP-1 y alteración en la RH	65

III. METODOLOGÍA

Figura III.1. Cronología de las poblaciones incluidas en este estudio.....	83
Figura III.2A. Nanodrop1000 (Thermo Scientific)	87
Figura III.2B. Curva de absorbancia de una muestra de ADN.....	87
Figura III.3. Cronología de técnicas NGS utilizadas en este estudio.....	92
Figura III.4. Purificación enzimática de la reacción de PCR con el reactivo ExoSap-IT.....	94
Figura III.5. Imagen de un patrón electroforético en el que se observa una variante en heterocigosis de una guanina (G) en el lugar de una timina (T)	95
Figura III.6. Proceso descriptivo de MLPA (Multiplex Ligation Probe Amplification) 96	
Figura III.7. Imagen de un patrón electroforético en el que se observa una variante en heterocigosis de una guanina (G) en el lugar de una timina (T)	106

IV. RESULTADOS

Figura IV.1. Distribución de los CI de este estudio según el grupo de edad y la población	111
--	-----

Figura IV.2. Distribución de los CI de la población BRCA según el subtipo histológico de CO.....	112
Figura IV.3. Distribución de los CI de la población BRCA según el estadio FIGO en el diagnóstico.....	113
Figura IV.4. Distribución de los CI de la población BRCA según la respuesta al tratamiento.....	114
Figura IV.5. Distribución de las variantes patogénicas halladas según su clasificación molecular en la población BRCA.....	116
Figura IV.6. Distribución de las variantes patogénicas halladas en <i>BRCA1</i> en la población BRCA, sus principales dominios y regiones asociadas al cáncer de mama (BCCR) y al cáncer de ovario (OCCR).....	119
Figura IV.7. Distribución de las variantes patogénicas halladas en <i>BRCA2</i> en la población BRCA, sus principales dominios y regiones asociadas al cáncer de mama (BCCR) y al cáncer de ovario (OCCR).....	124
Figura IV.8. Función de supervivencia de la población BRCA representada en función de la supervivencia acumulada en función del tiempo representado en meses.....	131
Figura IV.9. Función de supervivencia de la población BRCA representada según el estadiaje FIGO.....	132
Figura IV.10. Función de supervivencia de la población BRCA representada según el grado de sensibilidad de la enfermedad a la quimioterapia con platino.....	134
Figura IV.11. Función de supervivencia de la población BRCA representada según el resultado del estudio genético.....	136
Figura IV.12. Distribución de los CI de la población PANEL según el grupo de edad.....	138
Figura IV.13. Distribución de los CI de la población PANEL según el subtipo histológico de CO.....	139
Figura IV.14. Distribución de los CI de la población PANEL según el estadio FIGO en el diagnóstico.....	140
Figura IV.15. Distribución de los CI según la respuesta al tratamiento con quimioterapia basada en platino.....	141
Figura IV.16. Proporción de variantes patogénicas aportadas por cada gen en la población PANEL.....	143
Figura IV.17. Proporción de variantes patogénicas aportadas por cada patología relacionada con CO hereditario en la población PANEL.....	144
Figura IV.18. Distribución de las variantes patogénicas halladas según su clasificación molecular en la población PANEL.....	145
Figura IV.19. Proporción de VP y VUS aportadas por cada gen en la población PANEL.....	146
Figura IV.20. Proporción de VUS aportadas por cada gen estudiado en la población PANEL.....	159

Figura IV.21. Proporción de variantes patogénicas aportadas por cada patología relacionada con CO hereditario en la población PANEL	160
Figura IV.22. Distribución de las VUS halladas según su clasificación molecular en la población PANEL	161
Figura IV.23. Proporción de VUS priorizadas y no priorizadas aportadas por cada gen en la población PANEL	168

V. DISCUSIÓN

Figura V.1. Distribución de los CI de este estudio según el grupo de edad y la población	171
Figura V.2. Distribución de los CI de este estudio según el subtipo histológico del CO diagnosticado y la población.....	174
Figura V.3. Distribución de los CI de este estudio según el estadiaje FIGO del CO al momento del diagnóstico y la población.....	176
Figura V.4. Distribución de los CI de este estudio según la respuesta al tratamiento con quimioterapia de platino y la población.....	177
Figura V.5. Distribución de las variantes patogénicas halladas en <i>BRCA1</i> en las poblaciones BRCA y PANEL, sus principales dominios y regiones asociadas al cáncer de mama (BCCR) y al cáncer de ovario (OCCR).....	184
Figura V.6. Distribución de las variantes patogénicas halladas en <i>BRCA2</i> en las poblaciones BRCA y PANEL, sus principales dominios y regiones asociadas al cáncer de mama (BCCR) y al cáncer de ovario (OCCR).....	185
Figura V.7. Resumen de las variantes patogénicas, VUS priorizadas y VUS no priorizadas detectadas en genes clínicamente relevantes	194
Figura V.8. Distribución de los tipos de informes clínicos generados en los estudios genéticos del CO realizados en el Laboratorio de Genómica durante el período de este estudio	195

ÍNDICE DE TABLAS

I. INTRODUCCIÓN

Tabla I.1. Características histológicas y moleculares de los carcinomas de ovario	25
Tabla I.2. Estadificación según los criterios TNM y su equivalencia en criterios FIGO	26
Tabla I.3. Estadiaje y supervivencia del carcinoma de ovario	27
Tabla I.4. Resumen de los posibles daños en el ADN y sus principales mecanismos de reparación	33
Tabla I.5. Resumen de las indicaciones y requisitos de los PARPi autorizados por la EMA y AEMPS para su uso financiado por el SNS	68
Tabla I.6. Estudios de eficacia y seguridad de los PARPi autorizados por la AEMPS	72

III. METODOLOGÍA

Tabla III.1. Resumen de la clasificación histológica del CO	85
Tabla III.2. Secuencias de referencia utilizadas para cada gen	97
Tabla III.3. Resumen de las bases de datos utilizadas y su finalidad en este estudio	99
Tabla III.4. Reglas de combinación de criterios para clasificar variantes	104

IV. RESULTADOS

Tabla IV.1. Distribución de los CI de la población BRCA según el grupo de edad	111
Tabla IV.2. Distribución de los CI de la población BRCA según el subtipo histológico de CO	112
Tabla IV.3. Distribución de los CI de la población BRCA según el estadio FIGO en el diagnóstico	113
Tabla IV.4. Resumen de las variantes encontradas en los genes <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	117
Tabla IV.5. Variantes patogénicas halladas en <i>BRCA1</i> en la población BRCA	118
Tabla IV.6. Variantes patogénicas halladas en <i>BRCA2</i> en la población BRCA	123
Tabla IV.7. Variantes de significado clínico desconocido halladas en la población BRCA	130
Tablas IV.8-10. Análisis estadístico descriptivo de la supervivencia global para cohortes en función del estadiaje	133
Tablas IV.11-13. Análisis estadístico descriptivo de la supervivencia global para cohortes en función del grado de sensibilidad de la enfermedad a la quimioterapia con platino	135
Tablas IV.14-16. Análisis estadístico descriptivo de la supervivencia global para cohortes en función del resultado de la prueba genética para los genes <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	137

Tabla IV.17. Distribución de los CI de la población PANEL según el grupo de edad.....	138
Tabla IV.18. Distribución de los CI de la población PANEL según el subtipo histológico de CO.....	139
Tabla IV.19. Distribución de los CI de la población PANEL según el estadio FIGO en el diagnóstico.....	140
Tabla IV.20. Resumen de las variantes encontradas en la población PANEL.....	146
Tabla IV.21. Variantes patogénicas halladas en la población PANEL.....	150
Tabla IV.22. VUS obtenidas en la población PANEL y su reclasificación.....	165

V. DISCUSIÓN

Tabla V.1. Distribución de los CI de este estudio según el grupo de edad y la población	171
Tabla V.2. Prueba estadística Kolmogorov-Smirnov para la edad de los CI de este estudio según la población.....	172
Tabla V.3. Prueba estadística T de Student para la variable edad de las poblaciones BRCA y PANEL.	173
Tabla V.4. Distribución de los CI de este estudio según el subtipo histológico del CO diagnosticado y la población	174
Tabla V.5. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable histología en las poblaciones BRCA y PANEL.....	175
Tabla V.6. Distribución de los CI de este estudio según el estadiaje FIGO del CO al momento del diagnóstico y la población.....	175
Tabla V.7. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable estadiaje FIGO en las poblaciones BRCA y PANEL.....	176
Tabla V.8. Distribución de los CI de este estudio según la respuesta al tratamiento con quimioterapia de platino y la población.....	177
Tabla V.9. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en las poblaciones BRCA y PANEL	177
Tabla V.10. Resumen de los CI con variantes clínicamente relevantes por población en los genes <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	178
Tabla V.11. Comparativa de resultados de rendimiento diagnóstico de otros estudios publicados para los genes <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> en cáncer de ovario	179
Tabla V.12. Desglose de resultados de rendimiento diagnóstico por genes en la población PANEL y comparativa de resultados de rendimiento diagnóstico de otros estudios publicados para el estudio genético de cáncer de ovario a través de panel de genes.....	181
Tabla V.13. Resumen VP halladas fuera de los genes <i>BRCA1/2</i> , su relación con otras patologías y las recomendaciones de la NCCN.....	186
Tabla V.14. Análisis estadístico descriptivo de la supervivencia global para cohortes en función del estadiaje	187

Tabla V.15. Desglose del rendimiento diagnóstico obtenido para cada gen con VP en la población PANEL y comparativa disponible en la bibliografía respecto a este estudio	188
Tabla V.16. Frecuencia mutacional obtenida para cada gen con VP en la población PANEL y comparativa disponible en la bibliografía respecto a este estudio.....	189
Tabla V.17. Comparativa de las variantes halladas en la población PANEL y su clasificación desde el punto de vista clínico	191
Tabla V.18. Resumen de la correlación genotipo-fenotipo de la población BRCA.....	196
Tabla V.19. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en la población BRCA en función del genotipo.....	197
Tabla V.20. Resumen de la correlación genotipo-fenotipo de la población PANEL.....	198
Tabla V.21. Resumen de la correlación genotipo-fenotipo de los genes no <i>BRCA1/2</i> estudiados en la población PANEL	198
Tabla V.22. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en la población PANEL en función del genotipo	199
Tabla V.23. Tabla cruzada para la prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en las poblaciones BRCA y PANEL en función del genotipo	200
Tabla V.24. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en las poblaciones BRCA y PANEL en función del genotipo	201

I. INTRODUCCIÓN

1. EPIDEMIOLOGÍA

Según el informe *Globocan 2020* publicado por el *Global Cancer Observatory* (GCO) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2020 el cáncer de ovario (CO) fue el octavo cáncer más frecuente en mujeres a nivel mundial con 313.959 nuevos casos diagnosticados y el séptimo más letal, con una mortalidad de 5,4/100.000. En este mismo año se diagnosticaron en Europa 66.693 nuevos casos de CO y fallecieron 44.053 pacientes por esta causa.

La incidencia de esta patología aumenta progresivamente con la edad, entre los 40 y 45 años comienza con una tasa de 11,5 casos por cada 100.000 mujeres e incrementa hasta 40,5 casos por cada 100.000 mujeres de más de 65 años, suponiendo el quinto cáncer de mayor mortalidad en este grupo de edad (1).

En España en el año 2023, según la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) junto a los registros de la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN) estima que se diagnostiquen en torno a 3.600 nuevos casos de CO, y se prevé que continúe siendo el cáncer ginecológico de mayor mortalidad ya que, en 2021 supuso un total de 1.979 fallecimientos (2).

En la Región de Murcia, en el período 2013-2015 supuso un 3% del total de tumores malignos diagnosticados llegando al ratio de 12,16 casos por cada 100.000 habitantes (**Figura I.1**) (3). En los últimos años la incidencia ha aumentado progresivamente, pasando de 8,5 casos por cada 100.000 habitantes en el período 1983-1987 a 12,16 casos por cada 100.000 habitantes en el año 2014. Esta tendencia ascendente que también se ha observado de manera similar en los países del sur de Europa, podría explicarse por una disminución en el número de hijos. También se observa el aumento progresivo de la incidencia en función de la edad, con tasas que pasan de 20 a 35 casos por cada 100.000 habitantes en mujeres con una edad comprendida entre 50-64 años y en mujeres mayores de 65 años respectivamente (4).

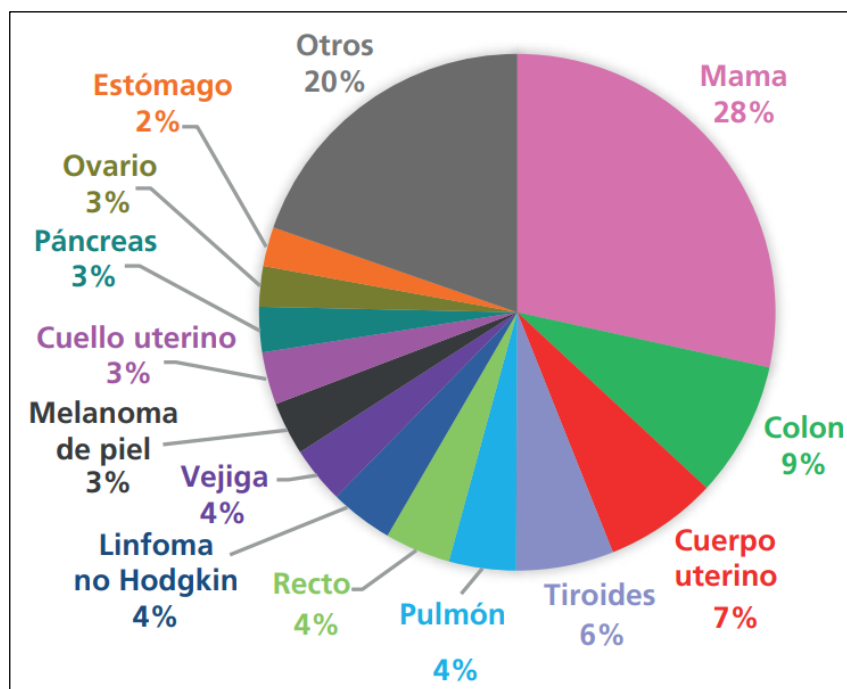


Figura I.1. Distribución de frecuencias de cáncer en la mujer por tipo de tumor en la Región de Murcia. Tomado de Chirlaque MD, et al.(3).

El riesgo de padecer CO, cáncer de trompa de Falopio o primario peritoneal es del 1,5% en la población general. El subtipo patológico más abundante es el epitelial, seguido del estromal y del germinal (5). A pesar de los progresos en su tratamiento tanto quirúrgico como farmacológico, continúa siendo el cáncer ginecológico más letal. Esto es debido principalmente a la falta de un método de cribado para su detección precoz, lo que se traduce en que la mayoría de las pacientes sean diagnosticadas en fases avanzadas de la enfermedad. Además, esta patología puede presentar resistencia a los fármacos citostáticos más comunes utilizados en tratamientos oncológicos (6–8).

2. FACTORES DE RIESGO

2.1. Historia reproductiva

Las gestaciones tienen un efecto protector frente al CO mediante la eliminación de lesiones premalignas y células dañadas que ocurren durante el embarazo. Este efecto protector se mantiene durante máximo dos décadas y después decrece (9). El riesgo relativo (RR) de desarrollar CO disminuye hasta un tercio con un embarazo y puede disminuir más con nuevas gestaciones.

I. INTRODUCCIÓN

Hay evidencias de que este efecto es más notable en gestaciones de mayor edad debido a que una gestación con más de 35 años disminuye a la mitad el RR comparado con una gestación con menos de 25 años (10).

Un patrón de protección similar al del embarazo se observa con el uso de anticonceptivos hormonales orales (ACHO), ya que, su uso puede disminuir el RR de CO hasta un 50% (11). La lactancia también tiene un efecto protector frente al CO reduciendo un 30% la probabilidad de desarrollar esta patología comparado con casos control (12).

Sin embargo, la infertilidad duplica el RR de CO, pero el uso de fármacos para el tratamiento de la infertilidad supone un factor confuso debido a que las gestaciones llevadas a término reducen este riesgo (13).

La oclusión tubárica bilateral o salpingoplastia (ligadura de trompas) disminuye el RR de CO durante los 10-15 años posteriores a la intervención (14). Este procedimiento altera la circulación ovárica suponiendo una disminución de la síntesis hormonal, además del impedimento físico para el ascenso de las células aberrantes que podrían dar origen al CO (15).

2.2. Factores hormonales

El epitelio ovárico es un tejido formado por células que presentan receptores para la mayoría de las hormonas esteroideas y prostaglandinas. Este tejido es altamente sensible a los niveles hormonales, ya que, de esto depende la regulación del ciclo ovárico.

Los progestágenos administrados en la anticoncepción hormonal oral tienen un efecto pro-apoptótico sobre el epitelio ovárico, favoreciendo la renovación celular y la eliminación de células dañadas (16).

Con respecto a las gonadotropinas, aunque son las hormonas responsables de la estimulación del epitelio ovárico, no hay evidencia de que niveles elevados circulantes de estas hormonas eleven el RR de CO (17). Tampoco existen evidencias de que los niveles circulantes de estrógenos ya sean endógenos o exógenos, tengan relación con el CO (18).

2.3. Inflamación pélvica

El epitelio ovárico y de las trompas de Falopio está expuesto de forma recurrente a un ambiente proinflamatorio relacionado con la ovulación y el ciclo menstrual. Las citoquinas proinflamatorias presentes en este fenómeno, también se encuentran elevadas en el carcinoma de ovario. Además, existe una correlación entre los niveles de proteína C reactiva e interleucinas y el riesgo de desarrollar CO (19,20).

El CO puede estar relacionado con ciertos estados proinflamatorios como la enfermedad inflamatoria pélvica y la endometriosis. La enfermedad inflamatoria pélvica sucede como consecuencia de enfermedades de transmisión sexual y su proceso inflamatorio afecta a útero, trompas y ovarios. Los estudios epidemiológicos determinan que existe un incremento de riesgo de padecer CO en mujeres que han padecido esta enfermedad. Además, este riesgo es mayor en mujeres que presentan esta enfermedad en edades más jóvenes y son estériles (21).

Por otro lado, la endometriosis es una patología en la cual subyace una inflamación crónica y una resistencia a la progesterona. El estado inflamatorio crónico junto con la falta de protección de la progesterona, asocian la endometriosis con CO, concretamente los subtipos carcinoma endometrioide y el carcinoma de células claras (22,23).

2.4. Obesidad

El tejido adiposo además de tener una función de reserva calórica funciona también como un órgano endocrino involucrado en procesos relacionados con la regulación de la glucemia, inmunidad y funciones reproductivas. La obesidad en mujeres postmenopáusicas se relaciona directamente con un aumento de la secreción adrenal de andrógenos y un incremento en la conversión de andrógenos a estrógenos endógenos. Por este motivo, la obesidad es un factor de riesgo para el desarrollo de ciertos tumores en mujeres postmenopáusicas, como el cáncer de mama y el cáncer de endometrio (24,25).

I. INTRODUCCIÓN

En esta misma línea, los estudios publicados hasta la fecha evidencian una posible relación entre niveles elevados de estrógenos asociados a la obesidad en mujeres postmenopáusicas y el CO, puesto que, estas hormonas promueven la proliferación celular del epitelio ovárico; pero los resultados de estos estudios no son concluyentes (26,27).

2.5. Historia familiar

El historial familiar de CO es el factor de riesgo más estudiado de todos, ya que el riesgo de desarrollar esta patología en familiares de primer y segundo grado se incrementa 3,6 y 2,9 veces respectivamente comparado con mujeres sin antecedentes familiares (28).

Esta agregación familiar se justifica en un 15-20% de los casos por la presencia de variantes patogénicas germinales en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, además de otros genes relacionados con la recombinación homóloga (RH) o el síndrome de Lynch (29).

3. CLASIFICACIÓN Y PRONÓSTICO DEL CÁNCER DE OVARIO

El 90% CO tiene su origen en células epiteliales y el otro 10% derivan de células del epitelio germinal o estroma ovárico y cordones sexuales. Dentro de la expresión CO se agrupan los tumores con origen en el ovario, trompa de Falopio y peritoneo que presentan un comportamiento clínico similar.

3.1. Clasificación del CO

La clasificación del CO se realiza en función del tipo de lesión precursora y las características clínicas, patológicas y moleculares, agrupando estos tumores en dos grupos (**Tabla I.1**) (30).

El grupo I está formado por carcinomas serosos de bajo grado, carcinomas endometrioides de bajo grado, carcinoma de células claras, carcinomas mucinosos y tumores de Brenner. Este grupo se caracteriza por una mayor estabilidad genética, sin mutaciones en *TP53* y clínicamente son menos indolentes y se diagnostican en estadios precoces (31).

I. INTRODUCCIÓN

El grupo II incluye los carcinomas serosos de alto grado, carcinomas endometrioides de alto grado, carcinomas indiferenciados y carcinosarcomas. Suponen el 75% de los carcinomas de ovario, son genéticamente más inestables que los del grupo I. El 95% de los casos presentan mutaciones somáticas en el gen *TP53* y aproximadamente el 50% de estos tumores presentan errores en el mecanismo de reparación del ADN mediante RH. Clínicamente se caracterizan por ser agresivos y la mayoría se diagnostica en estadios avanzados (32). El origen de la mayoría de los carcinomas serosos de alto grado se encuentra en las fimbrias de las trompas de Falopio para luego diseminarse al ovario y cavidad peritoneal (33).

Tipo	Histología	Características moleculares
I	Carcinoma seroso de bajo grado	Mutaciones en <i>KRAS/BRAF</i> >60%
I	Carcinoma endometrioide de bajo grado	Mutaciones en <i>CTNNB1</i> , <i>PTEN</i> y <i>PI3K</i> . Inestabilidad de microsatélites
I	Carcinoma mucinoso	Mutaciones en <i>KRAS</i> >50%
I	Carcinoma de células claras	Mutaciones en <i>PI3K</i> y <i>PTEN</i>
II	Carcinoma seroso de alto grado	Mutaciones en <i>TP53</i> >80% Mutaciones en <i>BRCA</i> y otros genes RH
II	Carcinoma endometrioide de alto grado	Mutaciones en <i>BRCA</i> , <i>TP53</i> y <i>PI3K</i>

Tabla I.1. Características histológicas y moleculares de los carcinomas de ovario.

3.2. Estadaje y supervivencia

La guía NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) para realizar el estadaje del CO después de su diagnóstico recomienda utilizar los criterios según la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) o bien el

I. INTRODUCCIÓN

sistema TNM (tumor, ganglio linfático, metástasis) de la *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* (**Tabla I.2**).

Tumor primario (T)		
TNM	FIGO	
TX	-	El tumor primario no se puede estudiar.
T0	-	Sin evidencias de tumor primario.
T1	I	Tumor limitado los ovarios (uno o ambos).
T1a	IA	Tumor limitado a un ovario. Cápsula intacta, sin tumor en la superficie ovárica. Ausencia de células malignas en líquido ascítico y en lavados peritoneales.
T1b	IB	Tumor limitado en ambos ovarios. Cápsulas intactas, sin tumor en las superficies ováricas. Ausencia de células malignas en líquido ascítico y en lavados peritoneales.
T1c	IC	Tumor limitado en uno o ambos ovarios junto a uno de los siguientes criterios: cápsulas afectadas, tumor en la superficie ovárica, presencia de células malignas en líquido ascítico o en lavados peritoneales.
T2	II	Tumor en uno o ambos ovarios con diseminación en pelvis.
T2a	IIA	Tumor extendido y/o implantes tumorales en útero o trompa/s de Falopio. Ausencia de células malignas en líquido ascítico y en lavados peritoneales.
T2b	IIB	Tumor extendido y/o implantes en tejido pélvico. Ausencia de células malignas en líquido ascítico y en lavados peritoneales.
T2c	IIC	T2a/T2b con presencia de células malignas en líquido ascítico o en lavados peritoneales.
T3	III	Tumor en uno o ambos ovarios con metástasis peritoneales microscópicas fuera de pelvis confirmadas.
T3a	IIIA	Metástasis peritoneales microscópicas (no macroscópicas) fuera de pelvis.
T3b	IIIB	Metástasis peritoneales macroscópicas menores o iguales a 2cm fuera de pelvis.
T3c	IIIC	Metástasis peritoneal fuera de pelvis mayor a 2cm y/o nódulo linfático local positivo. Incluida metástasis en cápsula hepática sin afectación de parénquima hepático.
Nódulos linfáticos locales (N)		
NX	-	Los nódulos linfáticos no se pueden estudiar.
N0	-	Sin evidencia de afectación de los nódulos linfáticos.
N1	IIIC	Metástasis en nódulos linfáticos locales.
Metástasis a distancia (M)		
M0	-	Sin evidencia de metástasis a distancia.
M1	IV	Metástasis a distancia, no peritoneal. Incluida metástasis en parénquima hepático.

Tabla I.2. Estadificación según los criterios TNM y su equivalencia en criterios FIGO.

I. INTRODUCCIÓN

Después del diagnóstico, se realiza una primera cirugía donde se confirma la enfermedad y se registran los hallazgos relevantes para su estadiaje antes de proceder a la citorreducción tumoral. Este primer abordaje quirúrgico supone además de la primera línea de tratamiento, el principal factor pronóstico de la enfermedad. Puesto que, dependiendo de la estadificación del tumor, la supervivencia de los 5 primeros años después del diagnóstico puede ser en torno al 80% en estadios más bajos comparado con el 20% de los estadios más avanzados (**Tabla I.3**) (34).

Estadio	Supervivencia (%)				
	1 año	2 años	3 años	4 años	5 años
IA	98.4	96.2	93.5	91.1	89.6
IB	100	93.9	93.9	88.6	86.1
IC	96.3	91.4	87.9	85.6	83.4
IIA	93.0	87.2	79.7	78.1	70.7
IIB	93.4	84.5	76.6	71.9	65.5
IIC	93.6	85.6	82.3	75.8	71.4
IIIA	88.1	72.6	63.1	52.8	46.7
IIIB	85.7	70.6	56.8	47.7	41.5
IIIC	84.8	64.5	50.3	39.3	32.5
IV	72.4	48.4	35.2	24.8	18.6

Tabla I.3. Estadiaje y supervivencia del carcinoma de ovario. Datos tomados de Heintz A.P. et al. (34).

3.3. Otros factores pronósticos

Además de la repercusión que tiene el estadiaje en la supervivencia, es importante identificar aquellas pacientes con mayor riesgo de recaída. El riesgo de recaída puede llegar a ser de un 20% en estadios tempranos. No obstante, para estadios avanzados el factor más crítico para el pronóstico es la enfermedad residual tras la cirugía. El objetivo principal del tratamiento quirúrgico debe ser conseguir una citorreducción completa sin residuo tumoral macroscópico, debido a que la presencia de un residuo macroscópico mayor de 10 mm se asocia a una disminución significativa de la supervivencia (35).

I. INTRODUCCIÓN

Al igual que ocurre en otros tumores, la edad también supone un factor pronóstico. Los diagnósticos en mujeres con menor edad están asociados a una respuesta inmune más capacitada para actuar frente a células tumorales, limitando su diseminación. Por el contrario, los diagnósticos en edades más avanzadas se relacionan con una peor supervivencia (36,37). Relacionado con la respuesta inmune, la presencia de infiltrados de linfocitos T CD4+ y CD8+ peritumorales se relaciona también con una mayor supervivencia (38).

La monitorización de los niveles séricos del marcador tumoral CA-125 durante el tratamiento con quimioterapia puede ser un indicador de respuesta al tratamiento y, en consecuencia, de la supervivencia. Niveles de CA-125 inferiores a 35 U/mL después del primer ciclo de quimioterapia y la normalización de estos niveles durante los tres primeros ciclos del tratamiento son indicativos de una buena respuesta (39).

Según un metaanálisis de 27 publicaciones para cáncer de mama y ovario, se ha evidenciado que las pacientes portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2* tenían una mayor supervivencia global (SG) que las no portadoras, así como una mayor supervivencia libre de progresión (40).

4. CÁNCER DE OVARIO HEREDITARIO

El descubrimiento de los genes *BRCA1* y *BRCA2* en los años 90 dio paso a la comprensión de la etiología genética del cáncer. Permitió establecer la relación de estos genes con la susceptibilidad al cáncer de mama (CM) y CO entre otros. Los genes *BRCA1* y *BRCA2* se consideran genes de elevada prevalencia y se caracterizan por tener un patrón de herencia autosómica dominante en cuanto a la predisposición al cáncer. De modo que los individuos portadores de variantes patogénicas en línea germinal poseen una mayor predisposición a padecer cáncer a nivel somático. Respecto al tipo de herencia, aunque la penetrancia es elevada no es completa (41).

Desde entonces, se han conseguido avances en el conocimiento en la etiología y fisiopatología del cáncer hereditario. En este sentido, se han

I. INTRODUCCIÓN

descubiertos nuevos genes que también están asociados a un riesgo incrementado de padecer CO. Por otro lado, la tecnología también ha ido avanzando y el desarrollo de nuevas herramientas para el análisis genético como la secuenciación masiva (NGS, *Next Generation Sequencing*) ha permitido que se abarate el coste de estas pruebas. Todo esto ha conllevado la aparición de paneles de genes, los cuales hacen posible estudiar varios genes en un mismo análisis. Sin embargo, la aplicación de estos paneles en el ámbito clínico del cáncer de ovario hereditario está suponiendo un reto para los profesionales del laboratorio y los clínicos, debido al hallazgo de variantes en estos genes, de las que se desconoce su implicación clínica por no estar previamente descritas.

La genética subyacente al CO se puede dividir en tres componentes principales (**Figura I.2**):

- Variantes genéticas muy raras en la población, las cuales están asociadas a un riesgo muy elevado de desarrollar cáncer.
- Variantes genéticas relativamente raras en la población, asociadas a un riesgo intermedio de desarrollar cáncer.
- Variantes genéticas comunes en la población, las cuales están asociadas a un riesgo intermedio de desarrollar cáncer.

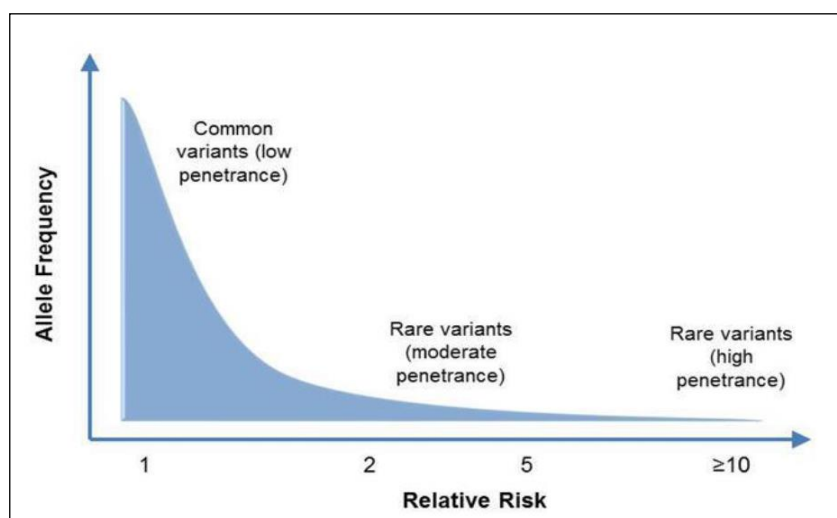


Figura I.2. Frecuencia alélica de las variantes genéticas y el riesgo relativo de desarrollar cáncer. Tomado de Andrews L. et al. (42).

I. INTRODUCCIÓN

Aproximadamente un 20% de mujeres diagnosticadas de CO podrían ser portadoras de variantes patogénicas germinales (43). Se estima que un 15% de estas variantes patogénicas germinales lo sean en los genes *BRCA1* y *BRCA2* mientras que un 0.5-2% se encuentran en genes relacionados con el síndrome de Lynch (44). El estudio del síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario (SCMOH) en los últimos años ha permitido descubrir mutaciones en genes implicados en la vía de la RH que también confieren un mayor riesgo de desarrollar CO (45).

4.1. Estudio genético CO

Se estima que alrededor de una quinta parte de los diagnósticos de CO presentan un componente hereditario. Las variantes patogénicas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* pueden explicar entre un 65-85% de los casos de cáncer de ovario hereditario. El entendimiento de las vías de reparación del ADN, en concreto la RH y la vía de la anemia de Fanconi, ha permitido identificar más genes que confieren un incremento de riesgo de desarrollar CO. Según los estudios publicados, mutaciones germinales en estos genes podrían estar asociadas hasta un 30% de las familias no portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2* con un fenotipo compatible de cáncer de ovario hereditario (**Figura I.3**) (43,45).

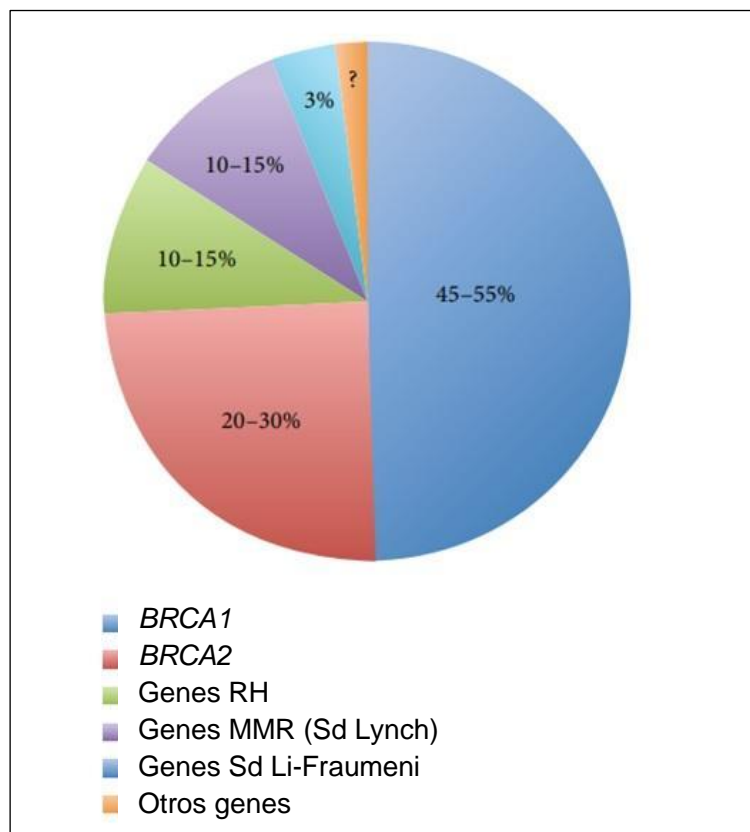


Figura I.3. Genes implicados en el cáncer de ovario hereditario y su prevalencia. Tomado de Toss A. et al. (45).

4.2. Criterios de selección

Las técnicas de diagnóstico genético para el CO se centran en el análisis de variantes patogénicas en línea germinal y somática de los genes responsables. En el caso de las mutaciones en línea germinal, estas variantes están presentes en todas las células del organismo, incluidos los gametos, por lo que son hereditarias. En base a esto, se distinguen dos tipos de análisis genético según su finalidad:

- Diagnósticos: estos se realizan en pacientes afectados de cáncer en los que se sospecha que esta patología sea de origen hereditario. El paciente seleccionado para este estudio se denomina caso índice (CI) y se le realiza un estudio genético de aquellos genes que pueden estar implicados (al menos *BRCA1* y *BRCA2*).

I. INTRODUCCIÓN

- Predictivos de riesgo: estos se llevan a cabo en personas sanas familiares de un CI en el que se ha encontrado una variante que explica la enfermedad. Mediante este análisis se pretende conocer si dicho familiar ha heredado la mutación asociada a un mayor riesgo de padecer cáncer. En este caso se analizará únicamente la variante genética hallada en el CI.

La SEOM recomienda que en ambos casos se realice un correcto asesoramiento genético pre y post-análisis. El asesoramiento genético previo al análisis asegura que los pacientes estén correctamente informados de los beneficios y limitaciones del análisis genético. Por su parte, el asesoramiento post-análisis tiene como objetivo informar sobre el riesgo de desarrollar cáncer, dar recomendaciones de prevención y diagnóstico precoz e informar sobre las opciones reproductivas.

5. TIPOS DE ERRORES EN EL ADN Y MECANISMOS DE REPARACIÓN

El reconocimiento del daño en el ácido desoxirribonucleico (ADN) para su reparación es esencial para el correcto funcionamiento celular y el mantenimiento de la estabilidad genómica. Este daño se puede clasificar en dos grupos: daños en una única hebra de ADN (*single-strand breaks* o SSBs) y daños en ambas hebras del ADN (*double-strand breaks* o DSBs). Para cada tipo de daño existen mecanismos de reparación específicos, las características de cada mecanismo se resumen en la siguiente tabla (**Tabla I.4**).

I. INTRODUCCIÓN

	Mecanismo	Tipo de daño en el ADN	Reparación	Proteínas clave	Fase del ciclo celular
Daños en una hebra	Reparación por escisión de base (BER)	Rotura de cadena por oxidación, alquilación, hidrólisis o desaminación	Puntual de un nucleótido	PARP	Todas
	Reparación por escisión de nucleótidos (NER)	Dímeros de timina (uniones intracadena)	2 – 30 nucleótidos y distorsiones de hélice	XP, polimerasas	Todas
	Reparación de desajustes de ADN (MMR)	Inserciones, deleciones durante la replicación y recombinación del ADN	Empareja nucleótidos no complementarios y mantiene la estabilidad de los microsatélites	MLH1, MSH2, MSH6, MLH3, PMS2	Final de la replicación del ADN (S)
Daños en ambas hebras	Unión de extremos no homólogos (NHEJ)	Rotura de ambas hebras del ADN (extremos rotos sin molde)	Alineamiento y ligación de los extremos terminales	DNA-PXcs, Mre11, RAD50, NBS1	G0 y G1
	Recombinación homóloga (RH)	Errores y rotura de ambas hebras durante la replicación del ADN	Mantiene la estabilidad genómica mediante recombinación con la cromátida hermana	ATM, BRCA1/2, CHEK2, RAD51, BRIP1, PALB2	S

Tabla I.4. Resumen de los posibles daños en el ADN y sus principales mecanismos de reparación.

5.1. Daños en una hebra de ADN

Los daños en una hebra de ADN, también denominados DNA *single-strand breaks* (SSBs) ocurren cuando sólo una de las dos cadenas de la doble hélice tiene un defecto y la otra hebra puede ser utilizada como molde para la corrección de la cadena dañada. Para reparar este daño en una de las moléculas pareadas de ADN, existen varios mecanismos de reparación de escisiones, que eliminan el nucleótido dañado y lo sustituyen por un nucleótido nuevo complementario al que se encuentra en la cadena de ADN no dañada utilizada como molde.

5.2. Reparación por escisión de bases (BER)

El mecanismo de reparación por escisión de bases o BER del inglés *base-excision repair*, es el mecanismo de reparación de roturas de una hebra de ADN y modificaciones de bases sin alteración de la doble hélice. En este proceso se reparan daños a un único nucleótido causados por oxidación, alquilación, hidrólisis o desaminación. Una glicosidasa reconoce y escinde la base nitrogenada del nucleótido dañado, generando un huecoapurínico o apirimidínico. El esqueleto pentosa-fosfato residual es eliminado por una APE endonucleasa y finalmente es sustituido por el nucleótido adecuado por la poliADP-ribosa polimerasa PARP-1 y el complejo BER. La proteína PARP-1 sirve como detector de las roturas de la cadena de ADN e inicia la reparación (**Figura I.4**). Si se inhibe la actividad de la enzima PARP-1 se produce una acumulación de errores sin reparar. Esto permitió desarrollar el concepto de letalidad sintética que permitió desarrollar fármacos inhibidores de PARP-1 (PARPi) que aumentan la supervivencia libre de progresión en CO con variantes patogénicas en *BRCA1* o *BRCA2* (46).

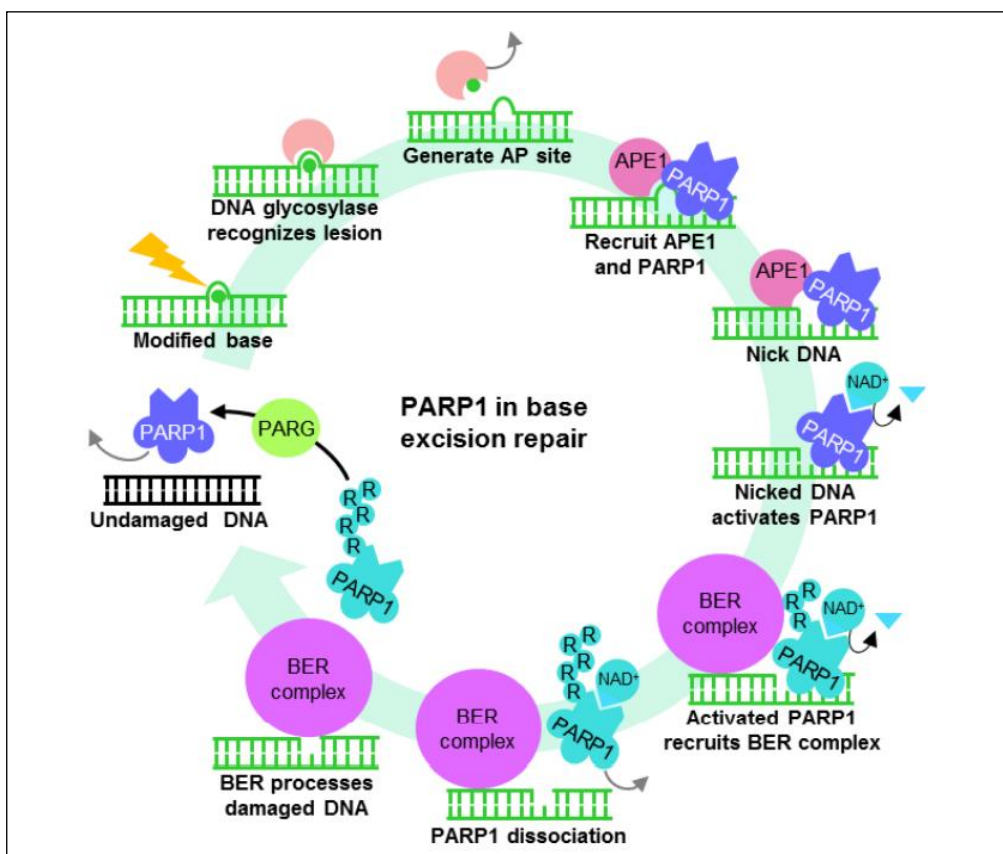


Figura I.4. Papel de la proteína PARP-1 en la reparación del ADN, reclutando el complejo para la reparación por BER. Tomado de Ko H.L. et al. (47).

5.3. Reparación por escisión de nucleótidos (NER)

El mecanismo de reparación por escisión de nucleótidos o NER del inglés *nucleotide-excision repair*, es el mecanismo de reparación de lesiones que afectan entre dos y treinta nucleótidos que distorsionan la hélice, como los dímeros de timina. Mediante este proceso se reparan las lesiones por radiación ultravioleta y quimioterapia derivada del platino (46).

5.4. Reparación de desajustes de ADN (MMR)

Las reparaciones anteriores se llevan a cabo antes de finalizar la replicación. La reparación de desajustes de ADN o MMR del inglés *mismatch repair* es un sistema de reconocimiento y reparación de inserciones, deleciones o incorporación errónea de bases que pueden originarse durante la replicación y recombinación del ADN que actúa cuando la replicación ya ha concluido.

I. INTRODUCCIÓN

Este mecanismo corrige los errores de nucleótidos no dañados, pero mal apareados.

Los genes implicados en este proceso son *MLH1* (*mutL homolog 1*), *MSH2* (*mutS homolog 2*), *MSH6* (*mutS homolog 6*), *MLH3* (*mutL homolog 6*) y *PMS2* (*PMS1 homolog 2*). El fallo de este mecanismo de reparación provoca la acumulación de secuencias repetidas de nucleótidos que se traduce en inestabilidad de microsatélites. Las variantes patogénicas en estos genes son responsables del síndrome de Lynch, un síndrome de cáncer hereditario que aumenta el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal fundamentalmente, pero también de endometrio, ovario y estómago entre otros (45).

5.5. Daños en ambas hebras del ADN

Las roturas de doble hebra o *double-strand breaks* (DSBs) son aquellas en las cuales se rompen ambas hebras de la doble hélice del ADN, son particularmente peligrosas para las células debido a que causan problemas de estabilidad en el genoma. Existen dos mecanismos que reparan estas roturas: la unión de extremos no homólogos (NHEJ del inglés *Non-homologous DNA End Joining*) y la RH.

5.6. Unión de extremos no homólogos (NHEJ)

La unión de extremos no homólogos es un método menos preciso que la RH y con mayor tasa de error, pero tiene un papel esencial en la minimización de daño en el ADN en las fases G0 y G1 del ciclo celular. Este tipo de reparación ocurre en estas fases en las cuales no hay una hebra molde intacta para poder llevar a cabo una reparación homóloga. Se considera un mecanismo de reparación no homólogo porque los extremos rotos están directamente ligados sin la necesidad de un molde. Al contrario que la RH, que requiere una secuencia homóloga para guiar la reparación. Este mecanismo se divide en 3 fases (48):

- Fase de reconocimiento: el inicio del proceso se desencadena por la unión de un complejo proteico heterodimérico (compuesto por las proteínas KU70 y KU80) a ambos extremos rotos del ADN, el cual se

I. INTRODUCCIÓN

une. La unión de este complejo heterodimérico KU a los extremos rotos del ADN es lo que ocurre inmediatamente después de originarse la rotura y sirve como base para la intervención de otras proteínas que continuarán con el proceso de reparación, y así formar una estructura que finalmente logre la unión de los extremos.

- Fase de procesamiento: El heterodímero KU se desliza hacia el interior de la doble hebra de ADN, permitiendo la interacción de las subunidades catalíticas (ADN-PKcs) de la enzima ADN-quinasa con los extremos del ADN. Este paso estabiliza los extremos del ADN y evita la resección. Para llevar a cabo el alineamiento de los dos extremos terminales del ADN es necesario el complejo ARTEMIS/ADN-PKcs, con actividad nucleasa. Este mecanismo está sometido a errores frecuentes por la pérdida de nucleótidos en el punto de reparación.
- Fase de terminación: el complejo XRCC4/liga-saIV lleva a cabo la ligación de los fragmentos sintetizados terminando el proceso.

5.7. Recombinación homóloga (RH)

La RH es un tipo de recombinación genética durante la cual las secuencias de nucleótidos son intercambiadas entre dos cromátidas hermanas de ADN. Es un proceso crucial para la conservación de los organismos, debido a que mantiene la integridad genómica mediante la reparación de las rupturas de la doble hebra de ADN. Estos daños son generados durante la replicación del ADN (fase S del ciclo celular) y preferentemente reparados mediante recombinación con la cromátida hermana. El proceso de la RH consta de los siguientes pasos (**Figura I.5**):

1. Reconocimiento de la DSB. Cuando se produce una rotura de la doble cadena de ADN, se produce el reconocimiento de este sitio y la unión de proteínas reparadoras. Las quinasas ATM y ATR reconocen esta rotura y fosforilan a otras proteínas implicadas en el proceso de reparación: CHEK2, P53, BRCA1 y H2AX. BRCA1 mantiene ensambladas y organizadas a estas proteínas. A continuación, las proteínas BARD1 y BRIP1 interaccionan con BRCA1.

I. INTRODUCCIÓN

2. Preparación de los extremos 3'. El complejo MRN, formado por las proteínas MRE11, RAD50 y NSB1 con actividad exonucleasa 5'-3', procesa los extremos de ADN roto. Extrae los extremos 5' generados por la rotura hasta generar dos extremos 3' en forma de ADN monocatenario. Estos extremos serán reconocidos por la proteína de replicación A (RPA).
3. Transporte de RAD51. La proteína RPA se une a los extremos 3' de las monohebras de ADN. La proteína BRCA2 es reclutada con la ayuda de PALB2 y transporta a RAD51 al ADN cubierto por RPA, este transporte es asistido por las proteínas RAD51B, RAD51C y RAD51D. La unión de RAD51 con el extremo de ADN-RPA forma la estructura denominada nucleofilamento.
4. Invasión de la hebra homóloga del ADN. Una vez se ha formado el nucleofilamento tiene lugar la reacción principal de la RH, la invasión de la cromátida homóloga que sirve como molde.
5. Síntesis y reparación del ADN. La cadena de ADN constituye un molde para una reparación de ADN de alta fidelidad y libre de error mediante una ADN polimerasa. Por último, las ligasas y helicasas finalizan el proceso dando como resultado dos moléculas de doble cadena de ADN intactas.

I. INTRODUCCIÓN

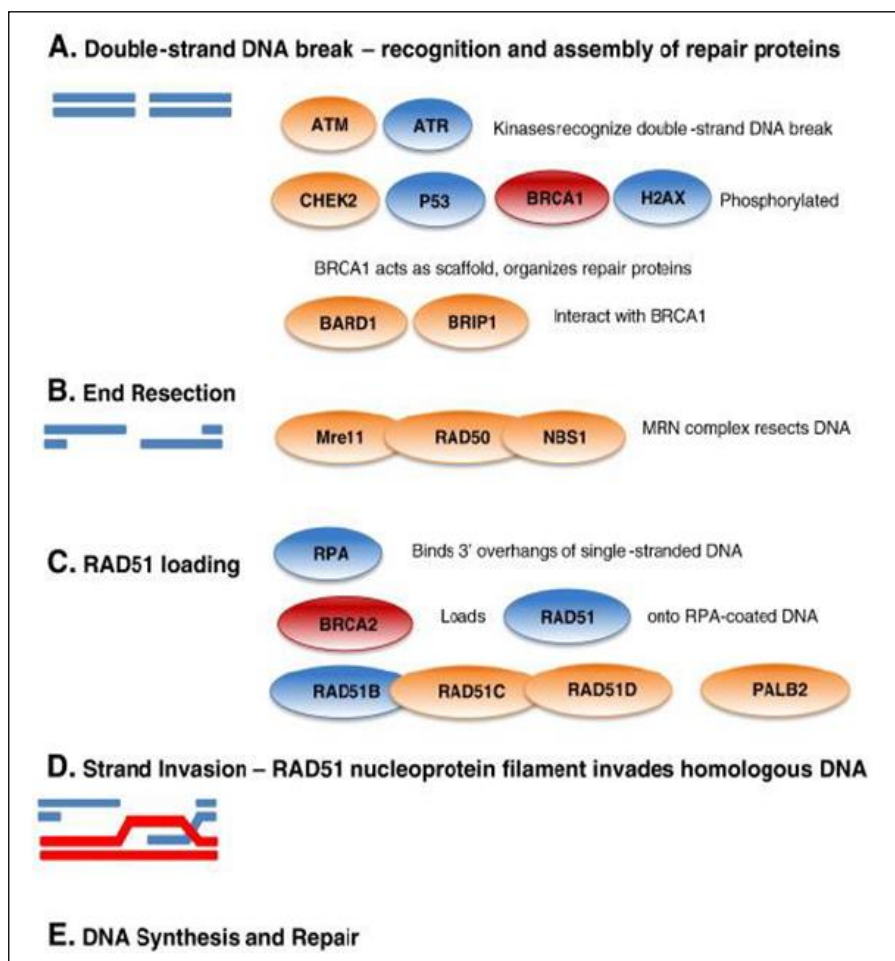


Figura I.5. Proteínas implicadas en la vía de la recombinación homóloga. A. Reconocimiento de DSB por las proteínas ATR y ATM. BRCA1 coordina las proteínas implicadas en el proceso asistido por BARD1 y BRIP1. B. Resección del ADN por el complejo MRN. C. Unión a la proteína RPA al fragmento 3' de cadena sencilla. Reclutamiento de RAD51 por BRCA2, asistido por PALB2. D. Invasión de la cromátida homóloga del ADN por el nucleofilamento. E. Síntesis y reparación del ADN. Tomado de Walsh C.S. et al. (49).

6. GENES RELACIONADOS CON EL CÁNCER DE OVARIO HEREDITARIO

Las variantes patogénicas en los dos principales genes de susceptibilidad *BRCA1* y *BRCA2* explican entre un 65-85% de los casos de cáncer de ovario hereditario. Estos genes siguen un modelo de herencia autosómica dominante de alta penetrancia e intervienen en el proceso de la RH. Aunque no se descarta la posibilidad de identificar un nuevo alelo de alta penetrancia, en la actualidad se sugiere la participación de múltiples genes de susceptibilidad asociados a riesgos menores. La mayoría de estos genes son

I. INTRODUCCIÓN

esenciales para la estabilidad genómica celular y están relacionados con la reparación de daño en el ADN mediante RH. Estos genes también están asociados al incremento de riesgo frente a otros tipos de cáncer como páncreas o colorrectal (32,50,51).

6.1. Genes relacionados con el Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (SCMOH)

Hasta un 50% de los carcinomas de ovario epiteliales de alto grado no mucinosos muestran alteraciones germinales o somáticas en genes implicados en la vía de la RH. Por este motivo, desde el año 2018 la SEOM incluyó en los criterios de inclusión para el estudio genético de cáncer hereditario el diagnóstico de este tipo de CO, criterio independiente de la historia familiar (52).

Las variantes patogénicas germinales en *BRCA1* y *BRCA2* son las alteraciones más frecuentes, estando presentes en un 15% de los diagnósticos de cáncer de ovario. Los genes implicados en la RH que se han relacionado con el cáncer de ovario se detallarán a continuación (32).

6.1.1. Estructura y función de BRCA1

El gen *BRCA1* (OMIM: 113705) se encuentra en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21.31). Este gen está formado por 22 exones codificantes que se traducen en una proteína formada por 1863 aminoácidos (NP_009225). La proteína BRCA1 tiene cuatro dominios: un dominio de dedos de zinc o *RING finger* (mediante el cual se dimeriza con BARD1 para formar la E3 ubiquitin ligasa) muy conservado filogenéticamente, el dominio *coiled-coil* (mediante el cual se une a PALB2) y dos copias repetidas en tándem del dominio BRCT, dominio muy conservado presente en diversas proteínas implicadas en la reparación del ADN, al facilitar la unión de fosfoproteínas como la ADN helicasa BACH1 (esencial para el correcto funcionamiento del punto de control G2/M) y el complejo CtIP (co-represor de la transcripción). La región central comprendida entre los exones 11 y 13 corresponde al 65% de los aminoácidos que constituyen la proteína. En esta región se encuentran dos señales de

I. INTRODUCCIÓN

localización nuclear (NLS) y el dominio SQCD donde se encuentran los residuos de serina/glutamina, sustrato de la fosforilación mediada por ATM. (**Figura I.6**) (53,54).

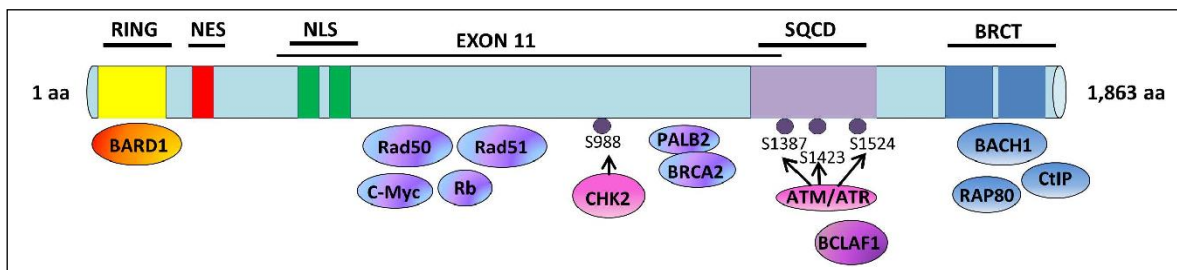


Figura I.6. Esquema de los dominios funcionales de BRCA1 y de las proteínas que interactúan con él. Tomado de Mylavarapu S. et al. (55).

BRCA1 es un gen supresor de tumores involucrado en funciones celulares básicas necesarias para la replicación celular y síntesis de ADN. Las personas portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* presentan un riesgo acumulado de padecer CO a los 80 años del 45%, sobre todo de cáncer de ovario epitelial seroso de alto grado (56).

La proteína BRCA1 actúa como un eje central que coordina varias vías celulares para mantener la estabilidad genómica. Esta función es llevada a cabo mediante su involucración directa en la vía de la RH. Además, participa en la remodelación de la cromatina, en el ciclo de ubiquitinación de proteínas y regula el ciclo celular y la transcripción del ADN (57).

6.1.2. Estructura y función de BRCA2

El gen *BRCA2* (OMIM: 600185) se encuentra en el brazo largo del cromosoma 13 (13q13.1). A partir de 26 exones codificantes se origina una proteína de 3418 aminoácidos (NP_000050). La proteína BRCA2 contiene los dominios funcionales que están representados en la (**Figura I.7**). El extremo N-terminal contiene un dominio RING que interacciona con PALB2. A continuación hay ocho unidades consecutivas de repeticiones BRC mediante las cuales se produce la unión a RAD51. El dominio de unión a ADN está formado por un dominio helicoidal que constituye la región DBD (*DNA binding domain*) con capacidad de unión al ADN monocatenario o bicatenario. Por

I. INTRODUCCIÓN

último, en el extremo C-terminal se encuentran dos señales de localización nuclear además de ser un punto de unión a RAD51.

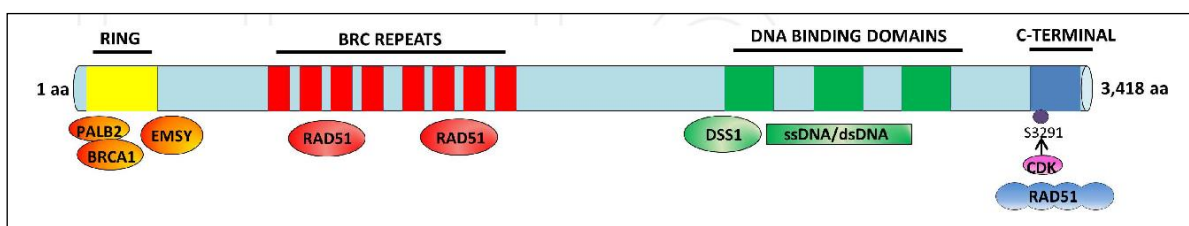


Figura I.7. Esquema de los dominios funcionales de BRCA2 y de las proteínas que interactúan con él. Tomado de Mylavarapu S. et al. (55).

El gen *BRCA2* también actúa como supresor de tumores, aunque tiene un papel más específico en la reparación del ADN que *BRCA1*, debido a que regula la actividad del gen *RAD51C* e interactúa con PALB2. Las mujeres portadoras de variantes patogénicas en este gen tienen un riesgo acumulado de padecer CO a los 80 años del 12%. El CO más común es, al igual que en portadoras de mutaciones en *BRCA1*, el cáncer de ovario epitelial seroso de alto grado (56).

La proteína BRCA2 juega un papel fundamental en el proceso de la RH ya que se encarga de transportar RAD51 a los focos de lesión del ADN dentro del núcleo celular. Esta función es especialmente importante debido a que la proteína RAD51 carece de señales propias de localización nuclear.

6.1.3. Variantes genéticas en *BRCA1* y *BRCA2*

En *BRCA1* se han encontrado variantes patogénicas a lo largo de toda la secuencia codificante del gen. La mayoría son variantes que producen alteraciones en el marco de lectura y producen proteínas truncadas, principalmente mutaciones puntuales (cambios de un solo nucleótido, o pequeñas inserciones o deleciones). En cuanto a los grandes reordenamientos, la proporción varía según la población, siendo más frecuentes en *BRCA1* que en *BRCA2* (58,59). En España, un 8,2% de las variantes patogénicas en *BRCA1* son grandes reordenamientos (60).

Por otro lado, las variantes patogénicas que se encuentran con más frecuencia en *BRCA2* son pequeñas inserciones o deleciones, mientras que el

I. INTRODUCCIÓN

resto corresponden a mutaciones con cambio de un solo aminoácido por otro, o *missense*, y a alteraciones del proceso de empalme del ácido ribonucleico (ARN) o *splicing*, siendo los grandes reordenamientos mucho menos comunes que en *BRCA1* (58,59).

Aproximadamente un 30% de las variantes se deben a mutaciones *missense*, este tipo de variantes requieren estudios de funcionalidad de la proteína para averiguar su relevancia clínica. Las variantes de significado desconocido o VUS (*variants of uncertain significance*), en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, pueden suponer hasta un 20% de las variantes halladas cuando se estudia cáncer hereditario (61).

Existe una correlación entre la localización de la alteración genética y el riesgo a desarrollar cáncer de mama o cáncer de ovario. En ambos genes se han descrito regiones que confieren un mayor riesgo de cáncer de mama u ovario con respecto a mutaciones en otras localizaciones del gen. Estas regiones se denominan BCCR (*Breast Cancer Cluster Region*) y OCCR (*Ovarian Cancer Cluster Region*). Las variantes patogénicas localizadas en la zona central del exón 11 de los genes *BRCA1* y *BRCA2* se asocian a un incremento relativo de riesgo de cáncer de ovario frente al cáncer de mama; en *BRCA2* esta zona coincide con la repetición de los dominios BRC. También en *BRCA2* se ha descrito una segunda OCCR cerca de los dominios de interacción con el ADN (**Figura I.8**) (62).

I. INTRODUCCIÓN

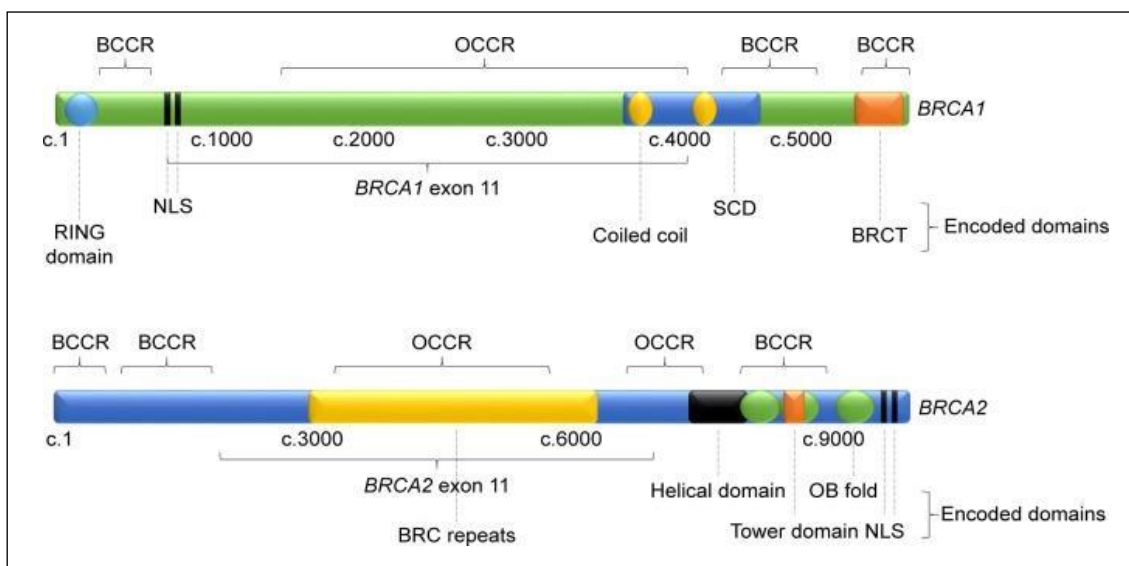


Figura I.8. Estructura de *BRCA1* y *BRCA2* con las localizaciones de las regiones BCCR (*Breast Cancer Cluster Region*) y OCCR (*Ovarian Cancer Cluster Region*). Tomado de Hollis RL, et al. (63).

Las portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2* tienen un riesgo acumulado de cáncer de mama a los 70 años del 57% para *BRCA1* y del 49% para *BRCA2*. Por otro lado, el riesgo acumulado para cáncer de ovario es de 40% para *BRCA1*, con una edad media de diagnóstico de 50 años y del 18% para *BRCA2*, con una edad media del diagnóstico de 60 años (64,65).

En mujeres diagnosticadas de cáncer de mama el riesgo de desarrollar cáncer de ovario a los 10 años es del 12,7% para portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* y del 6,8% en *BRCA2* (66). Las variaciones en la penetrancia de estas variantes se deben a los modificadores de riesgo endógenos o ambientales (factores reproductivos, estilo de vida) y genéticos (presencia de polimorfismos de bajo riesgo y genes modificadores de riesgo) (67).

6.1.4. Gen relacionado con ataxia-telangiectasia: *ATM*

Variantes patogénicas germinales bialélicas en el gen *ATM* producen ataxia telangiectasia, una enfermedad de herencia autosómica recesiva, la cual se caracteriza por ataxia cerebelar progresiva, telangiectasia, enfermedades inmunes e hipersensibilidad a la radiación ionizante. Esta patología también

I. INTRODUCCIÓN

está asociada a predisposición a ciertos tipos de cáncer como linfomas y leucemia (68,69).

Por otro lado, las variantes patogénicas germinales en heterocigosis están relacionadas con un incremento de riesgo de SCMOH, además se ha descrito un aumento de riesgo de cáncer en otras localizaciones como estómago, pancreático, colorrectal, melanoma, etc. Respecto al CO, estudios recientes vinculan a este gen con un riesgo potencial de desarrollar esta patología (43,70–72).

6.1.4.1. Estructura y función de *ATM*

El gen *ATM* es un gen de gran tamaño localizado en el brazo largo del cromosoma 11 (11q22.3). Está compuesto por 63 exones, de los cuales 62 codifican la proteína ATM compuesta por 3056 aminoácidos. Esta proteína tiene cuatro dominios, un dominio TAN esencial para el mantenimiento de la longitud de los telómeros y para la respuesta al daño del ADN, un dominio FAT que interacciona con el dominio ATM quinasa para estabilizar la región C-terminal de la proteína ATM, el dominio PI3-PI4 kinasa y el dominio FATC que puede tener función estructural o de unión a proteínas (**Figura I.9**).

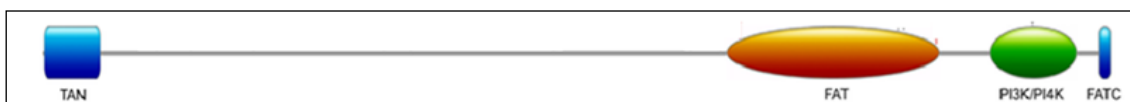


Figura I.9. Representación esquemática de los dominios de la proteína ATM. Tomado de Athanasakis E, et al. (73).

El gen *ATM* codifica una fosfatidilinositol 3-quinasa, la función principal de esta proteína es la regulación del ciclo celular y la señalización de daño en ADN de doble cadena. Debido a que la proteína ATM fosforila a CHEK2 en respuesta a la radiación ionizante o la rotura de ADN de doble cadena.

6.1.5. Genes relacionados con la anemia de Fanconi

La anemia de Fanconi es una enfermedad de herencia autosómica recesiva. Esta patología se manifiesta cuando se heredan variantes patogénicas bialélicas en los genes involucrados en la vía de la anemia de

I. INTRODUCCIÓN

Fanconi. Dicha patología se caracteriza por inestabilidad cromosómica, aplasia medular, malformaciones congénitas, elevada susceptibilidad para el desarrollo de neoplasias sólidas y hematológicas, además de hipersensibilidad a agentes intercalantes del ADN como el cisplatino o el carboplatino y otros agentes alquilantes. Dando como resultado un incremento de translocaciones cromosómicas (74).

Por otro lado, variantes patogénicas monoalélicas en estos genes se vinculan a un aumento de riesgo de padecer CM y/o CO dentro del contexto del SCMOH (75). Se han descrito 16 genes implicados en el desarrollo de la anemia de Fanconi. Las proteínas codificadas por estos genes participan en la reparación de los entrecruzamientos intercatenarios y en el mantenimiento de la estabilidad genómica durante la replicación del ADN. Estos errores impiden la transcripción y la replicación del ADN por lo que deben eliminarse durante todas las etapas del ciclo celular. La reparación de estas lesiones especialmente perjudiciales se realiza mediante un mecanismo de reparación denominado vía de la anemia de Fanconi, el cual se coordina con la RH (76).

La vía de la anemia de Fanconi se activa cuando la horquilla de replicación del ADN se detiene al encontrar un enlace cruzado de ADN o ICL del inglés *interstrand crossed links* en la fase S del ciclo celular. El mecanismo principal de esta vía es la monoubiquitización de las proteínas FANCD2 y FANCI mediada por el complejo de proteínas *FA core complex* con actividad ubiquitina ligasa. Posteriormente FANCD2 recluta las nucleasas que rompen la cadena de ADN a ambos lados del ICL generando el daño de doble hebra que será reparado por la vía de la RH descrita anteriormente (77).

6.1.5.1. Estructura y función de *PALB2*

El gen *PALB2* (OMIM: 610355) se encuentra en el brazo corto del cromosoma 16 (16p12.2). A partir de 13 exones codifica una proteína de 1186 aminoácidos, la cual acompaña y localiza a BRCA2, de ahí su nombre (*partner and localizer of BRCA2*). La proteína PALB2 está formada por dos dominios de unión a ADN, dos regiones de interacción con RAD51, un dominio ChAm o de asociación a la cromatina, un conjunto de repeticiones WD40 de 40

I. INTRODUCCIÓN

aminoácidos y un dominio de autointeracción. La proteína BRCA2 interacciona con PALB2, con RAD51 y con la unión entre el ADN simple y el de doble cadena, produciéndose la etapa final del proceso de la RH.

Variantes patogénicas germinales monoalélicas en este gen impiden que se lleve a cabo esta reparación de manera correcta, provocando un aumento del riesgo de cáncer. Inicialmente el análisis de este gen fue respaldado por un estudio que concluyó que las variantes patogénicas en este gen implican un riesgo de desarrollar cáncer de mama similar al de *BRCA2*, aunque la frecuencia de mutaciones en este gen es relativamente baja (0,1%-2,7%) (78).

Por otro lado, en un estudio realizado en población española se identificaron variantes patogénicas en *PALB2* en aproximadamente el 1% de los casos de cáncer de mama familiar, así como en el 3-4% de los casos de cáncer de páncreas familiares (50). Además, hay diversos estudios que lo relacionan con una mayor susceptibilidad hereditaria a cáncer de mama en el varón (79). En cuanto a su relación con el CO, estudios en poblaciones de mujeres diagnosticadas de CO estiman que alrededor del 2% de los casos serían portadoras de variantes patogénicas en *PALB2* (80,81). También existen evidencias que correlacionan la presencia de variantes patogénicas en *PALB2* con un incremento de riesgo de entre 4 y 5 veces de CO respecto a población control (43,82).

6.1.5.2. Estructura y función de *BRIP1*

El gen *BRIP1* o también denominado *FANCF* (OMIM: 605882) está localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q23.2). Este gen está formado por 19 exones codificantes que originan una proteína de 1.249 aminoácidos (NP_114432). Esta proteína está compuesta por ocho dominios helicasa, un dominio de unión a BLM y otro de unión a MRE11 (**Figura I.15A**). Actúa como una ADN helicasa que interacciona con el dominio BRCT de *BRCA1* durante la reparación del ADN en la RH. Además, *BRIP1* colabora con otras proteínas implicadas en la detección de daño en ADN y su reparación (83). Otra función de esta proteína es resolver las estructuras de cuádruplex de

I. INTRODUCCIÓN

guanina (G4), las cuales afectan a la replicación y la transcripción. De esta manera se alivia el estrés durante la replicación, además de preservar ciertas estructuras cromosómicas como los telómeros, mantener la estabilidad genómica y la homeostasis celular (84).

Las variantes patogénicas halladas en este gen se asocian a un riesgo incrementado de CO. Se estima que un 1,4% de las mujeres diagnosticadas de CO podrían ser portadoras de una mutación en este gen, lo que supondría ser después de los genes *BRCA1* y *BRCA2*, el tercer gen con mayor frecuencia de variantes patogénicas relacionadas con el CO (43,85).

6.1.5.3. Estructura y función de *RAD51C* y *RAD51D*

El gen *RAD51C* (OMIM: 602774) y el gen *RAD51D* (OMIM: 602954) se localizan en el brazo largo del cromosoma 17. El gen *RAD51C* (17q22) forma a partir de 9 exones codificantes una proteína de 376 aminoácidos (NP_478123). El gen *RAD51D* (17q12) da lugar a partir de 10 exones otra proteína de 328 aminoácidos.

Ambos pertenecen a la familia de genes RAD51-like que codifican enzimas con actividad recombinasa y juegan un papel fundamental en la RH. Las proteínas codificadas por estos genes, junto con el resto de las proteínas de la familia RAD51 participan en la formación del nucleofilamento, un complejo que cataliza el emparejamiento entre el ADN de una hebra y el de dos hebras para que se produzca la síntesis y reparación del ADN dañado. Para iniciar esta vía es necesario que BRCA2 reclute a RAD51 y lo sitúe en el ADN dañado.

Ambos genes se asocian con un riesgo incrementado de CO. El riesgo acumulado de desarrollar CO en portadores de variantes patogénicas en *RAD51C* es del 1,3% a los 50 años. En portadoras de variantes patogénicas en *RAD51D* suponen un riesgo acumulado relativo de padecer CO a los 50 años del 3% (86,87).

En población española hay estudios en los que se detecta un 1,3% de mutaciones en *RAD51C* en familias con SCMOH. Además, alrededor de un 1%

de las familias con SCMOH españolas sin mutaciones en *BRCA1/BRCA2* son portadoras de mutaciones en *RAD51D* (88–90).

6.2. Otros síndromes relacionados con el cáncer de ovario hereditario

El CO es un componente patológico presente en otros síndromes de cáncer hereditario como el síndrome de Lynch, el síndrome de Li-Fraumeni o el síndrome de Peutz-Jeghers.

6.2.1. Síndrome de Lynch

El síndrome de Lynch o síndrome de cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis es el síndrome de predisposición al cáncer de ovario más frecuente después de SCMOH. Esta patología es responsable de un 10-15% de los casos de CO hereditarios y de hasta un 1% de los casos de CO en general. Este síndrome presenta una herencia autosómica dominante y se manifiesta por variantes patogénicas en los genes involucrados en el mecanismo MMR. Las variantes patogénicas en los genes *MSH2*, *MLH1*, *MSH6* y *PMS2*, además de estar asociadas a un mayor riesgo de desarrollar CO, también están asociadas a un mayor riesgo de desarrollar otros tipos de cáncer como el colorrectal, endometrio, estómago, intestino delgado, tracto hepatobiliar, tracto urinario superior, cerebro y piel (43,91,92).

En el año 2022 el gen *EPCAM* se ha incluido en la guía NCCN de manejo de cáncer familiar de CO. Mutaciones en este gen dan lugar al silenciamiento del gen *MSH2* y son causantes de aproximadamente el 1% de los casos de síndrome de Lynch. Además se han encontrado evidencias de una correlación directa entre variantes patogénicas en este gen y un incremento de riesgo de desarrollar CO (93,94).

6.2.2. Síndrome de Li-Fraumeni

El síndrome de Li-Fraumeni es un síndrome de predisposición al cáncer con herencia autosómica dominante y alta penetrancia que se caracteriza por la presencia de diferentes tipos de cáncer en la historia familiar. Los más comunes son sarcomas óseos y de partes blandas, cáncer de mama, tumores cerebrales y carcinomas de corteza suprarrenal. Otros tumores relacionados

I. INTRODUCCIÓN

con este síndrome, pero menos frecuentes son las leucemias, cáncer de pulmón, carcinoma colorrectal, tumores cutáneos, carcinomas gástricos y de ovario (95). Los pacientes diagnosticados de síndrome de Li-Fraumeni también tienen mayor sensibilidad al daño producido por radiaciones ionizantes (96).

El gen *TP53* (OMIM: 191170) se localiza en el brazo corto del cromosoma 17 (17p13.1) y es un gen supresor de tumores de alta penetrancia. Variantes patogénicas germinales en este gen justifican casi un 70% de los diagnósticos de este síndrome. Además, tiene varios transcritos, de los cuales el más largo está formado por 10 exones codificantes y da lugar a la proteína p53, también conocida como el *guardián del genoma*, compuesta por 393 aminoácidos cuya función principal es actuar como un factor de transcripción nuclear. Esta proteína está formada por tres dominios principales: un dominio de transactivación en el extremo N-terminal esencial para regular factores de transcripción, un dominio de unión al ADN y un dominio de oligomerización responsable de la tetramerización necesaria para su funcionamiento *in vivo*. Aunque no hay evidencias suficientes como para asociar variantes patogénicas germinales de este gen al CO, esta patología puede presentarse como forma del fenotipo del síndrome de Li-Fraumeni. Además, hay publicaciones que afirman que este gen está mutado a nivel somático en un 96% de los tumores considerados cáncer de ovario serosos de alto grado (COSAG) con una prevalencia muy superior a otros genes estudiados en línea somática como *BRCA1*, *BRCA2*, *CDK12*, *NF1* y *RB1* (32,97).

6.2.3. Síndrome de Peutz-Jeghers

El síndrome de Peutz-Jeghers es una enfermedad autosómica dominante caracterizada por la producción y presencia de pigmentaciones epidérmicas, además de hamartomas gastrointestinales. Los pacientes diagnosticados de este síndrome tienen una mayor probabilidad de desarrollar algunas neoplasias como el cáncer de páncreas, colorrectal, de pulmón, de mama, de ovario, de cérvix y de testículo (98,99).

El gen *STK11* (OMIM: 175200) se localiza en el brazo corto del cromosoma 19 (19p13.3) y es un gen supresor de tumores. Se han

I. INTRODUCCIÓN

evidenciado al menos 51 variantes génicas patogénicas en este gen relacionadas con el síndrome de Peutz-Jeghers, aunque alteraciones somáticas de este gen también se han relacionado con adenocarcinoma pulmonar esporádico (100,101).

STK11 tiene dos transcritos principales, el más largo está formado por 9 exones y codifica la proteína supresora de tumores STK11 o LKB1, una serina/treonina quinasa de 433 aminoácidos que regula la polaridad y el metabolismo celular. También participa en la regulación de la vía apoptótica dependiente de p53. Al igual que ocurre con el gen *TP53*, tampoco hay evidencias suficientes como para asociar variantes patogénicas germinales del gen *STK11* al CO. Sin embargo, esta patología puede presentarse como parte del fenotipo del síndrome de Peutz-Jeghers (102).

7. CARACTERIZACIÓN DE LAS VARIANTES

Después de realizar el análisis genético a nivel germinal o somático, se deben clasificar las variantes genéticas halladas. Esta clasificación se hace en primer lugar desde un punto de vista molecular, según si esta variante afecta a la estructura del gen o a la proteína traducida. Posteriormente se realiza una clasificación desde el punto de vista clínico, según la implicación que dicha variante tenga en el desarrollo de una determinada enfermedad.

7.1. Clasificación de las variantes

La nomenclatura de las distintas variantes localizadas sigue la normativa propuesta por la *Human Genome Variation Society* (HGVS) (103).

A. Clasificación molecular de variantes (**Figura I.10**):

- Inserciones y deleciones: se introducen o se pierden uno o varios nucleótidos de la secuencia. Si el número de nucleótidos agregados o perdidos no es múltiplo de tres, se alteraría el marco de lectura (variante *frameshift*), produciéndose una proteína truncada.
- Cambios de un solo nucleótido (SNP, *single nucleotide polymorphism*): se cambia un nucleótido de la secuencia original por otro distinto. Esto

I. INTRODUCCIÓN

puede tener como consecuencia el cambio no altere la secuencia de aminoácidos (variante sinónima o silenciosa), que se produzca un cambio de aminoácido (variante con cambio de sentido o *missense*), que se introduzca un codón de parada prematuro UAG, UGA o UAA (variante sin sentido o *nonsense*) o que se altere el proceso de *splicing* del ARN.

- Inversiones: se trata de un cambio estructural en el que un segmento de cromosoma cambia de sentido dentro del mismo.
- Duplicaciones: se trata de un cambio estructural en el que se repite un fragmento de nucleótidos junto al original.

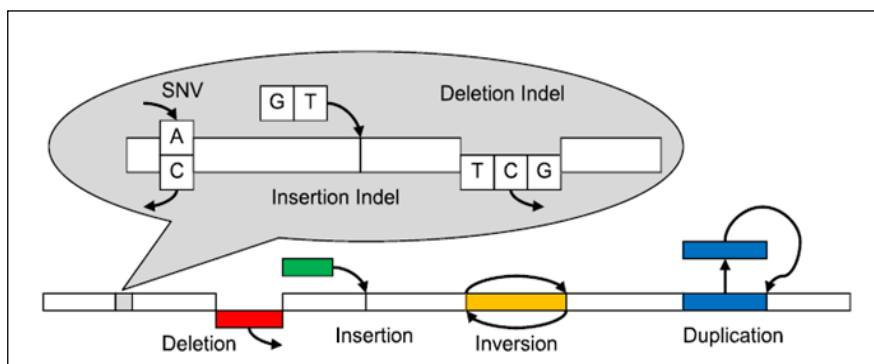


Figura I.10. Resumen de los distintos cambios moleculares que pueden alterar el ADN. Tomado de Smith SD, et al. (104).

B. Clasificación de variantes desde el punto de vista clínico

Para facilitar la interpretación de las variantes halladas en un estudio genético y mejorar el asesoramiento genético, es necesario tener en cuenta las guías publicadas por autores relevantes en este campo para la interpretación de variantes. Las variantes encontradas se clasifican según la susceptibilidad que confieran a la portadora en desarrollar CO siguiendo las guías publicadas por las sociedades científicas. Las cinco categorías para clasificar variantes son (105,106):

- Variantes no patogénicas o variantes benignas (VB): variantes que no modifican el riesgo de aparición de CO.
- Variantes probablemente benignas (VPB).

I. INTRODUCCIÓN

- Variantes de significado clínico desconocido (VUS, *variant of uncertain significance*): cambios cuya influencia en la susceptibilidad de desarrollar CO no está descrita. Esta categoría incluye las VUS priorizadas, son aquellas que según estudios *in silico* y bibliográficos, entre otros, tienen una mayor probabilidad de tener un efecto deletéreo en la proteína (107,108)
- Variantes probablemente patogénicas (VPP).
- Variantes patogénicas (VP): variantes causantes de la enfermedad de estudio. Suelen ser cambios sin sentido o que alteran el marco de lectura, grandes deleciones o que producen una inactivación completa por alteración en el *splicing*.

7.2. Herramientas para la clasificación de las variantes

Los avances tecnológicos relacionados con el cáncer hereditario han permitido que se analicen varios genes a la vez. Esto mejora el rendimiento diagnóstico del análisis genético, pero también ha supuesto un incremento en los hallazgos de variantes no descritas o clasificadas previamente. Por lo tanto, la responsabilidad de informar sobre el significado clínico de dichos hallazgos recae sobre los facultativos formados para ello. Para clasificar las variantes obtenidas se deben consultar bases de datos como LOVD (*Leiden Open Variation Database*), ClinVar del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), o HGMD (*Human Gene Mutation Database*). Para VUS es posible predecir el posible potencial patogénico de estas variantes con herramientas web como *MutationTaster*, SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*), *PolyPhen* (*Polymorphism Phenotyping*), o REVEL, entre otras.

Además, es recomendable hacer uso de las guías publicadas por sociedades científicas como el Colegio Americano de Genética Médica y Genómica (ACMG), la Asociación de Patología Molecular (AMP) y la Asociación de Ciencias de Genética Clínica (ACGS). Estas guías establecen criterios de evidencia de patogenicidad, así como otros criterios que apoyan la benignidad de dichas variantes. La combinación de estos criterios permite categorizar las variantes halladas según la clasificación anterior (109,110).

I. INTRODUCCIÓN

Manejar correctamente los recursos disponibles para realizar la valoración clínica de las variantes es imprescindible para conocer si dichas variantes han sido descritas y clasificadas clínicamente previamente o si, por el contrario, son variantes no descritas con un significado clínico desconocido.

7.2.1. Bases de datos

1. El NCBI forma parte de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos y se fundó con la misión de almacenar y actualizar de manera constante la información obtenida en el ámbito de la biología molecular. Para ello, recopila distintos tipos de información en diversas bases de datos. Las más relevantes para clasificar variantes genéticas son:
 - a. *ClinVar*: archivo público con acceso a información sobre las relaciones entre variantes y fenotipos en humanos con evidencia bibliográfica. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ClinVar/>
 - b. *dbSNP (The Single Nucleotide Polymorphism Database)*: base de datos de polimorfismos que ofrece información sobre la frecuencia de las variantes registradas en distintas poblaciones. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>
 - c. *Gene*: herramienta para caracterizar y organizar la información de los genes. Sirve como nexo de información del mapa genómico, expresión, secuencia, función de la proteína, estructura y datos de homología. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>
 - d. *Protein*: reúne las secuencias traducidas de las proteínas y los aspectos fundamentales, como su estructura biológica y función. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/>
 - e. *OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man)*: sumario completo de genotipos y fenotipos humanos que se actualiza diariamente. Cataloga todas las enfermedades humanas conocidas con un componente genético y ofrece un resumen clínico junto a un

I. INTRODUCCIÓN

mapa genético, además de los diferentes fenotipos para un mismo síndrome o enfermedad.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>

- f. *PubMed*: Es posiblemente la base de datos de bibliografía médica más amplia que existe. Consiste en un motor de búsqueda de libre acceso que permite consultar los contenidos de la base de datos *MEDLINE*, *PubMed Central* y *Bookshelf*. Esta base de datos recoge referencias bibliográficas de artículos publicados en unas 5.500 revistas médicas desde 1966.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

- g. *LitVar*: buscador de información clínica relevante a través de la literatura publicada de una variante genética. Las referencias bibliográficas son extraídas del catálogo de artículos de la base de datos *PubMed*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/research/litvar2/>

2. *ClinGen (Clinical Genome Resource)*: recurso fundado por el *National Institutes of Health* (NIH) como base de datos central para la búsqueda de variantes genéticas con relevancia clínica con utilidad en medicina e investigación. <https://clinicalgenome.org/>

3. *Ensembl*: proyecto bioinformático para organizar la información biológica en torno a las secuencias de grandes genomas. Este proyecto comenzó en 1999 después de la culminación del Proyecto Genoma Humano con el fin de proporcionar y centralizar recursos para investigadores del genoma humano. Desde el año 2000 se ha utilizado para la anotación y visualización de genomas de vertebrados, así como para integrar dichas anotaciones con otros datos biológicos disponibles y publicar toda esta información de manera gratuita. Sirve como navegador genómico para genomas de vertebrados que permite investigar sobre la evolución del genoma, compararlo con otros y estudiar variaciones de secuencias. Ofrece registros de genes, incluye múltiples alineamientos, predice la función reguladora y reúne variantes encontradas relacionadas con una determinada enfermedad. <https://www.ensembl.org/index.html>

4. *HGMD (Human Gene Mutation Database)*: el fundamento de esta base de datos es recopilar todos los datos publicados sobre mutaciones germinales en genes asociados con enfermedades hereditarias humanas. <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>
5. *LOVD (Leiden Open Variation Database)*: base de datos diseñada para recopilar y visualizar variantes en la secuencia de ADN. Su objetivo principal es encontrar si existe una relación entre dichas variantes y determinadas enfermedades hereditarias y su pronóstico. <http://www.lovd.nl/3.0/home>

7.2.2. Programas *in silico*

Las herramientas *in silico* pueden ayudar a la correcta interpretación de las variantes, se pueden utilizar algoritmos diferentes para estudiar los efectos de una variante a nivel genómico y a nivel de aminoácido. Se pueden distinguir dos tipos de programas: programas para predecir cambios en la estructura y/o función de la proteína resultante y programas para predecir alteraciones de *splicing*. En el caso de las alteraciones *missense* su impacto depende de los siguientes criterios:

1. Localización dentro de la proteína:
 - a. Si la variante se encuentra en un dominio funcional importante para la función de la proteína y todas las variantes *missense* descritas en esta zona son patogénicas, existe una alta probabilidad de que ésta también lo sea.
 - b. Existen zonas conocidas como *hot spots* con una mayor frecuencia de variantes patogénicas. Si una variante se encuentra en esta zona la probabilidad de que sea patogénica es elevada.
 - c. Si se descubre una variante que se halla en el mismo codón que otra variante patogénica, este criterio apoya la patogenicidad de la variante encontrada.
2. Grado de conservación: las zonas del genoma altamente conservadas a lo largo de la evolución implican una gran importancia estructural o

I. INTRODUCCIÓN

funcional, por lo que las alteraciones halladas en estas zonas tienen una alta posibilidad de ser deletéreas.

3. Alteraciones bioquímicas por cambio de aminoácidos: si se produce un cambio de aminoácido por otro de características similares, la probabilidad de que este cambio afecte a la proteína es mejor que si el aminoácido nuevo tiene unas características fisicoquímicas diferentes al original.

Por otro lado, los programas para predecir alteraciones de *splicing* tienen una sensibilidad de 90-100% con una especificidad del 60-80%, además predicen sitios de empalme probables. El principal inconveniente es la dificultad de su interpretación y la falta de estudios a gran escala con estas herramientas.

Además de los programas *in silico*, existen herramientas de apoyo a las decisiones clínicas como *VarSome* que utilizan diferentes algoritmos y pueden estimar la importancia de la alteración tanto a nivel de nucleótido como a nivel de aminoácido. *VarSome* engloba varios programas *in silico* además de un clasificador automático que evalúa la patogenicidad de las variantes según las guías de la ACMG. También dispone de *REVEL (Rare Exome Variant Ensemble Learner)*, un método de conjunto que utiliza en su algoritmo estas mismas herramientas individuales para predecir la patogenicidad de variantes raras *missense* (111). Las herramientas *in silico* más relevantes de *VarSome* a la hora de evaluar las variantes genéticas son:

- a) Programas para la predicción del impacto de la variante en la proteína:
 - i) *MutationTaster*. Esta aplicación lleva a cabo pruebas *in silico* para estimar el impacto de la variante tanto a nivel de ADN como de proteína. Entre ellos se incluyen análisis de conservación, alteraciones de *splicing*, pérdida de las características de la proteína y cambios que afecten a la cantidad de ARNm. Los resultados se evalúan por un algoritmo Naïve Bayes que predice el potencial deletéreo. Dependiendo de la naturaleza de la alteración, elige entre tres modelos de predicción: para variantes sinónimas, para variantes tipo *missense* y para cambios complejos de

I. INTRODUCCIÓN

aminoácidos (112). La versión más reciente, *MutationTaster2*, incluye todos los SNPs e *indels* del proyecto 1000 Genomas y las variantes conocidas como causantes de enfermedad en *ClinVar* y *HGMD Public*. Para reducir el número de falsos positivos en el estudio de posibles variantes que afectan al *splicing*, *MutationTaster2* sólo tiene en cuenta las que se encuentren en los bordes entre intrón y exón. Su principal limitación es el estudio de variantes intragénicas. Su diseño permite la identificación de variantes con un impacto importante en enfermedades monogénicas, mientras que, no pretende predecir consecuencias de variantes comunes con efectos leves (113).

- ii) *Sorting Intolerant From Tolerant* (SIFT). Se trata de un algoritmo que predice el impacto potencial de la sustitución de aminoácidos en la función de la proteína. Clasifica este efecto como tolerada o deletérea. Para ello tiene en cuenta la conservación evolutiva de la proteína al compararla con secuencias homólogas, así como la severidad del cambio de aminoácido. Este algoritmo asume que hay determinadas posiciones de una secuencia proteica que tienen importancia en su función y, por tanto, han sido conservadas a lo largo de la evolución. En consecuencia, una sustitución en estas posiciones podría afectar la función de la proteína. De este modo, puede predecir los efectos de todas las sustituciones posibles en cada posición de la secuencia (114).

b) Programas para la predicción del grado de conservación filogenética.

- i) *GERP (Genomic Evolutionary Rate Profiling)*. Es una puntuación de conservación calculada mediante cuantificación de déficits de sustitución a lo largo de múltiples alineamientos de ortólogos (secuencias similares debido a un mismo origen evolutivo). Utiliza el genoma de 35 mamíferos (115).
- ii) *Phylogenetic P-values* y *phastCons: PhyloPway* y *phastConsway*. Son programas que proporcionan puntuación de conservación basada en múltiples alineamientos dados por un árbol filogenético que predice la tasa de evolución comparada con lo que se espera de la deriva natural. Utiliza distribuciones del número de sustituciones basadas en el modelo

I. INTRODUCCIÓN

oculto de Markov. *PhyloP20way* se basa en el alineamiento múltiple de secuencias de 19 genomas de mamíferos con el genoma humano, mientras que *PhyloP100way* utiliza 99 secuencias de genomas de vertebrados. A mayor puntuación, más conservado está el residuo (116,117).

iii) *SiPhy* (análisis filogenético específico de situación). Es una herramienta de conservación que emplea secuencias genéticas profundas de 29 mamíferos para detectar bases que han sido seleccionadas evolutivamente. Esto le permite estimar tanto los patrones de sustitución poco probables, así como las desaceleraciones y aceleraciones de las tasas de mutación. Modela la conservación no sólo como una disminución en la tasa de mutación, sino que también tiene en cuenta el patrón de las mutaciones (118).

c) Programas de predicción de cambios de *splicing*.

i) *dbscSNV* (*database splicing consensus single nucleotide variant*). Incluye todas las variantes (aproximadamente 15 millones) en las regiones de consenso de *splicing*. El modelo se desarrolló a partir de siete herramientas de predicción de *splicing* previamente existentes (119).

d) Algoritmos predictivos de patogenicidad.

i) *REVEL* (*Rare Exome Variant Ensemble Learner*). Es un método de conjunto para predecir la patogenicidad de variantes raras *missense* obtenidas por métodos NGS. La puntuación de *REVEL* oscila entre 0 y 1, siendo 1 la mayor probabilidad de ser patogénica. Para calcular el *REVEL score*, *REVEL* utiliza en su algoritmo las siguientes herramientas individuales: *MutPred*, *FATHMM*, *VEST*, *PolyPhen*, *SHIFT*, *PROVEAN*, *MutationAssessor*, *MutationTaster*, *LRT*, *GERP*, *SiPhy*, *phyloP* y *phastCons*. Comparado con otros algoritmos basados en redes neuronales profundas, *REVEL* ofrece mejores resultados para variantes

missense, mientras que es más limitado para estudiar variantes no codificantes (111).

7.3. Estudios de la frecuencia de la variante en población control

Conocer la frecuencia de una variante en la población control es fundamental para conocer su patogenicidad. Una frecuencia alélica en población control elevada apoya la benignidad de una variante. Sin embargo, si la variante estudiada no ha sido descrita y carece de información sobre su frecuencia alélica, este dato no es evaluable para establecer la patogenicidad de la variante.

Esta búsqueda se puede realizar en las bases de datos poblacionales como Proyecto 1000 Genomas, ExAc (Consortio de Agregación de Exomas) o *GnomAD* (*Genome Aggregation Database*). Esta última es una herramienta desarrollada por una coalición internacional de investigadores con el fin de reunir y sintetizar los datos de secuenciación del genoma y exoma de varios proyectos de secuenciación a gran escala. *GnomAD* es la herramienta utilizada por *VarSome* para realizar el cálculo de frecuencia alélica en distintas bases de datos. Es muy importante encontrar información sobre la frecuencia alélica de la variante encontrada dado que, una falta de información sobre frecuencias alélicas o la ausencia de la variante hallada en las bases de datos se considera un criterio de apoyo de patogenicidad según la guía de la ACMG (109).

8. IMPACTO CLÍNICO DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO

Los resultados del asesoramiento genético obtenidos en el caso índice pueden clasificarse según la relevancia clínica de los hallazgos:

- Test informativo: el estudio genético concluye que se ha detectado una variante patogénica o probablemente patogénica que explica la clínica del paciente. Este hallazgo implica un potencial riesgo familiar de la patología estudiada con implicaciones hereditarias. Este resultado permite establecer las medidas preventivas y terapéuticas necesarias en los CI, además del asesoramiento genético necesario según el contexto familiar.

I. INTRODUCCIÓN

- Test no informativo: el estudio genético no es concluyente porque no se ha detectado ninguna variante clínicamente relevante que justifique un síndrome de cáncer hereditario. Este informe puede deberse a una de las siguientes situaciones.
 - Ausencia de variantes patogénicas o probablemente patogénicas: en el análisis genético no se detecta ninguna variante clínicamente relevante que pueda explicar la clínica del paciente. Este resultado no puede afirmar, pero tampoco rechazar la posibilidad de que la enfermedad esté relacionada con causas genéticas.
 - Variante de significado clínico desconocido: se ha encontrado una alteración en alguno de los genes de susceptibilidad a la enfermedad, pero no se puede asegurar que esta sea la responsable de la situación clínica del paciente. Sin embargo, no se descarta que en un futuro se tenga mayor conocimiento de la variante. El manejo clínico dependerá de su historia personal y familiar de cáncer.

8.1. Fenotipo asociado a defectos en la RH

El CO asociado a defectos de la RH se caracteriza por manifestar un fenotipo concreto. Aunque la mayoría de los estudios se han realizado en mujeres portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2*, por ser los genes descritos con mayor anterioridad, la presencia de variantes patogénicas germinales en otros genes implicados en la RH se asocia a unas características fenotípicas similares (56,120).

La presencia de variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2* se asocian a un grado histológico alto, un estadio avanzado al diagnóstico (estadio FIGO III y IV) e histología serosa hasta en un 70% de los casos. Sin embargo, las características histológicas del CO asociado a defectos de la RH pueden presentarse en cualquier subtipo histológico excepto los carcinomas serosos de bajo grado (121–123).

La edad del diagnóstico del CO suele realizarse entre la quinta y sexta década de la vida. En mujeres portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* es en torno a 54 años y en mujeres portadoras de variantes patogénicas en *BRCA2* la media de edad al diagnóstico es de 62 años (124). En cuanto a recidiva, los tumores asociados a mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* son más propensos a desarrollar metástasis viscerales, efecto más pronunciado en mujeres portadoras de variantes patogénicas germinales en *BRCA1* (125).

8.2. Tratamiento asociado a alteraciones en la RH

8.2.1. Quimioterapia convencional

El CO con alteraciones en la vía de la RH muestra una mayor sensibilidad a determinados agentes quimioterápicos. La primera línea de tratamiento en el manejo del CO son los derivados del platino como el cisplatino o el carboplatino. El comportamiento de esta patología frente al tratamiento con estos derivados de platino supone una herramienta para conocer el pronóstico de la enfermedad y el manejo de las posibles recaídas, este dato clínico se conoce como intervalo libre de platino (ILP) (116). El ILP se conoce como el tiempo de progresión de la enfermedad desde la última dosis de derivados de platino recibida. Según el ILP se pueden distinguir dos grupos con manejos terapéuticos distintos (127–129):

- ILP mayor o igual a 6 meses: se denominan platino sensibles y el ILP junto al éxito de la cirugía citorreductora se correlaciona con la supervivencia general. También obtienen una mayor tasa de respuesta a sucesivas líneas de tratamiento (25-70%) con una mediana de supervivencia general de 12 y 24 meses.
- ILP menor de 6 meses: se denominan platino resistentes, en estos casos la tasa de respuesta a sucesivas líneas de tratamiento es menor (10-20%) con una mediana de supervivencia general de 9 meses.

Los compuestos derivados del platino inducen la formación de entrecruzamientos cromosómicos (ICL) de ADN, estas alteraciones genéticas resultan letales para células con deficiencias en la vía de la RH. Por este motivo los tumores asociados a variantes patogénicas en *BRCA1/BRCA2*

presentan mayor tasa de respuesta a derivados de platino e ILP más prolongados (130,131). La correlación entre el ILP y la alteración de la RH está descrita y estudiada, un ILP > 6 meses sirve como indicador de una posible deficiencia en la vía de la RH. Esta herramienta comenzó a ser útil en los ensayos clínicos de inhibidores de la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) y actualmente es posible su prescripción como monoterapia de mantenimiento de CO de alto grado con o sin VP/VPP en *BRCA1/BRCA2* en casos de respuesta completa o parcial a quimioterapia basada en derivados de platino (132,133).

8.2.2. Tratamiento con inhibidores de la Poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARPi)

Los fármacos inhibidores de la PARP o PARPi actúan mediante un mecanismo de letalidad sintética en tumores con alteraciones en la vía de la RH. El fenómeno de letalidad sintética se basa en que la pérdida de función de dos o más genes o vías moleculares intracelulares en las células tumorales desencadena la muerte celular programada (apoptosis), mientras que la deficiencia de una sola vía o gen permite la supervivencia de esta (134).

De las 17 enzimas PARP distintas descritas en mamíferos, juegan un papel en la reparación del ADN las denominadas PARP-1, PARP-2 y PARP-3. Se desconoce el mecanismo exacto por el cual su inactividad conduce a la apoptosis en células tumorales con deficiencias en la vía de la RH, pero se han descrito cuatro posibles mecanismos para explicar el fenómeno de la letalidad sintética en estos casos (**Figura I.11**) (135,136):

- Inhibición del mecanismo de reparación por escisión de bases. La inhibición de PARP-1, esencial en el mecanismo BER, conduce a la persistencia de las roturas simples de ADN y la formación de roturas de doble cadena que no se repara debido a la alteración de la RH desencadenando la apoptosis celular.
- Atrapamiento de PARP-1 en el ADN dañado. Cuando PARP-1 es inactivada, la enzima permanece unida al ADN impidiendo que se active el mecanismo de reparación. Este fenómeno es el

responsable de la sinergia que existe entre PARPi y agentes que dañan el ADN como temozolomida y topotecan. La citotoxicidad de los PARPi en células con alteraciones de la RH podría estar mediada por este mecanismo (127,128).

- Alteración del reclutamiento de BRCA1. El reclutamiento de BRCA1 al daño del ADN se realiza mediante la proteína BARD1. La formación de este complejo necesita ADP-ribosilación llevada a cabo por PARP-1. La alteración de este mecanismo es crítica para el inicio de la reparación del ADN, especialmente las vías alternativas de reclutamiento de BRCA1 están alteradas, fenómeno que ocurre en tumores con ciertas mutaciones en *BRCA1* (137).
- Activación del proceso de reparación NHEJ. Las enzimas PARP inhiben la acción de diferentes proteínas que intervienen en el proceso de reparación de roturas de doble cadena mediante NHEJ. La inhibición de PARP en células con alteración de la vía de la RH activaría este mecanismo de reparación que da lugar a inestabilidad genómica y en consecuencia muerte celular (138).

I. INTRODUCCIÓN

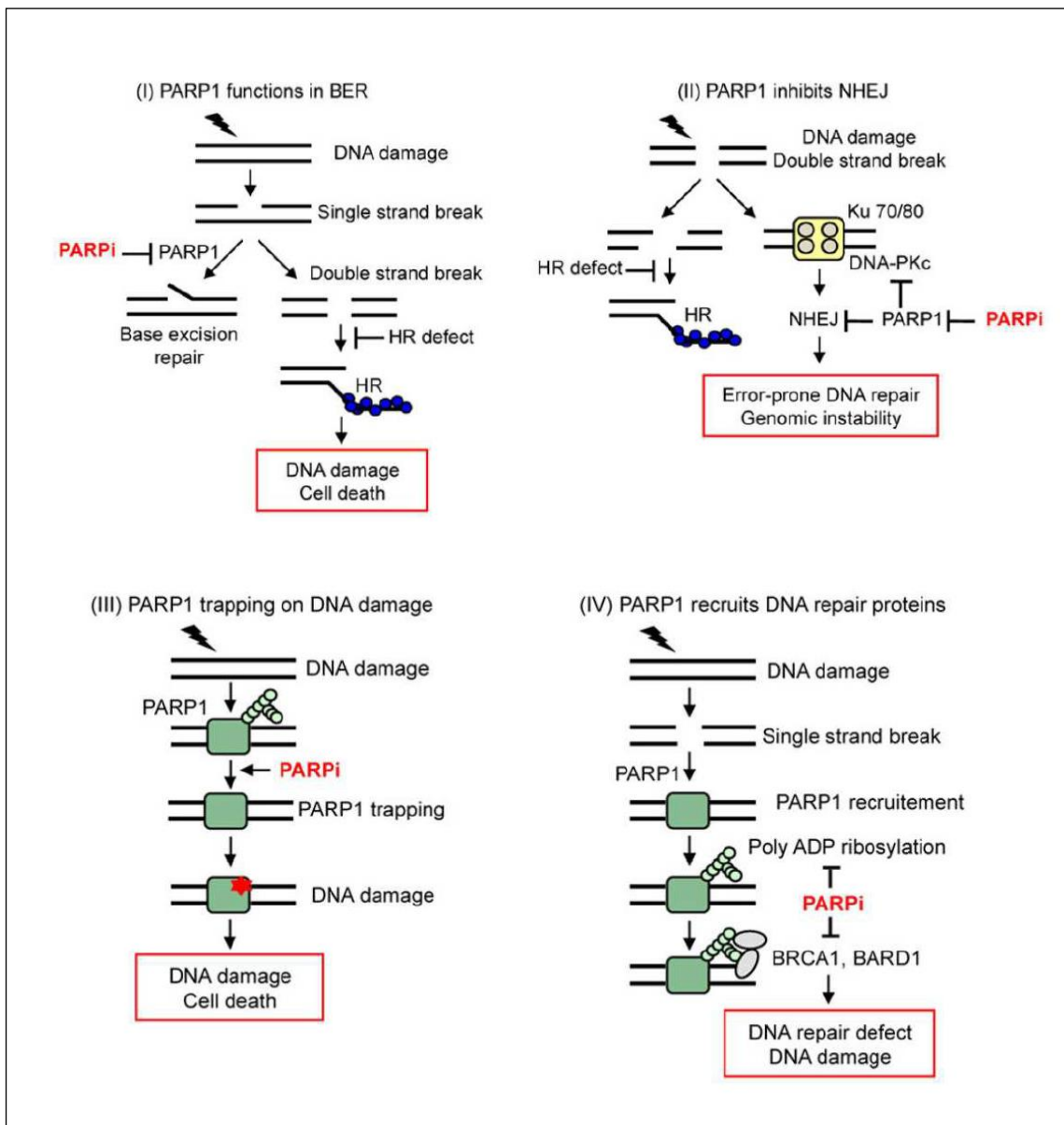


Figura I.11. Mecanismos de letalidad sintética entre inhibidores de PARP-1 y alteración en la RH. La inhibición de la actividad de PARP-1 en los procesos de BER (I) y NHEJ (II) es citotóxica en presencia de déficit en la RH. III) Los inhibidores de PARP inducen el atrapamiento de PARP-1 en las lesiones de ADN, lo que resulta tóxico en las células con alteración en la vía de la RH. IV) El reclutamiento del complejo BRCA1-BARD1 es interrumpido por los inhibidores de PARP, lo que perpetúa lesiones en el ADN que resultan tóxicas en presencia de alteración de la RH. Tomado de Konstantinopoulos PA, et al. (139).

8.2.3. PARPi autorizados para uso terapéutico

Los PARPi aprobados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) para el tratamiento del CO son el olaparib, el rucaparib y el niraparib, el veliparib es otro PARPi pero de momento no está

I. INTRODUCCIÓN

autorizado para su uso terapéutico por la Agencia Europea del Medicamento (EMA). Las indicaciones terapéuticas aprobadas por la AEMPS son:

- Olaparib (Lynparza®) (140,141)
 - Como monoterapia:
 - Tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial de alto grado avanzado (estadios FIGO III y IV) con mutación *BRCA1/2* (germinal o somática), de trompa de Falopio o peritoneal primario, que están en respuesta (completa o parcial) tras haber completado una primera línea de quimioterapia basada en platino.
 - Tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial de alto grado, trompa de Falopio, o peritoneal primario, en recaída, sensible a platino, que están en respuesta (completa o parcial) a quimioterapia basada en platino.
 - Olaparib combinado con bevacizumab:
 - Tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial de alto grado avanzado (estadios FIGO III y IV), de trompa de Falopio o peritoneal primario, que están en respuesta (completa o parcial) tras haber completado una primera línea de quimioterapia basada en platino en combinación con bevacizumab y cuyo cáncer está asociado con resultado positivo para deficiencia en la RH (RHD) definido por una mutación *BRCA1/2* y/o inestabilidad genómica o GIS positivo del inglés *Genomic Instability Score*.
- Rucaparib (Rubraca®) (142,143)
 - Como monoterapia:
 - Tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial, de trompa de Falopio o peritoneal primario, de alto grado, en recidiva, sensible al

I. INTRODUCCIÓN

platino, que responde completa o parcialmente a la quimioterapia con platino.

- Niraparib (Zejula®) (144,145)
 - Como monoterapia:
 - Tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial avanzado (estadios FIGO III y IV) de alto grado, trompas de Falopio o peritoneal primario que están en respuesta (completa o parcial) tras completar una primera línea de quimioterapia basada en platino.
 - Tratamiento de mantenimiento de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial seroso de alto grado, trompas de Falopio o peritoneal primario, en recaída, sensible a platino, que están en respuesta (completa o parcial) a la quimioterapia basada en platino.

Todas las indicaciones autorizadas para el uso de PARPi son de mantenimiento, este tipo de terapia tiene como objetivo prolongar la respuesta óptima de la enfermedad durante el mayor tiempo posible, a diferencia del tratamiento con derivados del platino con fines curativos. Además, el mantenimiento con PARPi tiene como fin favorecer el control de los síntomas relacionados con la enfermedad, retrasar la necesidad de aplicar nuevas líneas de tratamiento, mantener o mejorar la calidad de vida y, como última finalidad, prolongar la expectativa de vida. Aunque son varias las indicaciones para el uso de PARPi autorizadas por la AEMPS, no todas están financiadas por el Sistema Nacional de Salud (SNS). En la siguiente tabla (**Tabla I.5**) se resumen las indicaciones de los diferentes PARPi financiadas por el SNS.

I. INTRODUCCIÓN

PARPi	Tipo de terapia	Año	Requisitos
Lynparza® (olaparib)	Mantenimiento	2021	- COAG avanzado/CTF/CP1 - BRCA1/2+ (germinal/somática) - Platino sensible en respuesta completa o parcial (tras 1º línea de tratamiento)
			- COAG avanzado/CTF/CP1 - En recidiva - Platino sensible en respuesta completa o parcial
Lynparza® (olaparib) + Bevacizumab	Mantenimiento	2022	- COAG avanzado/CTF/CP1 - BRCA1/2+ / RHD+ - Sensible a un tratamiento con platino + Bevacizumab
Rubraca® (rucaparib)	Mantenimiento	2020	- COAG avanzado/CTF/CP1 - En recidiva - Platino sensible en respuesta completa o parcial
Zejula® (niraparib)	Mantenimiento	2022	- COAG avanzado/CTF/CP1 - Platino sensible en respuesta completa o parcial (tras 1º línea de tratamiento)
			- COAG avanzado/CTF/CP1 - En recidiva - Platino sensible en respuesta completa o parcial

Tabla I.5. Resumen de las indicaciones y requisitos de los PARPi autorizados por la EMA y AEMPS para su uso financiado por el SNS (146–149). PARPi: inhibidor de la Poli-ADP ribosa polimerasa, COAG: cáncer de ovario de alto grado, CTF: cáncer de trompa de Falopio, CP1: cáncer peritoneal primario, BRCA1/2+: variante patogénica en los genes *BRCA1/2*.

8.2.3.1. Ensayos clínicos para olaparib

Las indicaciones aprobadas para el uso terapéutico de olaparib se autorizan según los estudios de eficacia y seguridad demostrada en los ensayos clínicos:

- SOLO1: ensayo clínico (EC) para la evaluación del tratamiento de mantenimiento en primera línea para el cáncer de ovario avanzado con mutación *BRCA1/2* (BRCA+). Este estudio demostró relevancia clínica y una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia libre de progresión para el olaparib en comparación con placebo (150).
- SOLO2: EC para la evaluación de la terapia de mantenimiento para cáncer de ovario, trompa de Falopio o peritoneal primario en recaída platino-sensible con mutación en *BRCA1/2*. Este estudio demostró una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia libre de progresión para olaparib en comparación con placebo (151).
- Estudio 19 (D0810C00019): EC para la evaluación de la terapia de mantenimiento del cáncer de ovario, trompa de Falopio o peritoneal primario platino sensible, tras terapia con dos o más pautas de quimioterapia basada en platino. Este estudio demostró una mejoría estadísticamente significativa de la supervivencia libre de progresión para olaparib en comparación con placebo en la población global. El análisis de subgrupos identificó pacientes con cáncer de ovario BRCA+ como el subgrupo que obtuvo el mayor beneficio clínico de la monoterapia de mantenimiento con olaparib. También se observó beneficio en pacientes sin mutación en *BRCA1/2* (BRCAwt) o con hallazgos de VUS, aunque de menor magnitud (152).
- OPINION: EC para la evaluación del tratamiento de mantenimiento en pacientes con cáncer de ovario, trompa de Falopio o peritoneal primario platino sensible sin mutación conocida en *BRCA1/2*. Se incluyeron pacientes cuya enfermedad estaba en respuesta completa o parcial tras la finalización de la quimioterapia basada en platino. Cuando olaparib se utilizó como terapia de mantenimiento demostró actividad clínica en

I. INTRODUCCIÓN

pacientes con cáncer de ovario platino sensible que no presentaban mutaciones en *BRCA1/2* (153).

- PAOLA-1: EC para la evaluación del tratamiento de mantenimiento de primera línea del cáncer de ovario avanzado (estadios FIGO III y IV), de trompa de Falopio o peritoneal primario con RHD positivo combinado con bevacizumab tras quimioterapia de primera línea basada en platino y bevacizumab. Se definieron subgrupos en base a biomarcadores como mutaciones en *BRCA1/2*, resultado de GIS y RHD. En la población total de pacientes reclutadas, el 30% de las pacientes en ambos grupos eran positivas para variantes patogénicas en *BRCA1/2*. Entre las pacientes BRCAwt, el 29% (19% de la población total) presentó RHD o GIS positivo. PAOLA-1 demostró una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia libre de progresión para el grupo tratado con olaparib/bevacizumab en comparación con el placebo/bevacizumab. Sin embargo, las pacientes definidas como positivas en biomarcadores (*BRCA1/2* o RHD/GIS) obtuvieron la mayor parte del beneficio (154).

8.2.3.2. Ensayos clínicos para rucaparib

La indicación terapéutica aprobada para el uso de rucaparib se autoriza según los estudios de eficacia y seguridad demostrada en el siguiente EC:

- ARIEL3: EC para la evaluación del tratamiento de mantenimiento del cáncer ovárico, de trompa de Falopio o peritoneal primario recidivante. Las muestras de tejidos tumorales de todas las pacientes (n=564) se analizaron para determinar la condición positiva de RHD (definida por la presencia de una VP en *BRCA1/2* o una pérdida de heterocigosidad). Un 23% (130/564) de las pacientes presentaban una mutación germinal de *BRCA1/2*, y casi un 10% (56/564) presentaban una mutación somática de *BRCA1/2*. ARIEL3 demostró una mejora estadísticamente significativa de la supervivencia libre de progresión en las pacientes aleatorizadas para recibir tratamiento con rucaparib en comparación con la población placebo (155).

8.2.3.3. Ensayos clínicos para niraparib

Las indicaciones terapéuticas aprobadas para el uso de niraparib se autorizan según los estudios de eficacia y seguridad demostrada en los siguientes ensayos clínicos:

- PRIMA: EC para la evaluación del tratamiento de mantenimiento de primera línea para el cáncer de ovario en respuesta completa o parcial a una primera línea de quimioterapia basada en platino. PRIMA demostró una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia libre de progresión de las pacientes aleatorizadas a niraparib en comparación con placebo en la población RHD+ y en la población general (156).
- NOVA: EC para la evaluación del tratamiento de mantenimiento del cáncer de ovario seroso de alto grado, de trompas de Falopio o peritoneal primario en recaída después de la respuesta completa o parcial del tratamiento basado en platino. Se analizaron mutaciones en *BRCA* en línea germinal y en tejido tumoral además de RHD en el momento del diagnóstico inicial o de la recidiva. La supervivencia libre de progresión se midió desde el momento de la aleatorización hasta la progresión de la enfermedad o la muerte. El estudio demostró una mejoría estadísticamente significativa de la supervivencia libre de progresión con niraparib como tratamiento de mantenimiento comparado con el placebo. Estos resultados se obtuvieron tanto en la población BRCA+, así como en la cohorte con *BRCA* no mutado (BRCAwt) (157).

El resumen de los estudios de eficacia y seguridad en distintas poblaciones para aprobar el uso terapéutico de los PARPi autorizados por la AEMPS se muestra en la siguiente tabla (**Tabla I.6**).

I. INTRODUCCIÓN

	BRCA1/2+	RHD+	BRCA-/RHD-
OLAPARIB	SOLO1 SOLO2* ESTUDIO 19*	-	ESTUDIO 19* OPINION*
RUCAPARIB	ARIEL3	ARIEL3	ARIEL3
NIRAPARIB	NOVA	PRIMA	PRIMA NOVA
OLAPARIB + BEVACIZUMAB	PAOLA-1	PAOLA-1	-

Tabla I.6. Estudios de eficacia y seguridad de los PARPi autorizados por la AEMPS. Se señalan con * los estudios realizados solo en línea germinal (150–157). BRCA1/2+: mutación en los genes *BRCA1/2*, RHD+: mutación en otros genes de la recombinación homóloga, BRCA-/RHD-: sin mutación conocida en los genes de la recombinación homóloga.

8.3. Estrategias de prevención

Existen tres tipos de estrategias terapéuticas para prevenir el riesgo hereditario de desarrollar cáncer de ovario: quimioprevención, *screening* y cirugía profiláctica.

8.3.1. Quimioprevención

Como hemos visto anteriormente, los ACHO han demostrado reducir el riesgo de cáncer de ovario entre un 40-60% en la población general. Este beneficio se mantiene en mujeres con riesgo incrementado de CO asociado a variantes patogénicas *BRCA1/BRCA2* (11). Sin embargo, se desconoce si los ACHO confieren efecto protector a largo plazo debido a que la mayoría de las portadoras se someterán a una cirugía profiláctica alrededor de los 40 años y el desarrollo de CO antes de esta edad es poco probable (158).

8.3.2. *Screening*

El *screening* del CO se realiza con la monitorización del marcador tumoral CA-125 considerando niveles séricos elevados por encima de 35 U/ml y la ecografía transvaginal. Sin embargo, no existen datos que sugieran que este *screening* conlleve una reducción de la mortalidad en mujeres con riesgo

I. INTRODUCCIÓN

poblacional (159). El problema del *screening* en población general es la baja incidencia del CO, ya que la sensibilidad y especificidad del método empleado deben ser muy elevadas para proporcionar un valor predictivo fiable. Para mejorar estos valores se ha desarrollado ROCA (*Risk Of Ovarian Cancer Algorithm*) un algoritmo de riesgo de cáncer de ovario que tiene en cuenta la velocidad de incremento de los niveles de CA-125 en lugar del valor de corte. La interpretación de los valores de CA-125 con ROCA junto a la ecografía transvaginal ha demostrado aumentar la especificidad, pero sin una reducción significativa de la mortalidad en la población general (160).

En la actualidad, la mayoría de las guías clínicas recomiendan el *screening* mediante monitorización de CA-125 cada 6-12 meses y ecografía transvaginal en mujeres con riesgo hereditario de CO a partir de los 30-35 años, mientras no se lleve a cabo la cirugía reductora de riesgo (161,162).

8.3.3. Cirugía profiláctica

La salpingo-ooforectomía bilateral profiláctica (SOBP) es la medida más efectiva para reducir el riesgo de cáncer de ovario. En mujeres portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1/BRCA2* se asocia a una disminución de riesgo de CO del 80%, de CM del 50% y una reducción de la mortalidad global del 77% (163–165). Las guías NCCN recomiendan la SOBP en mujeres portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *RAD51C* y *RAD51D*. Para consensuar el manejo de estas pacientes, la NCCN en sus guías clínicas establece recomendaciones diferentes para cada gen en función de la evidencia actual (161).

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El CO es el cáncer ginecológico con una mayor mortalidad, representando el cáncer de ovario epitelial de alto grado no mucinoso el 75% de esta patología, caracterizada por tener un curso agresivo y diagnosticarse en estadios avanzados. Uno de los criterios de inclusión según la SEOM de alto riesgo para el SCMOH es el diagnóstico de este tipo de CO. El SCMOH presenta un patrón de herencia autosómica dominante en genes de susceptibilidad al cáncer. Históricamente, el riesgo de SCMOH ha estado principalmente vinculado a variantes patogénicas germinales en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Sin embargo, actualmente también se encuentra asociado a genes supresores de tumores implicados en la reparación del ADN.

El cáncer de ovario epitelial de alto grado no mucinoso se evidencia por ser genéticamente inestable y aproximadamente un 50% de estos tumores presentan deficiencia en los mecanismos de reparación del ADN mediante RH, incluyendo variantes patogénicas germinales en *BRCA1* y *BRCA2*. Sin embargo, en la actualidad se estima que más de la mitad de los individuos con una variante patogénica y que cumpla los criterios de evaluación para SCMOH de las guías de la NCCN son portadores de variantes patogénicas en genes distintos a *BRCA1* o *BRCA2*. Entre ellos se incluyen genes de alta penetrancia como *TP53* y *PTEN*, así como genes de moderada penetrancia como *ATM*, *BRIP1* y *PALB2*, entre otros. Estos genes además de estar relacionados clínicamente con el CO, también se asocian a susceptibilidad de otros tipos de cáncer como el pancreático o el colorrectal. Muchos de ellos son esenciales para mantener la estabilidad genómica de las células y están relacionados funcionalmente con la reparación de ADN mediante RH.

La irrupción de los sistemas de secuenciación masiva o de nueva generación (*Next Generation Sequencing*, NGS) está permitiendo un avance muy acelerado en el conocimiento de las bases genéticas de las enfermedades. Esta tecnología permite una mejora significativa de la eficiencia, aumento del rendimiento con una reducción asistencial del tiempo de respuesta y costes económicos. La gran capacidad de análisis de NGS hace posible el

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

estudio simultáneo genético de amplio paneles de genes, exomas e incluso genomas completos. Además, la respuesta a la primera línea de tratamiento del CO con quimioterapia basada en platino está relacionada con déficits en la RH. La respuesta a este tratamiento cuando es completa o parcial se puede beneficiar de la administración de mantenimiento de inhibidores de la poli ADP-ribosa polimerasa o PARPi.

Por tanto, es esperable que, tras la incorporación a nivel asistencial de un panel de genes clínicamente accionables se consiga un incremento en el rendimiento diagnóstico del cáncer de ovario de alto grado, con el consiguiente beneficio para los familiares del CI estudiado. No obstante, esta estrategia tendrá como consecuencia un incremento en el número de variantes de significado clínico desconocido obtenidas, por lo que se hace necesario disponer de algoritmos de priorización de variantes genéticas

En definitiva, los resultados y conclusiones obtenidas con el desarrollo de este trabajo pretenden aportar información relevante sobre las variantes genéticas estudiadas para la práctica asistencial relacionada con el CO, permitiendo a los profesionales del laboratorio y oncólogos conocer de manera más exhaustiva el rendimiento diagnóstico y el impacto clínico de esta patología.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

- Evaluar la utilidad clínica del análisis mediante secuenciación masiva de un amplio panel de genes en pacientes con cáncer de ovario.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento diagnóstico del análisis genético de *BRCA1* y *BRCA2* en línea germinal en pacientes con CO.
- Determinar el rendimiento diagnóstico del análisis genético mediante un amplio panel de genes en línea germinal con CO.
- Caracterización molecular y clínica de las variantes genéticas detectadas en los estudios de panel de genes en línea germinal.
- Llevar a cabo el estudio de supervivencia en función de la respuesta al tratamiento en primera línea con derivados de platino.
- Aplicación de un algoritmo para poder determinar la priorización y accionabilidad clínica de las variantes de significado clínico desconocido o VUS obtenidas en los estudios de secuenciación masiva.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

III. METODOLOGÍA

1. PACIENTES EN ESTUDIO

La población abordable en este estudio incluyó a las pacientes diagnosticadas de CO en la Región de Murcia que cumplían criterios terapéuticos para tratamiento con inhibidores de la enzima poli ADP ribosa polimerasa o PARPi. La selección de las familias se realizó en las Unidades de Asesoramiento Genético de los servicios de Oncología Médica del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA) y el Hospital General Universitario Morales Meseguer (HGUMM).

Para el presente estudio observacional analítico de cohortes retrospectivo se han incluido los CI teniendo en cuenta las guías de manejo clínico y tratamiento de cáncer ovario. Aplicando estas guías podemos distinguir dos poblaciones en este estudio, las cuales han sido segregadas en función del estudio genético aplicado a los CI (**Figura III.1**).

1.1. Selección y clasificación de los pacientes

a) Población *BRCA*

Las muestras analizadas pertenecientes a la primera población se tomaron entre los años 2014 y 2018. Se seleccionaron los CI pertenecientes a un total de 86 familias que cumplían criterios de selección recomendados por la SEOM para realizar el estudio de los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Además, desde la autorización del uso terapéutico de olaparib en el año 2014, la indicación de este fármaco para la terapia de mantenimiento del CO ha estado vinculada al estudio genético de *BRCA1* y *BRCA2* clínicamente significativo. Los criterios de selección establecidos por la SEOM en la guía clínica de cáncer de mama y ovario hereditario válidos en estas fechas fueron los siguientes (52):

- Criterios independientes de la historia familiar:
 - Mujeres con CM y CO sincrónico o metacrónico.
 - Diagnóstico de CM a los 35 años o antes (40 años si se trata de una familia con menos de dos mujeres que sigan vivas a la edad de 45 años en cada rama de la familia).
 - CM bilateral (el primero diagnosticado a los 40 años o antes).
 - CM triple negativo diagnosticado a los 50 años o antes.

III. METODOLOGÍA

- Diagnóstico de CO de alto grado epitelial no mucinoso (o de las trompas de Falopio o cáncer peritoneal primario).
- 2 o más familiares de primer grado con una de estas combinaciones:
 - CM bilateral + otro cáncer antes de los 50 años.
 - CM en el varón.
 - CM más CO.
 - Dos casos de CM diagnosticados antes de los 50 años.
- 3 o más familiares directos de la misma rama familiar con CM y/o CO ≥ 3 CM y/o CO.

b) Población *PANEL*

En el año 2019 la SEOM publicó una nueva guía clínica para el manejo de cáncer de mama y ovario hereditario. En esta nueva guía se modificaron los criterios de selección recomendados para el estudio genético de cáncer hereditario y recomienda ampliar este estudio a otros genes relacionados con cáncer hereditario. De esta manera, a los CI de la segunda población se les realizó el estudio genético con panel de genes. Gracias esta tecnología además de analizar los genes estudiados en la población anterior (*BRCA1* y *BRCA2*) se investigaron otros genes recomendados para CO. Las muestras pertenecientes a esta cohorte se tomaron entre los años 2018 y 2022. Se seleccionaron los CI pertenecientes a un total de 114 familias. Los nuevos criterios fueron los siguientes (6):

- Criterios independientes de la historia familiar:
 - Mujeres con cáncer de mama y ovario sincrónico o metacrónico.
 - Diagnóstico de CM a los 40 años o antes.
 - CM bilateral (el primero diagnosticado a los 50 años o antes).
 - CM triple negativo diagnosticado a los 60 años o antes.
 - Diagnóstico de CO de alto grado epitelial no mucinoso (o de las trompas de Falopio o cáncer peritoneal primario).
 - Ascendiente con una mutación fundadora.
 - Mutación somática en *BRCA1/2* detectada en cualquier tipo de tumor con una frecuencia alélica superior al 30% (si es conocida).

III. METODOLOGÍA

- CM HER2 negativo metastásico en pacientes candidatas a terapia con PARPi.
- 2 o más familiares de primer grado con cualquiera de estas combinaciones de alto riesgo.
 - CM bilateral junto a otro cáncer antes de los 60 años.
 - CM antes de los 50 años junto a cáncer de próstata o páncreas antes de los 60 años.
 - CM en el varón.
 - CM junto a CO.
 - Dos casos de CM diagnosticados antes de los 50 años.
- 3 o más familiares directos de la misma rama familiar con CM (al menos uno de los casos premenopáusico) y/o CO y/o, cáncer de páncreas o cáncer de próstata con Gleason igual o mayor a 7.

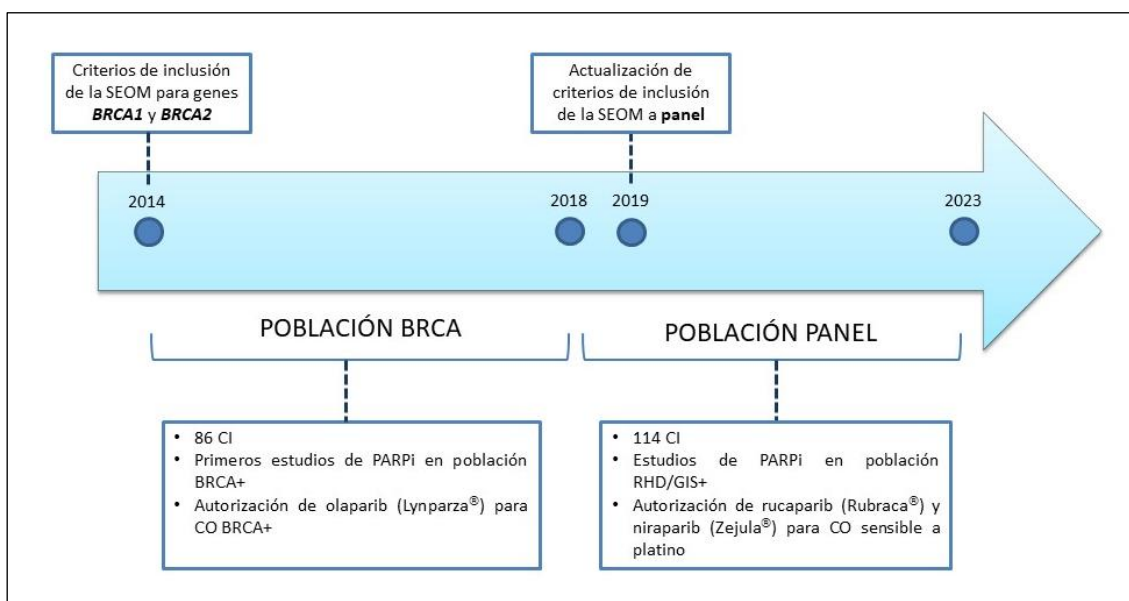


Figura III.1. Cronología de las poblaciones incluidas en este estudio. SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica, CI: caso índice, CO: cáncer de ovario, PARPi: inhibidor de PARP-1 (poli ADP ribosa polimerasa), RHD: recombinación homóloga deficiente, GIS: *Genomic Instability Score*. (6,52).

1.2. Características clínicas e inmunohistoquímicas de los pacientes

La búsqueda de información clínica relevante de los CI seleccionados se realizó mediante los programas Selene® y Agora Plus®, ambos pertenecientes a la intranet del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Estos

programas permiten la consulta de la historia clínica electrónica de las pacientes incluidas en este estudio para recabar información clínicamente relevante. Los datos consultados fueron:

1.2.1. Historia oncológica del CI

- a) Supervivencia. Calculada en meses desde la fecha del primer diagnóstico hasta la fecha de fallecimiento. Para realizar el estudio de supervivencia se estudiaron los casos en un periodo de 5 años.
- b) Edad. Expresada en años en el momento del diagnóstico.
- c) Otros tipos de cáncer sincrónicos o metacrónicos:
 - i. Sincrónico: un segundo cáncer de histología distinta diagnosticado al mismo tiempo que el cáncer conocido hasta un máximo de 6 meses después.
 - ii. Metacrónico: un segundo cáncer de histología distinta diagnosticado entre 6 meses y 10 años del primer hallazgo.
- d) Sensibilidad a platino. En función de la respuesta de la enfermedad al tratamiento con derivados del platino, el CO se puede considerar:
 - i. Platino sensible: Si la enfermedad presentó respuesta parcial o completa con el tratamiento y no recae en los 6 meses siguientes tras la finalización del esquema de quimioterapia con derivados del platino.
 - ii. Platino resistente: Si la enfermedad presentó progresión durante el tratamiento con platino, estabilización tras finalizarlo o si tras alcanzar respuesta presenta una recaída en los 6 meses siguientes a finalizar el esquema quimioterapia con derivados del platino (166).
- e) Histología: Clasificación de los diferentes tipos de cáncer de ovario de origen epitelial según el subtipo y su grado de diferenciación. El grado de diferenciación se determina por la apariencia de las células a nivel microscópico. Aquellas con

III. METODOLOGÍA

aparición más madura con formación de estructuras glandulares son las bien diferenciadas, mientras que las células de aspecto más agresivo y menos diferenciadas son las de alto grado o grado 3 (**Tabla III.1**) (167).

SUBTIPOS	Seroso
	Endometriode
	De células claras
	Mucinoso
	Indiferenciado
GRADO DE DIFERENCIACIÓN	Grado 1 o bien diferenciados
	Grado 2 o moderadamente diferenciados
	Grado 3 o pobremente diferenciado

Tabla III.1. Resumen de la clasificación histológica del CO.

- f) Estadificación quirúrgica del cáncer de ovario según los estadios FIGO.

1.2.2. Antecedentes familiares de cáncer del CI

En la consulta de Asesoramiento Genético se recabó la información de familiares del CI afectados de cáncer. Se registró el grado de parentesco, el tipo de cáncer, la edad del diagnóstico y el estado del familiar.

A partir de esta información se elaboraron los diagramas de la historia familiar del CI, en el cual se representan las relaciones entre los familiares y se señalan mediante símbolos estandarizados los miembros de la familia que tienen la variante genética estudiada, la enfermedad y el estado. Para la representación de los árboles genealógicos se utilizó el programa informático *Cyrillic*, los varones se representan como cuadrados y las mujeres como círculos. Los individuos afectados por cáncer aparecen con el símbolo relleno en color negro. La línea diagonal indica que el individuo está fallecido. Dos

III. METODOLOGÍA

individuos unidos por una línea transversal en la parte superior indican que se trata de gemelos univitelinos. El CI se señala con una flecha. El símbolo “+” se utiliza para los portadores de la variante estudiada, mientras que el símbolo “-” se refiere al no portador.

1.2.3. Recogida de datos

Los datos recabados de cada paciente se registraron en un cuaderno de recogida de datos diseñado para recoger los datos citados anteriormente. Posteriormente estos datos se transformaron a una tabla formato Excel. Se asignó un código OL-X (X: número de familia) a cada CI evaluado y se llevó a cabo la codificación de los datos recogidos previo a la realización del análisis estadístico.

En esta fase se llevó a cabo la detección y corrección de errores en la recogida de datos encontrados. La última actualización de datos se realizó en enero de 2023, siendo ésta la fecha del último seguimiento incluido.

2. ANÁLISIS GENÉTICO

2.1. Extracción de ADN

Una vez seleccionados los pacientes, en el Laboratorio de Genómica (LDG) se realizó el estudio genético correspondiente a cada paciente. Para realizar este estudio se extrajo ADN genómico de todos los CI estudiados. La extracción de ADN se realizó mediante el sistema automático de Promega (*Maxwell 16 Blood DNA Purification kit*) a partir de 400 μL de sangre periférica extraída en un tubo con anticoagulante EDTA. Esta técnica está basada en la interacción de unas partículas paramagnéticas que funcionan como una fase sólida móvil que optimiza la captación, lavado y elución del ADN presente en los leucocitos de la muestra.

Tras la extracción, se midió la concentración y pureza del ADN mediante espectrofotometría utilizando el equipo de *Thermo Scientific, Nanodrop 1000* (**Figura III.2A**). Las medidas se realizaron a longitud de onda de 260nm, a la que absorben los ácidos nucleicos para obtener la concentración de ADN en $\text{ng}/\mu\text{L}$. La relación obtenida entre las absorbancias a A260/A280nm determina la calidad del ADN extraído, considerándose como aceptable un ratio entre 1,5-1,8 (**Figura III.2B**).

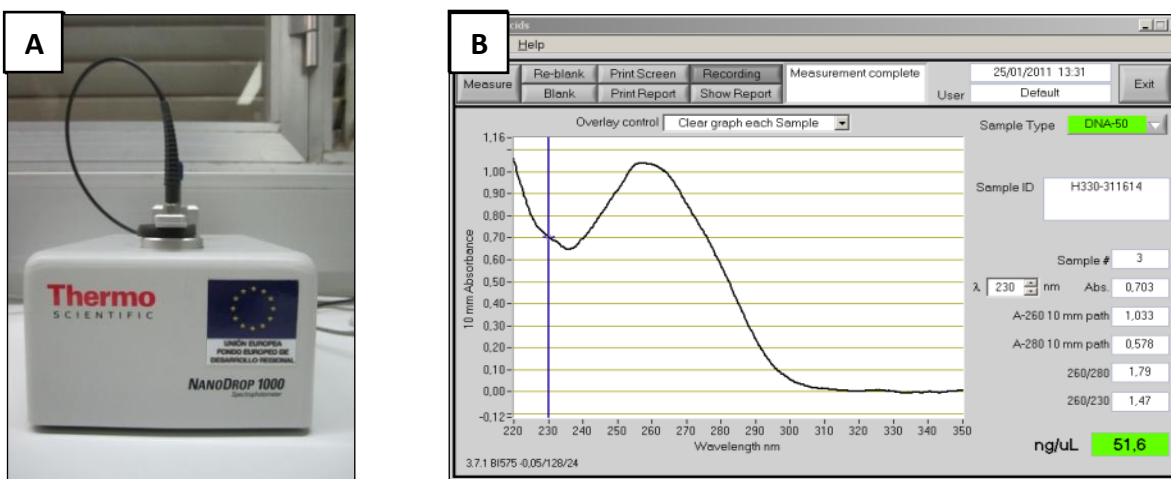


Figura III.2A. Nanodrop1000 (Termo Scientific). **Figura III.2B.** Curva de absorbancia de una muestra de ADN.

2.2. Estudio genético

Una vez obtenido el ADN correspondiente a cada CI se realizó el estudio genético correspondiente dependiendo de la tecnología usada en ese momento.

2.2.1. Técnicas de *Next Generation Sequencing*

Durante los años 2014-2016, los años previos al estudio genético con paneles de genes, la secuenciación de los genes *BRCA1* y *BRCA2* se realizó con tecnología NGS mediante pirosecuenciación de la plataforma *454 GsJunior* de *Roche Diagnostics* y tecnología secuenciación por síntesis de *Miseq*, *Illumina*. El kit utilizado en ambos casos fue el kit *BRCA MAST Assay v2.1* de *Multiplicom* y el protocolo indicado para la plataforma *454 GsJunior* fue el siguiente:

1. Preparación de la librería
 - a. Fragmentación del ADN de doble (nebulización).
 - b. Marcaje de los extremos con dos *primers*.
 - c. Separación de los fragmentos del ADN de doble cadena en su forma monocatenaria.
2. PCR en emulsión (emPCR)
 - a. Fragmento de ADN monocatenario en emulsión.
 - b. Reacción de emPCR.
3. Pirosecuenciación
 - a. Liberación de las microesferas.
 - b. Colocación en placas para la pirosecuenciación.
 - i. Emulsión sobre fase sólida con celdillas.
 - ii. Se añaden las enzimas sulfurilasa y luciferasa.
 - iii. Secuenciación que registra cuando se añade uno de los cuatro nucleótidos a la cadena mediante luminiscencia.
4. Análisis de datos
 - a. Soporte bioinformático: *GS Run Browser*.
 - b. Análisis: *GS Amplicon Variant Analyzer*.

III. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se empleó tecnología NGS con la plataforma *Miseq*, *Illumina*. De manera, que se utilizaron los kits más adecuados en la secuenciación de los genes recomendados por la guía vigente de la NCCN.

En el transcurso de los años 2016-2018 se empleó el kit *BRCA Hereditary Master™ Plus* de *Agilent®* para analizar 25 genes: *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *BLM*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *FAM175A*, *MEN1*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MRE11A*, *MUTYH*, *NBN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD50*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *STK11*, *TP53* y *XRCC2*.

Durante los años 2018-2022 se empleó el kit *Hereditary OncoKitDx* de *Imegen* para secuenciar 50 genes: *ABRAXAS1*, *APC*, *ATM*, *BARD1*, *BMPR1A*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CDK4*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *EPCAM*, *FH*, *KIF1B*, *MAX*, *MEN1*, *MET*, *MLH1*, *MLH3*, *MRE11*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *NF1*, *NTHL1*, *PALB2*, *PIK3CA*, *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RB1*, *RET*, *SDHA*, *SDHAF2*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SMAD4*, *STK11*, *TMEM127*, *TP53*, *VHL* y *XRCC2*.

En el año 2022 se actualizó el kit de *Imegen* para añadir otros genes relacionados con el cáncer hereditario. El nuevo kit de *Imegen*, *Hereditary Plus OncoKitDx* se utilizó para analizar los mismos genes que su predecesor, este kit permitió secuenciar 101 genes: *ABRAXAS1*, *ACD*, *AIP*, *AKT1*, *ALK*, *APC* (5' UTR), *ATM*, *ATR*, *AXIN2*, *BAP1*, *BARD1*, *BLM*, *BMPR1A*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDC73*, *CDH1*, *CDK4*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *CTNNA1*, *CYLD*, *DICER1*, *EPCAM*, *FANCC*, *FANCG*, *FANCM*, *FH*, *FLCN*, *GALNT12*, *GALNT14*, *GDNF*, *GEN1*, *GREM1*, *HABP2*, *HOXB13*, *KIF1B*, *KLLN*, *LZTR1*, *MAX*, *MC1R*, *MEN1*, *MET*, *MITF*, *MLH1*, *MLH3*, *MRE11A*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *NF1*, *NF2*, *NTHL1*, *PALB2*, *PHOX2B*, *PIK3CA*, *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *POT1*, *PRKAR1A*, *PRSS1*, *PTCH1*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RB1*, *RECQL4*, *RET*, *RINT1*, *SDHA*, *SDHAF2*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SEC23B*, *SLX4*, *SMAD4*, *SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *SPRED1*, *STK11*, *SUFU*, *TERF2IP*, *TERT*, *TMEM127*, *TP53*, *TSC1*, *TSC2*, *VHL*, *WT1* y *XRCC2*.

III. METODOLOGÍA

Los pasos a seguir para la secuenciación de los genes incluidos en los distintos kits mencionados anteriormente fueron los siguientes:

- Preparación de la librería. Para la preparación de la librería se siguieron meticulosamente las instrucciones del protocolo del kit utilizado. El procedimiento comienza con la fragmentación enzimática del ADN mediante transposasas para cortar el ADN de manera aleatoria e introducción de los fragmentos de ADN mediante ligasas (adaptadores). Este procedimiento permite el análisis simultáneo de ADN de diferentes individuos. Las librerías se generan mediante captura por hibridación con sondas específicas para cada uno de los exones y regiones intrónicas flanqueantes de interés. Las secuencias de interés quedan flanqueadas por *primers* para la amplificación específica junto a regiones identificables correspondientes a cada paciente y cada región a estudiar. Se lleva a cabo una amplificación cíclica reducida y se amplifican los fragmentos de ADN afines a las secuencias adaptadoras.
- Generación de *clusters* y amplificación en puente. Las librerías génicas son cargadas a la célula de flujo (*Flow Cell*) que contiene, fijados a una matriz, una serie de oligonucleótidos complementarios a los fragmentos de ADN. Una vez unidos los fragmentos a los oligonucleótidos, cada fragmento es amplificado mediante una PCR puente, generando los denominados *clusters*; múltiples fragmentos de ADN idénticos.
- Secuenciación por síntesis. Después de obtener los *clusters*, se realiza la secuenciación propiamente dicha basada en la síntesis de ADN (*Sequencing By Synthesis, SBS*) con la plataforma *Myseq* de *Illumina*[®]. En la SBS se usan polimerasas especiales y nucleótidos fluorescentes con sistema de bloqueo de la síntesis de carácter reversible. Este proceso se realiza con todos los *clusters* a la vez, emitiendo señales fluorescentes correspondientes según el nucleótido añadido a la cadena de ADN simultáneamente. La secuenciación por síntesis se realiza para la hebra *forward* y *reverse*.

III. METODOLOGÍA

- Análisis de datos. Se separan las muestras por índices, etiqueta que permite diferenciar unas muestras de otras dentro del pool de datos generados. Los fragmentos secuenciados se emparejan y se comparan con la secuencia de referencia para poder realizar el análisis bioinformático.

Después de obtener las secuencias de los genes, siguiendo las recomendaciones de la guía NCCN v.1.2022, de los genes disponibles en los kits se analizaron molecularmente con la herramienta bioinformática *Datagenomics* de *Imegen* los 20 genes relacionados con el SCMOH: *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *TP53*.

La cronología de las técnicas utilizadas en este estudio se describe en la siguiente figura (**Figura III.3**).

III. METODOLOGÍA

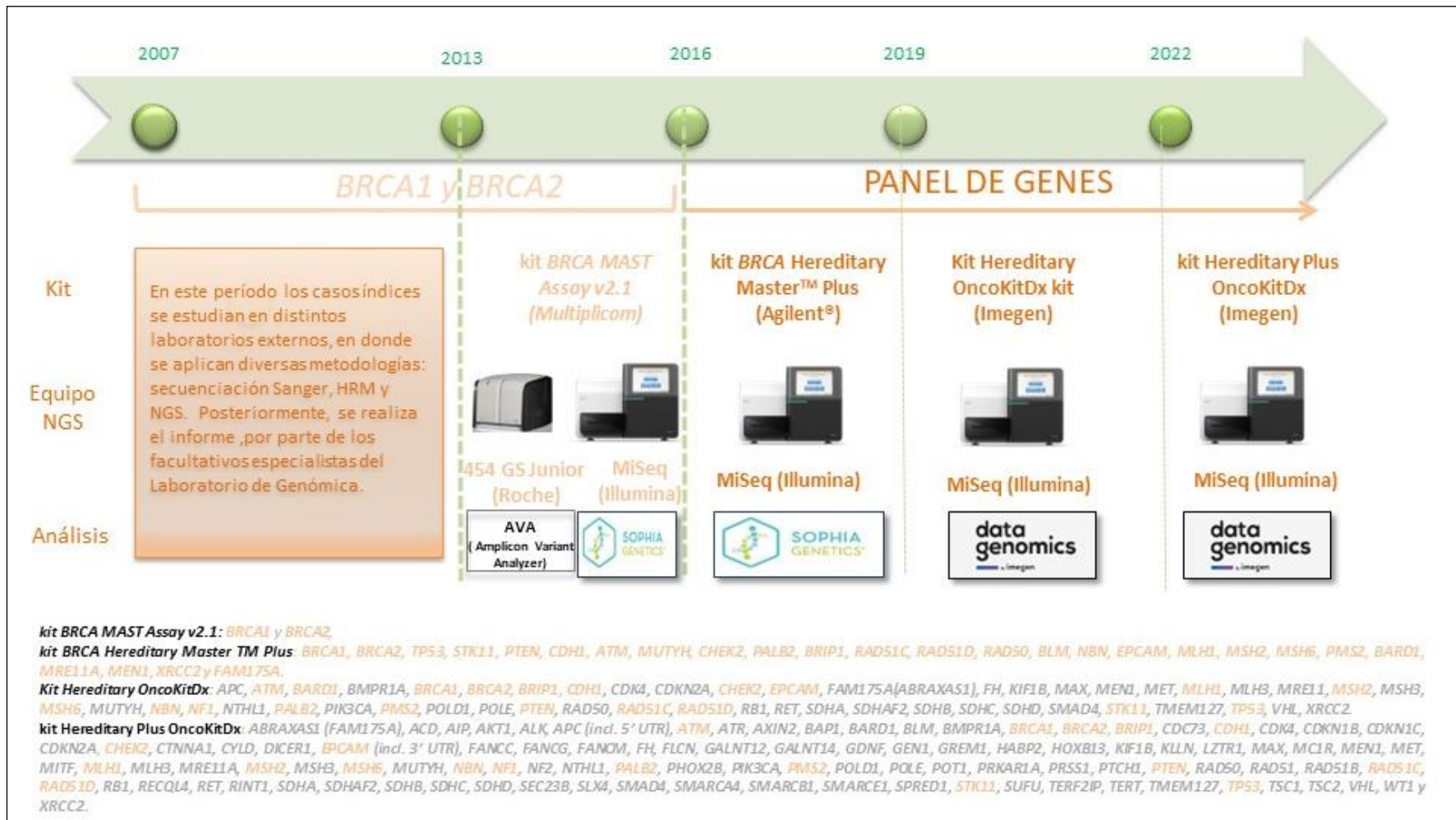


Figura III.3. Cronología de técnicas NGS utilizadas en este estudio. En naranja se resaltan los genes analizados según las recomendaciones de la NCCN en el momento de su uso. Tomado de Rosado Jimenez, L. (168).

2.2.2. Secuenciación por Sanger

Antes de la irrupción de las tecnologías NGS, la secuenciación de los genes *BRCA1* y *BRCA2*, se realizaba mediante la reacción enzimática de desoxi desarrollada por F. Sanger en 1977 (169). Esta técnica es la metodología de referencia validada que se usa actualmente para confirmar la presencia de una variante de relevancia clínica hallada en un CI. Además de ser el método de estudio de los familiares del CI en caso de confirmarse dicho hallazgo. La realización de la secuenciación por Sanger se llevó a cabo siguiendo los siguientes pasos:

- Selección de la región a amplificar. Para seleccionar la región a amplificar se utilizaron bases de datos como *NCBI* o *Ensembl* que permiten explorar las distintas regiones del gen. De esta forma se pudo localizar la posición a nivel genómico y codificante de las variantes a comprobar. Esta información se utilizó para elegir los exones a amplificar en cada uno de los genes en los que se había encontrado una variante clínicamente relevante (170,171).
- Diseño de *primers*. Para el diseño de los *primers* específicos se utilizó la interfaz web *Primer3plus* y se comprobó el alineamiento de las secuencias con la herramienta del NCBI *primer BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)* (172). Estas herramientas permiten calcular los factores que determinan la viabilidad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de amplificación. La especificidad de la unión de los *primers* está determinada principalmente por la temperatura de fusión (T_m), el contenido de GC y su autocomplementariedad (173).
- Amplificación de los exones. Se amplificaron cada uno de los exones y regiones flanqueantes de los genes mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con el kit enzimático *Go Taq Hot Start polymerase* de *Promega*. La PCR se realizó en varias fases dentro del termociclador: reactivación de la polimerasa, 30 ciclos de desnaturalización de la hebra molde-anillamiento del cebador-extensión de la secuencia y extensión final.

III. METODOLOGÍA

- Verificación de la amplificación. Para verificar la correcta amplificación de los fragmentos y comprobar la ausencia de contaminación, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2% con tampón TBE 1X. Para el revelado se utilizó el sistema *Genius* de *Syngene* para captación de imágenes.
- Purificación de los amplicones. Se purificaron los amplicones mediante el kit enzimático *ExoSap-It* de *Thermo Fisher Scientific* (**Figura III.4**). Este kit elimina las cadenas simples de ADN residuales que se puedan formar en la PCR o restos de cebadores y de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP).

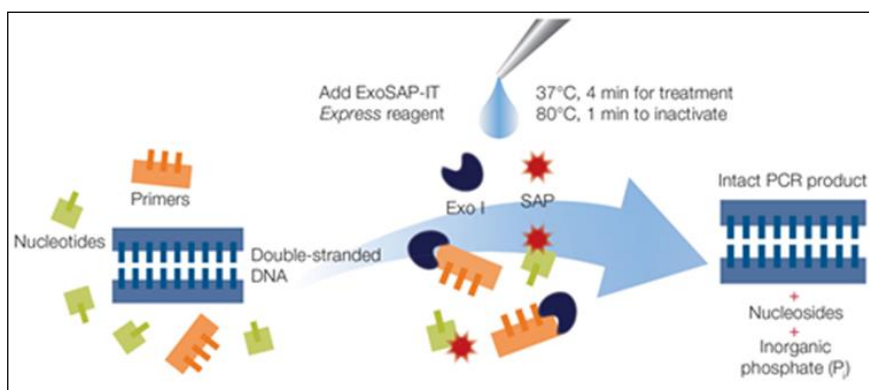


Figura III.4. Purificación enzimática de la reacción de PCR con el reactivo *ExoSap-IT*. Modificado de *ThermoFisher scientific*.

- Secuenciación automática directa. Se realizó la secuenciación automática por electroforesis capilar como técnica de comprobación de alteraciones clínicamente relevantes. Se utilizó una mezcla de los cuatro desoxinucleótidos y didesoxinucleótidos terminadores de cadena marcados con diferentes fluorocromos. Estos últimos son utilizados como sustratos por la ADN polimerasa, pero, una vez incorporados, detiene la elongación de la cadena. Para llevar a cabo la PCR de secuenciación se utilizó el kit *BigDye Terminator v1.1* de *Applied Biosystems* (169).
- Purificación de los productos de secuenciación. Tras la reacción de secuenciación se eliminaron los restos de dNTPs sobrantes y posibles

III. METODOLOGÍA

impurezas mediante filtración por columnas *Performa DTR Gel Filtration Cartridges* de *EdgeBio*.

- Electroforesis capilar. Las secuencias obtenidas y marcadas con fluorocromos se separaron por electroforesis capilar con el analizador ABI3130, el cual permite separar fragmentos cuya longitud sólo difiere en un nucleótido. Al final del capilar hay un láser que excita a las moléculas marcadas con fluorescencia y se detecta dicha fluorescencia, la cual queda registrada.
- Análisis de las secuencias. Los electroferogramas se analizaron con los soportes informáticos suministrados por la casa comercial *Applied Biosystems: Foundation Data Collection v3.0, Sequencing analysis v.5.2* y *Seqscape v.2.5* (**Figura III.5**).

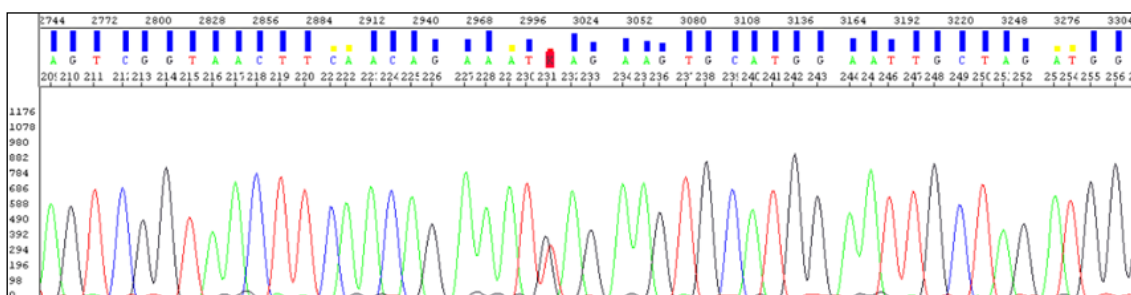


Figura III.5. Imagen de un patrón electroforético en el que se observa una variante en heterocigosis de una guanina (G) en el lugar de una timina (T).

2.2.3. Estudio de grandes reordenamientos

A la hora de confirmar la detección de grandes reordenamientos genómicos por NGS se utilizó la técnica MLPA (*Multiplex Ligation Probe Amplification*). Esta técnica se trata de un método semicuantitativo que se basa en la hibridación de dos sondas específicas contiguas que llevan incorporados unos adaptadores y un marcaje fluorescente. Las sondas reconocen su diana específica e hibridan, por lo que podrán ser ligadas y posteriormente amplificadas por PCR utilizando cebadores que reconocen los adaptadores de las sondas. Para ello se emplearon los kits *SALSA MLPA (MRC-Holland)* específicos de las regiones de interés. El protocolo de la técnica MLPA para la

III. METODOLOGÍA

detección de grandes reordenamientos se detalla a continuación (**Figura III.6**). El análisis y visualización de los resultados se realizó con el programa *GeneMapper v4.0* de *Applied Biosystems*.

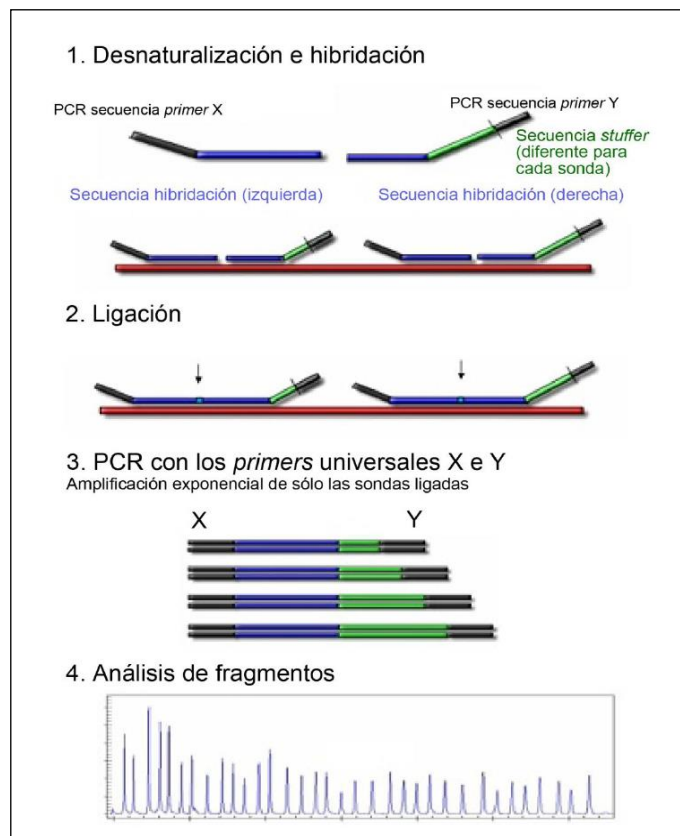


Figura III.6. Proceso descriptivo de MLPA (*Multiplex Ligation Probe Amplification*). 1. Desnaturalización de ADN e hibridación de las sondas. 2. Reacción de ligación. 3. Reacción de PCR para amplificar las sondas ligadas en el anterior paso. 4. Separación por electroforesis capilar con el analizador ABI3130 (*Applied Biosystems*) de los productos amplificados y análisis de fragmentos, se utiliza como referencia el marcador de tamaño LIZ500. Tomado de *MRC-Holland* (<https://www.mrcholland.com/technology/mlpa>).

3. SECUENCIAS DE REFERENCIA UTILIZADAS

A continuación, se muestran el transcrito utilizado para cada gen (**Tabla III.2**). En aquellos en los que se utilice más de una secuencia de referencia distinta, se indicará dado el caso.

GEN	SECUENCIA	GEN	SECUENCIA
<i>ATM</i>	NM_000051.3	<i>MSH6</i>	NM_000179.2
<i>BARD1</i>	NM_000465.3	<i>NBN</i>	NM_002485.4
<i>BRCA1</i>	NM_007294.3	<i>NF1</i>	NM_001042492.3
<i>BRCA2</i>	NM_000059.3	<i>PALB2</i>	NM_024675.3
<i>BRIP1</i>	NM_032043.2	<i>PMS2</i>	NM_000535.5
<i>CDH1</i>	NM_001317184.1	<i>PTEN</i>	NM_000314.4
<i>CHEK2</i>	NM_007194	<i>RAD51C</i>	NM_058216.1
<i>EPCAM</i>	NM_002354.3	<i>RAD51D</i>	NM_001142571.1
<i>MLH1</i>	NM_000249.3	<i>STK11</i>	NM_000455.5
<i>MSH2</i>	NM_000251.2	<i>TP53</i>	NM_000546.5

Tabla III.2. Secuencias de referencia utilizadas para cada gen.

4. CATEGORIZACIÓN DE VARIANTES

La clasificación de las variantes se realizó teniendo en cuenta las implicaciones a nivel molecular y a nivel clínico. Desde un punto de vista molecular se valoró la afectación del cambio a la estructura del gen o de la proteína que se traduce y a nivel clínico según la implicación de dicha variante en el desarrollo de una determinada enfermedad.

4.1. Análisis molecular

Para la obtención de la información relevante para el análisis molecular de las variantes encontradas se utilizaron las siguientes herramientas bioinformáticas:

- Plataforma *Sophia DDM*. Esta plataforma muestra la lista de variantes encontradas en cada paciente junto con el reporte técnico de la secuenciación. Además, indica el número y la profundidad de las lecturas junto al análisis preliminar de los resultados de cada una de las variantes encontradas. La posición de la variante en la secuencia codificante, la secuencia de referencia utilizada, el exón en el que se encontró, el número identificativo *rs* en el caso de que la variante estuviese registrada en la base de datos *dbSNP* y datos de frecuencias en la población. En este estudio se exigió que las variantes obtenidas tuvieran una cobertura de al menos 50x.
- *Datagenomics*. Es una plataforma bioinformática certificada y automatizada que permite analizar datos de NGS. Este *software* permitió detectar, anotar y pre-clasificar todo tipo de variantes genéticas.
- *Mutalyzer*. Es una herramienta web utilizada para nombrar las distintas variantes localizadas. Esta aplicación permitió unificar la nomenclatura de las variantes según la normativa propuesta por la *Human Genome Variation Society* (HGVS).

Además de las herramientas bioinformáticas mencionadas, en la siguiente tabla (**Tabla III.3**) se detallan las bases de datos utilizadas y su finalidad para llevar a cabo el análisis molecular de las variantes genéticas halladas en este estudio.

BASE DE DATOS		FINALIDAD
NCBI	<i>ClinVar</i>	Comprobar la correlación de la variante hallada (genotipo) con la patología estudiada (fenotipo).
	<i>dbSNP</i>	Búsqueda del código <i>rs</i> o <i>RefSNP clúster</i> . Este número permite identificar las variantes de manera inequívoca.
	<i>Gene</i>	Comprobar la posición de la variante a nivel genómico y codificante.
	<i>Protein</i>	Comprobar la posición de la variante a nivel de proteína y comprobar la relevancia funcional.
	<i>OMIM</i>	Obtener el mapa genético de la zona en la que se halla la variante encontrada y comprobar el resumen clínico que reporta.
	<i>PubMed</i>	Búsqueda bibliográfica de artículos publicados.
	<i>LitVar</i>	Búsqueda de las variantes obtenidas en la bibliografía publicada.
<i>ClinGen</i>	Consulta de las variantes halladas para conocer su relevancia clínica.	
<i>Ensembl</i>	Localizar las variantes halladas en una determinada secuencia genómica, transcrito o secuencia proteica.	
<i>HGMD</i>	Consulta de las variantes halladas y su posible relación con el CO hereditario.	
<i>LOVD</i>		

Tabla III.3. Resumen de las bases de datos utilizadas y su finalidad en este estudio.

4.2. Análisis clínico

Para llevar a cabo esta clasificación se utilizaron los criterios de la guía clínica del ACMG. Estos criterios de clasificación presentan distintos grados de evidencia de patogenicidad y de benignidad. De forma que mediante un algoritmo que utiliza la combinación de ambos se pueden clasificar las variantes (109).

III. METODOLOGÍA

1) Evidencias de patogenicidad

a) Muy fuerte

- i) PVS1: variante nula (sin sentido, con alteración del marco de lectura, se alteran ± 1 sitios de *splicing*, codón de inicio, delección de uno o varios exones) en un gen en el que la pérdida de función es un mecanismo conocido de enfermedad.

Advertencias:

- Atención a los genes en los que la pérdida de función no es un mecanismo conocido de enfermedad.
- Precaución a la hora de interpretar las variantes con pérdida de función en el extremo 3' o al final del gen.
- Atención en las variantes de *splicing* que predicen la pérdida de un exón pero que dejan intacta el resto de la proteína.
- Precaución cuando haya presencia de múltiples transcritos.

b) Fuerte

- i) PS1: el mismo cambio de aminoácido ha sido establecido como variante patogénica independientemente del cambio de nucleótido.

Advertencia: precaución con los cambios que afectan el *splicing* en lugar de un cambio a nivel proteico.

- ii) PS2: variante *de novo* en una paciente con la enfermedad, pero sin historia familiar (se debe confirmar tanto la maternidad como la paternidad).
- iii) PS3: estudios funcionales *in vitro* o *in vivo* bien establecidos que apoyen el efecto dañino en el gen o su producto.
- iv) PS4: la prevalencia de la variante en individuos afectados está incrementada significativamente al compararla con la prevalencia en los controles.

c) Moderado

- i) PM1: localizado en un punto caliente mutacional y/o un dominio funcional bien establecido.
- ii) PM2: ausente en controles en el proyecto 1000 Genomas, *Exome Sequencing Project* o *Exome Aggregation Consortium*.

III. METODOLOGÍA

Advertencia: los datos poblacionales para inserciones/deleciones pueden ser poco adecuados si se obtienen por secuenciación de nueva generación.

- iii) PM3: para enfermedades recesivas, detectada en trans con una variante patogénica.
 - iv) PM4: la longitud de la proteína cambia como resultado de inserción/delección en zonas no repetidas o por variantes con pérdida del codón de parada.
 - v) PM5: nueva variante de tipo *missense* en el mismo residuo don de un cambio *missense* distinto se ha definido como patogénico.
 - vi) PM6: la variante se asume como de *nov*, pero sin confirmación de la paternidad y maternidad.
- d) Secundario
- i) PP1: segregación de la variante con la enfermedad en varios familiares afectados en un gen relacionado con la enfermedad.
 - ii) PP2: variante *missense* en un gen con una baja tasa de variantes *missense* benignas y en el que las variantes tipo *missense* son un mecanismo común de enfermedad.
 - iii) PP3: varias líneas de evidencia computacional apoyan un efecto deletéreo en un gen o su producto.
Advertencia: dado que muchos algoritmos *in silico* usan la misma entrada o parecidas cada algoritmo no debe contabilizarse como un criterio independiente.
 - iv) PP4: el fenotipo del paciente o la historia familiar es altamente específica para una enfermedad con una única etiología genética.
 - v) PP5: fuentes reconocidas informaron de manera reciente dicha variante como patogénica, pero no hay evidencia disponible para que el laboratorio realice una evaluación independiente.

2) Evidencias de benignidad

a) Independiente

- i) BA1: la frecuencia alélica es >5% en el proyecto 1000 genomas, *Exome Sequencing Project* o en el *Exome Aggregation Consortium*.

b) Fuerte

III. METODOLOGÍA

- i) BS1: la frecuencia alélica es mayor que la esperada para dicha enfermedad.
 - ii) BS2: se ha observado en adultos sanos para enfermedades recesivas (en homocigosis), dominantes (en heterocigosis) o ligadas al cromosoma X (en hemicigosis) para las que se espera una penetrancia completa temprana.
 - iii) BS3: estudios funcionales *in vitro* o *in vivo* muestran que no se produce un efecto dañino en la función de la proteína o *splicing*. Advertencia: la presencia de fenocopias en fenotipos comunes puede simular una ausencia de segregación entre individuos afectados. Además, puede haber familias con más de una variante patogénica que contribuyan a una enfermedad de herencia autosómica dominante, lo que también puede confundir sobre una aparente ausencia de segregación.
 - iv) BS4: ausencia de segregación en miembros afectados de una familia.
- c) Secundario
- i) BP1: variante *missense* en un gen en el que las variantes truncadas son las que principalmente causan enfermedad.
 - ii) BP2: se observa en trans con una variante patogénica en una enfermedad dominante de penetrancia completa o se observa en cis con una variante patogénica en una enfermedad con cualquier tipo de herencia.
 - iii) BP3: inserciones/deleciones en regiones repetitivas sin función conocida.
 - iv) BP4: múltiples líneas de evidencia computacional sugieren que no se altera el gen ni su producto (conservación, evolución, impacto en el *splicing*, etc.)
 - v) BP5: la variante se ha hallado en un individuo con una base molecular alternativa para la enfermedad.
 - vi) BP6: fuentes de confianza clasifican la variante como benigna, pero no hay evidencia disponible para realizar una evaluación independiente.

III. METODOLOGÍA

vii) BP7: es una variante sinónima y los algoritmos de predicción del *splicing* predicen que no se alteran los sitios consenso ni se crea un nuevo sitio de *splicing* ni se trata de un nucleótido altamente conservado.

La combinación de criterios para la clasificación de las variantes encontradas se resume en la siguiente tabla (**Tabla III.4**).

Combinación de criterios	
Patogénica	1 muy fuerte (PVS1) junto a <ul style="list-style-type: none"> ▪ ≥ 1 fuerte (PS1-PS4) ▪ 2 moderados (PM1-PM6) ▪ 1 moderado (PM1-PM6) y un secundario (PP1-PP5) ▪ ≥ 2 secundarios (PP1-PP5)
	≥ 2 fuertes (PS1-PS4)
	1 fuerte (PS1-PS4) junto a <ul style="list-style-type: none"> ▪ ≥ 3 moderados (PM1-PM6) ▪ 2 moderados (PM1-PM6) y ≥ 2 secundarios ▪ 1 moderado (PM1-PM6) y ≥ 4 secundarios
Probablemente patogénica	1 muy fuerte (PVS1) y 1 moderado (PM1-PM6)
	1 fuerte (PS1-PS4) y 1-2 moderado (PM1-PM6)
	1 fuerte (PS1-PS4) y ≥ 2 secundarios (PP1-PP5)
	≥ 3 moderados (PM1-PM6)
	2 moderados (PM1-PM6) y ≥ 2 secundarios (PP1-PP5)
	1 moderado (PM1-PM6) y ≥ 4 secundarios (PP1-PP5)
Benigna	1 independiente (BA1)
	≥ 2 fuertes (BS1-BS4)
Probablemente benigna	1 fuerte (BS1-BS4) y 1 secundario (BP1-BP7)
	≥ 2 secundarios (BP1-BP7)
Significado clínico desconocido	No se cumplen los criterios mencionados anteriormente
	Los criterios de benignidad y patogenicidad son contradictorios

Tabla III.4. Reglas de combinación de criterios para clasificar variantes.

4.2.1. Software de apoyo a las decisiones clínicas: *VarSome*

VarSome es un proyecto impulsado por la comunidad científica que incluye información de más de 130 bases de datos externas cuya finalidad es compartir dicha información sobre variantes genéticas humanas. Constituye una herramienta muy útil para caracterizar variantes conocidas y desconocidas, pues se puede introducir cualquier tipo de variante en formato HGVS o localización genómica.

Esta herramienta incluye un clasificador automático que evalúa la patogenicidad de las variantes según las guías de la ACMG. Las variantes son clasificadas como patogénicas, probablemente patogénicas, probablemente benignas, benignas o de significado clínico desconocido. La clasificación otorgada por *VarSome* se revisó en función de las características de la familia.

4.3. Priorización de las variantes de significado clínico desconocido halladas

Después de la clasificación de las variantes obtenidas, se llevó a cabo la investigación clínica de las VUS. El resultado de esta investigación se traduce en la priorización de las VUS detectadas con mayor probabilidad de causar un efecto deletéreo en la proteína. La priorización de las VUS se realiza en función de la implicación clínica de los genes con la enfermedad, las estimaciones de patogenicidad obtenidas en las herramientas bioinformáticas de apoyo a las decisiones clínicas y la información publicada en la bibliografía.

En este estudio se ha seguido el algoritmo de priorización de VUS diseñado en el LDG del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (**Figura III.7**), para ello se utilizan unos criterios adaptados de un compendio de publicaciones sobre predicción de patogenicidad de variantes genéticas (107,111,174–181).

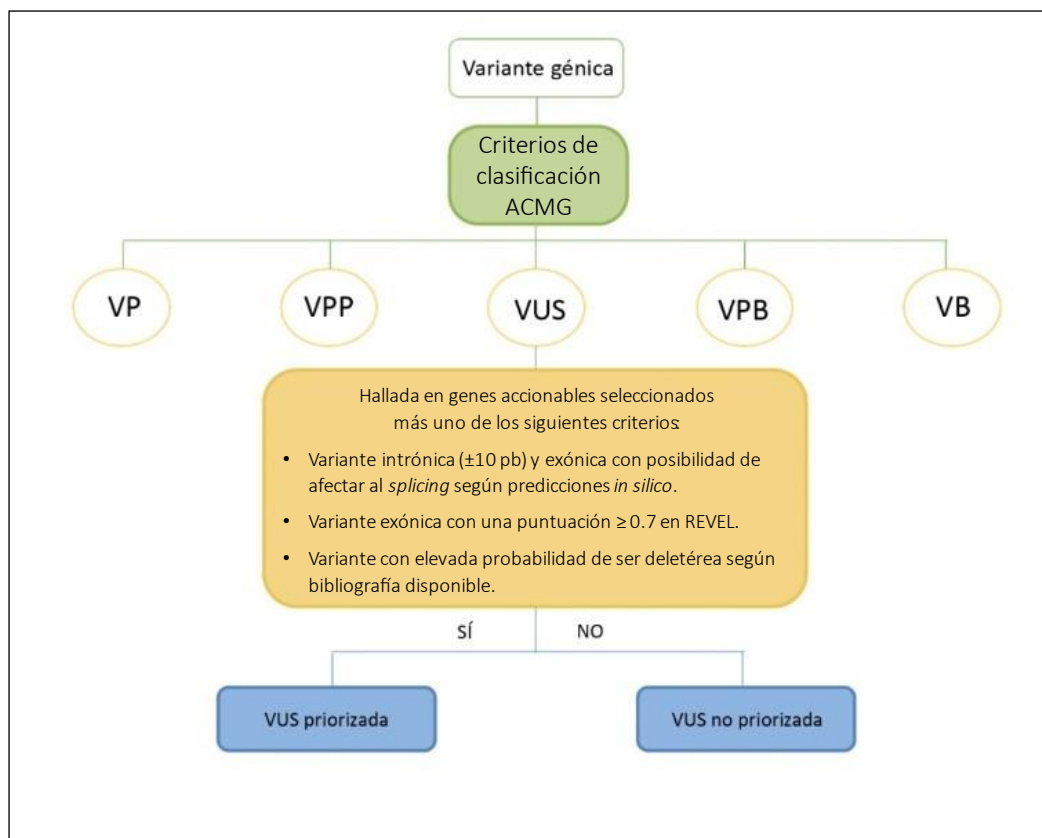


Figura III.7. Algoritmo de priorización de VUS del LDG del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. VP: variante patogénica, VPP: variante probablemente patogénica, VUS: variante de significado clínico desconocido, VPB: variante probablemente benigna, VB: variante benigna, pb: pares de bases. Tomado de Rosado Jimenez, L. (168).

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las variantes halladas se han introducido en una base de datos anonimizada junto a la información clínicamente relevante. En esta base de datos se han excluido datos que faciliten la identificación de las pacientes de acuerdo con la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y Garantía de los Derechos Digitales. Los análisis estadísticos se han realizado con el programa *IBM SPSS Statistics v.27* (SPSS Inc., Chicago, IL).

Para el análisis estadístico descriptivo de las variables cualitativas se realizó el cálculo de frecuencias absolutas y relativas. Por otro lado, para el análisis de las variables cuantitativas se calculó la media, rango y desviación típica.

5.1. Análisis inferencial

La normalidad de las variables cuantitativas se ha comprobado con el test Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas (homocedasticidad) mediante la prueba de Levene. En función de los resultados obtenidos con estas pruebas se aplicaron test paramétricos para distribuciones normales y test no paramétricos para distribuciones no normales.

- Pruebas paramétricas:
 - Variable cuantitativa de distribución normal: prueba t de Student.
- Pruebas no paramétricas:
 - Variable cualitativa dicotómica: test U de Mann-Whitney.
 - Variable cualitativa con más de 2 categorías: prueba chi-cuadrado de Pearson.

El contraste de hipótesis de variables cualitativas se ha realizado mediante test de frecuencias para estudiar si la frecuencia de observaciones era estadísticamente significativa entre los grupos. La comparación de grupos con variables cualitativas se realizó mediante tablas de contingencia y aplicando test chi-cuadrado.

Se ha utilizado un análisis bivalente para comparar poblaciones independientes, considerando diferencias estadísticamente significativas si $p < 0.05$.

5.2. Análisis de supervivencia

Inicialmente se realizó un análisis univariante, calculando las distintas variables analizadas mediante el método Kaplan-Meier. Para la comparación estadística de la supervivencia en función del resultado de cada una de las variables se utilizó el test de log-rank. Se han incluido como covariables aquellos factores que resultaron estadísticamente significativos en el análisis de supervivencia. Las diferencias estadísticamente significativas se consideraron con valores de $p < 0.05$.

6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El proyecto de investigación actual ha sido valorado y autorizado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (**Anexo A**).

Antes de la realización del estudio genético se informó a todos los pacientes del objetivo y consecuencias del estudio, así como, de las limitaciones del mismo. Después del entendimiento de la prueba, todos firmaron un consentimiento informado (**Anexo B**) previo a la extracción de sangre periférica necesaria para la realización de esta investigación relacionada con el cáncer hereditario.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

1. POBLACIÓN BRCA

1.1. Descripción de la muestra

De los 86 CI analizados, 49 (57%) procedieron del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca y 37 (43%) del Hospital General Universitario Morales Meseguer. El total de los CI incluidos en esta población fueron diagnosticados de CO, de los cuales 2 de ellos (2,3%) fueron clasificados como moderadamente diferenciados, siendo el resto 84 (97,7%) diferenciados de alto grado.

La media de edad al diagnóstico de la población BRCA fue de $58 \pm 10,4$ años con un máximo de 78 y un mínimo de 34 años. Más de la mitad de los CI (51,2%) tienen una edad comprendida entre 51 y 65 años (**Tabla y Figura IV.1**).

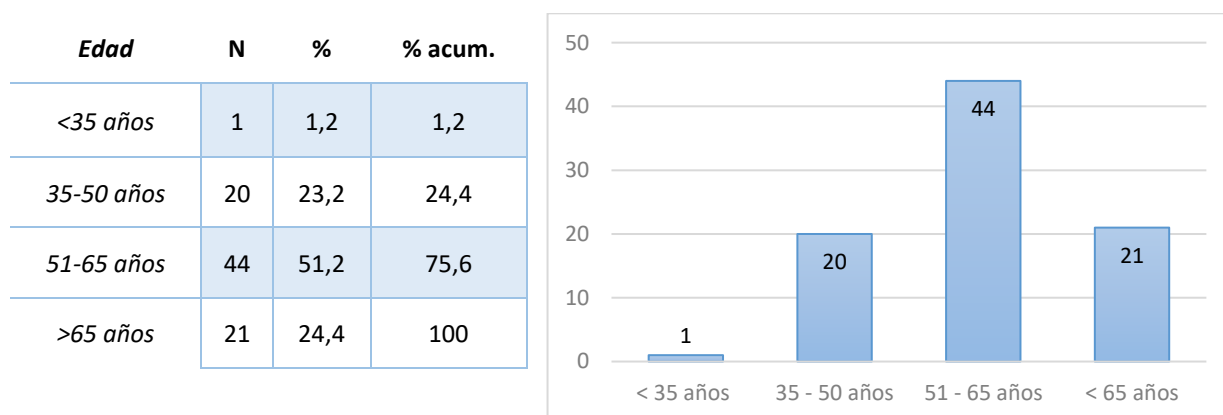


Tabla y figura IV.1. Distribución de los CI de la población BRCA según el grupo de edad.

Los subtipos histológicos del CO diagnosticado a los CI fueron; 79 (92%) de tipo II, de los cuales 74 (86%) fueron serosos y 5 (6%) endometrioides de alto grado. De tipo I se diagnosticaron 7 (8%), de los cuales 5 (6%) fueron de células claras y 2 (2%) fueron mucinosos. De los 74 CI con diagnóstico de CO seroso, un total de 5 (6%) CI presentaron co-afectación con otro tipo de cáncer ginecológico, 1 (1%) seroso de alto grado junto a células claras, 2 (2%) serosos de alto grado junto a endometrioide y 2 (2%) serosos junto a cáncer de trompa de Falopio. La distribución de los subtipos histológicos se encuentra representada en la siguiente figura (**Tabla y Figura IV.2**).

IV. RESULTADOS

	Subtipo histológico	N	%	% acum.
TIPO II	Seroso de alto grado	74	86	86
	Endometrioide de alto grado	5	6	92
TIPO I	Células claras	5	6	98
	Mucinoso	2	2	100

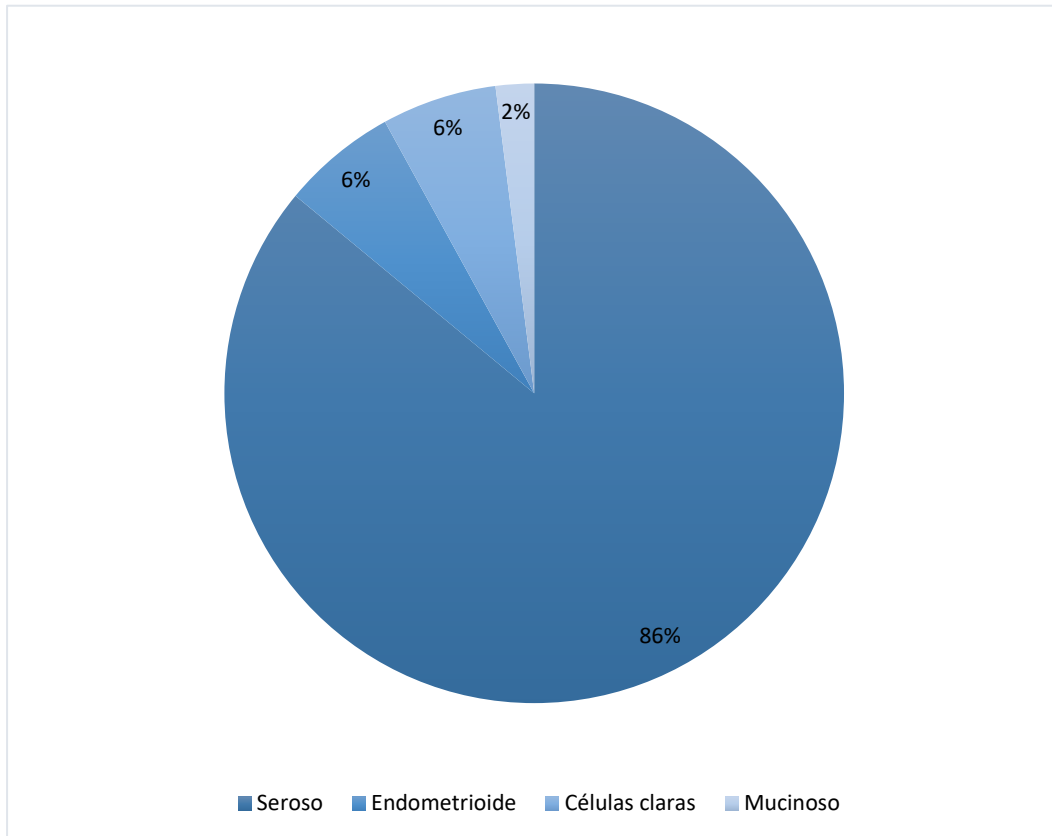


Tabla y figura IV.2. Distribución de los CI de la población BRCA según el subtipo histológico de CO.

La mayor parte de los CI presentó al momento del diagnóstico un estadio FIGO avanzado, considerando avanzado los estadios III y IV. La distribución de los CI según el estadiaje y su representación gráfica se presentan en la siguiente tabla y figura (**Tabla y Figura IV.3**).

IV. RESULTADOS

<i>Estadio FIGO</i>		n	%	% acum.
<i>Estadio I</i>	IA	2	2,3	2,3
	IB	1	1,2	3,5
	IC	1	1,2	4,7
<i>Estadio II</i>	IIA	1	1,2	5,9
	IIB	2	2,3	8,2
	IIC	1	1,2	9,4
<i>Estadio III</i>	IIIA	2	2,3	11,7
	IIIB	7	8,1	19,8
	IIIC	45	52,3	72,1
<i>Estadio IV</i>	IV	24	27,9	100

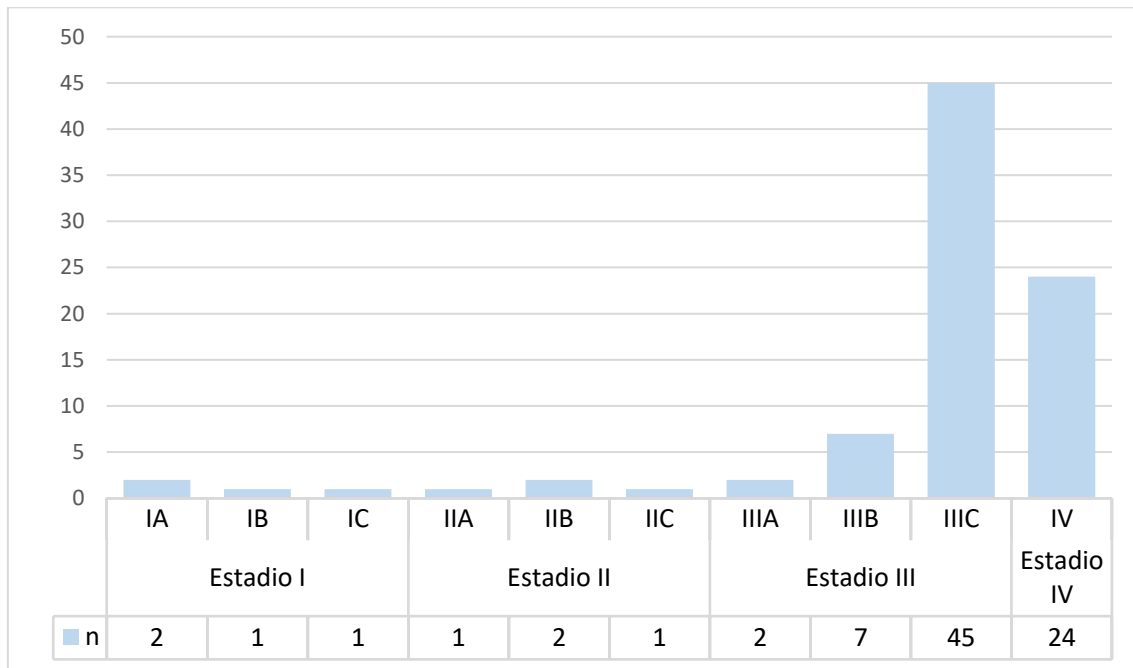


Tabla y figura IV.3. Distribución de los CI de la población BRCA según el estadio FIGO en el diagnóstico.

Por último, la respuesta al tratamiento con quimioterapia basada en platino se clasificó en respuestas sensibles 69 (80,2%), parcialmente sensibles 5 (5,8%) y resistentes 12 (14%) (**Figura IV.4**).

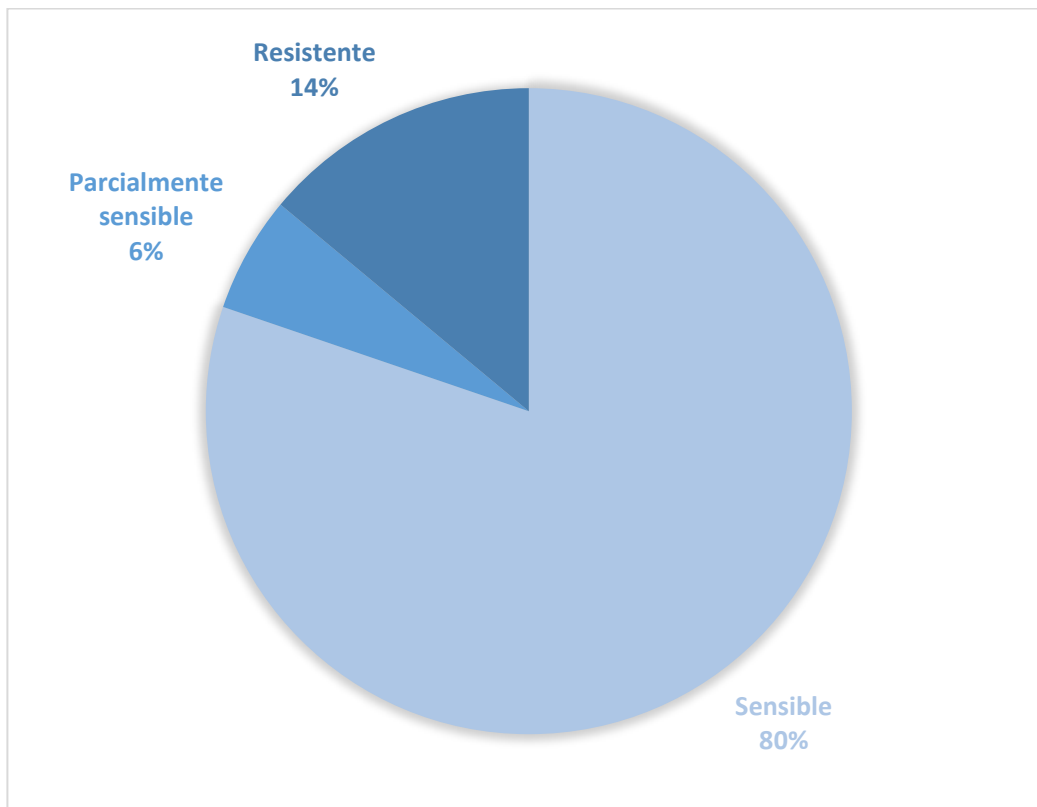


Figura IV.4. Distribución de los CI de la población BRCA según la respuesta al tratamiento.

1.2. Estudio genético BRCA

1.2.1. Rendimiento diagnóstico

Los 86 CI de la población BRCA fueron seleccionados utilizando los criterios de la SEOM para el análisis molecular de los genes *BRCA1* y *BRCA2*. En el presente estudio se registraron un total de 15 variantes clínicamente relevantes en un total de 20 CI, lo que supuso un 23,3% del total de los 86 CI analizados.

1.2.2. Correlación genotipo-fenotipo

La media de edad al diagnóstico de los 20 CI con variantes patogénicas halladas en *BRCA1* y *BRCA2* fue de $54,6 \pm 11,7$ años con un máximo de 76 y un mínimo de 36 años.

El subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en todos los casos de tipo II y seroso. De los cuales, todos fueron de grado 3 o alto grado

IV. RESULTADOS

excepto un CI clasificado de grado 2 o moderadamente diferenciado. Además, uno de ellos presentó cáncer de trompa de Falopio de forma síncrona.

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, todas las variantes patogénicas de *BRCA1* y *BRCA2* se hallaron en CO avanzado, considerando avanzado los estadios III y IV.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, se obtuvieron respuestas sensibles en 17 (85%) y resistente en 3 (15%).

1.2.3. Tipos de variantes detectadas

Tras llevar a cabo el estudio genético correspondiente a la población BRCA, se encontraron 15 variantes clínicamente relevantes en 20 CI (23,3%). De los cuales, 9 (45%) se hallaron en el gen *BRCA1* y 11 (55%) en el gen *BRCA2*.

Desde el punto de vista molecular, se hallaron 6 (40%) variantes patogénicas diferentes en *BRCA1* y 9 (60%) en *BRCA2*. Respecto al tipo de mutación de estas variantes, 11 (73%) se correspondieron con mutaciones *frameshift*, 2 (13%) con mutaciones *nonsense*, 1 (7%) mutación *missense* y 1 (7%) mutación *large genomic rearrangement* (LGR) (**Figura IV.5**).

IV. RESULTADOS

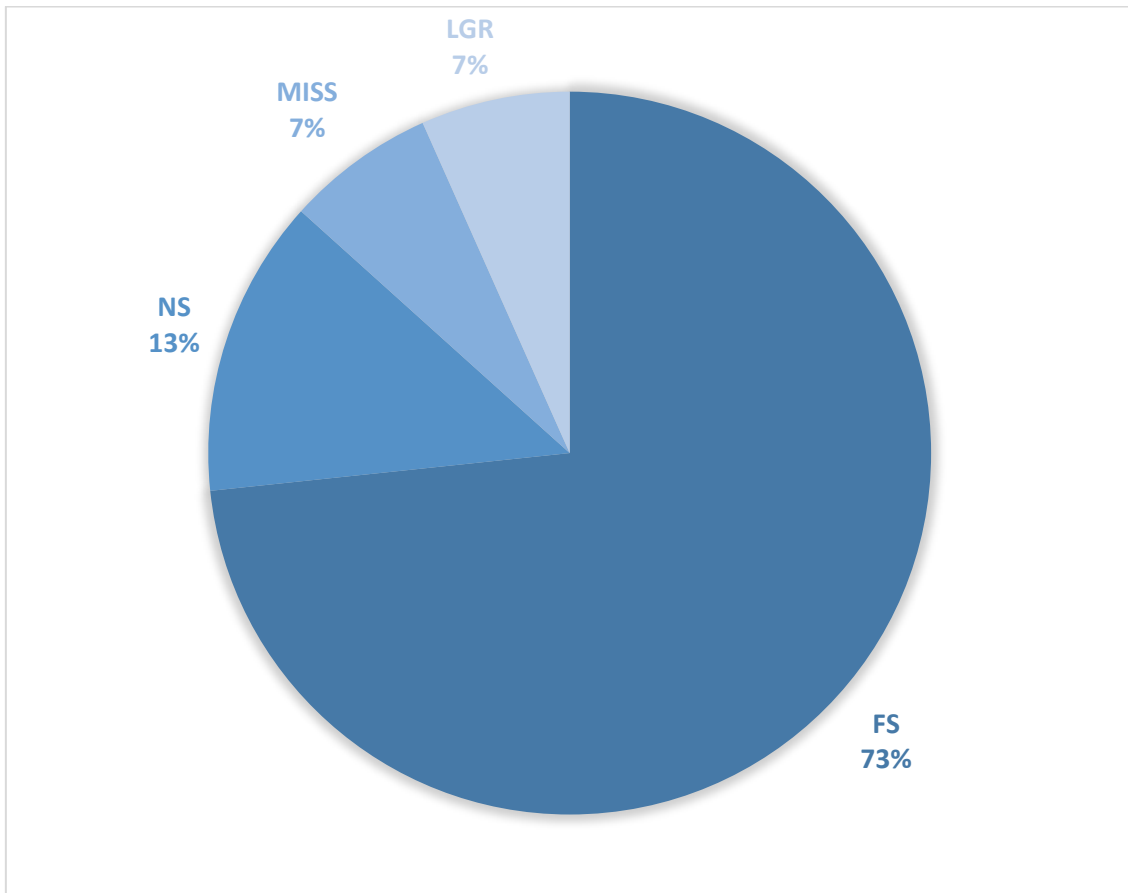


Figura IV.5. Distribución de las variantes patogénicas halladas según su clasificación molecular en la población BRCA. FS: *frameshift* o cambio de marco de lectura, NS: *nonsense* o sin sentido, MISS: *missense* o con cambio de sentido, LGR: gran reordenamiento genético.

Desde el punto de vista clínico, además de las 15 (79%) variantes patogénicas, se hallaron 4 (21%) variantes clasificadas de significado clínico desconocido o VUS. Sumando un total de 19 variantes diferentes en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. De las 4 VUS encontradas, 3 (75%) de ellas se hallaron en *BRCA2* y 1 (25%) en *BRCA1*. Desde el punto de vista molecular, las VUS se correspondieron con 3 mutaciones tipo *missense* (2 en *BRCA2* y 1 en *BRCA1*) y 1 mutación en la zona de regulación de expresión génica del gen *BRCA2* (5'UTR, *untranslated upstream* o región no traducida 5'). El resumen de la clasificación molecular y clínica se muestra en la siguiente tabla (**Tabla IV.4**)

IV. RESULTADOS

	<i>BRCA1</i>		<i>BRCA2</i>	
	VP (CI)	VUS (CI)	VP (CI)	VUS (CI)
Frameshift	4 (7)	-	7 (9)	-
Missense	1 (1)	1 (1)	-	2 (2)
Nonsense	-	-	2 (2)	-
LGR	1 (1)	-	-	-
5'UTR	-	-	-	1 (1)
TOTAL	6 (9)	1 (1)	9 (11)	3 (3)

Tabla IV.4. Resumen de las variantes encontradas en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. VP: variante patogénica, VUS: variante de significado clínico desconocido, LGR: gran reordenamiento genético, 5'UTR: región no traducida 5'. Se muestra entre paréntesis el número total de CI con las variantes.

Para cada variante detectada se realizó el análisis molecular del cambio producido, revisión bibliográfica disponible sobre la variante, se comprobaron los criterios para su clasificación según la ACMG y se realizó un estudio genotipo-fenotipo.

1.2.4. Variantes patogénicas halladas en *BRCA1*

Las 6 variantes patogénicas o probablemente patogénicas encontradas en el gen *BRCA1* se muestran en la tabla y figura que aparecen a continuación (**Tabla IV.5** y **figura IV.6**).

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/ Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	ClinVar	HGMD	Criterios ACMG	Tipo de variante	Familia	CO	Estadio FIGO	Edad (años)	Respuesta a platino
BRCA1	1	c.68_69delAG	p.Glu23ValfsTer17	rs80357914	VP	VP CD951600	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-10	COSAG	IV	53	SENS
									OL-52	COSG2	IIIC	75	SENS
									OL-80	COSAG	IV	61	RESIST
	10	c.1224_1225insA	p.Val409Serfs	ND	ND	ND	ND	FS	OL-11	COSAG	IIIC	38	SENS
		c.2921T>A	p.Leu974Ter	rs80356872	VP	VP CM14891	PVS1, PP5, PM2	NS	OL-33	COSAG	IIIC	55	SENS
		c.3331_3334delCAAG	p.Gln1111AsnfsTer5	rs80357701	VP	VP CD961838	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-19	COSAG	IIIC	36	SENS
									OL-67	COSAG	IIIC	53	SENS
		c.3583delC	p.His1195IlefsTer15	rs273900710	VP	VP CD86255	PVS1, PM1, PM2	FS	OL-21	COSAG	IIIC	41	RESIST
	-	Del ex21-24	p.?	-	-	VP CG065884	-	LGR	OL-81	COSAG	IIIC	51	SENS

Tabla IV.5. Variantes patogénicas halladas en *BRCA1* en la población BRCA. VP: variante patogénica, ND: no descrita, FS: *frameshift* o cambio de marco de lectura, NS: *nonsense* o sin sentido, MISS: *missense* o con cambio de sentido, LGR: gran reordenamiento genético, COSAG: cáncer de ovario seroso de alto grado, COSG2: cáncer seroso de ovario de grado 2, SENS: sensible, RESIST: resistente.

IV. RESULTADOS

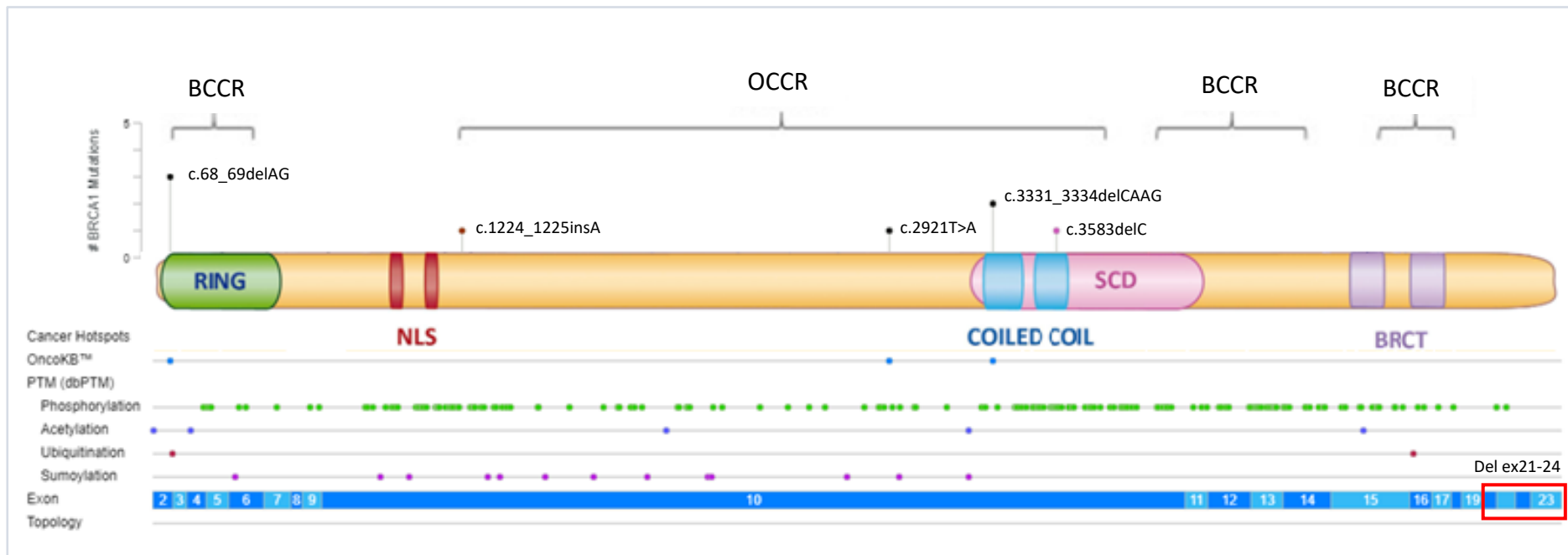


Figura IV.6. Distribución de las variantes patogénicas halladas en *BRCA1* en la población BRCA, sus principales dominios y regiones asociadas al cáncer de mama (BCCR) y al cáncer de ovario (OCCR). Figura modificada de Stella et al (182). Las localizaciones proteicas de los dominios funcionales se obtuvieron de la herramienta informática Mutation Mapper-cBioPortal for Cancer Genomics.

https://www.cbioportal.org/mutation_mapper?standaloneMutationMapperGeneTab

IV. RESULTADOS

1.2.4.1. c.68_69delAG

La variante c.68_69delAG es la delección de los nucleótidos AG en el exón 2 del gen *BRCA1*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mutaciones terminadoras conocida como mecanismo NMD (*Nonsense Mediated Decay*). Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito en 3 CI de la población BRCA y en el CI OL-173 de la población PANEL, en total 4 (2%) CI del total de 200 estudiados entre las dos poblaciones, es la variante más recurrente de este estudio. Además, según la bibliografía, se puede considerar la variante genética con la frecuencia más elevada a nivel mundial y la segunda variante más prevalente en población española relacionada con SCMOH (183,184).

1.2.4.2. c.1224_1225insA

La variante c.1224_1225insA es una inserción de una adenina en el exón 10 del gen *BRCA1*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada con la pérdida del 78% de los aminoácidos o la degradación del ARN mensajero por mecanismo NMD. Esta VP se describió en el trabajo de Sánchez Henarejos P. "Impacto pronóstico de las mutaciones de *BRCA1* y *BRCA2* en el cáncer de ovario hereditario" (185), entonces se clasificó como VP a pesar de no estar descrita en ninguna base de datos. Actualmente tampoco existen registros de esta variante.

1.2.4.3. c.2921T>A

La variante c.2921T>A es un cambio de una timina por una adenina en la posición 2921 del exón 10 del gen *BRCA1*. Esta alteración da lugar al cambio de una leucina por un codón de parada prematuro en la posición 974 de 1864 de la proteína *BRCA1*. Esta variante está clasificada como VP según

IV. RESULTADOS

la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población BRCA.

1.2.4.4. c.3331_3334delCAAG

La variante c.3331_3334delCAAG es la delección de los nucleótidos CAAG en el exón 10 del gen *BRCA1*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Además, esta variante se ha descrito en 2 CI de esta población. Esta variante es una de las 5 variantes genéticas más recurrentes en familias españolas con SCMOH y también ha sido detectada una frecuencia significativamente elevada en la Región de Murcia (168).

1.2.4.5. c.3583delC

La variante c.3583delC es la delección de una citosina en el exón 10 del gen *BRCA1*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito en 1 CI de la población BRCA y en el CI OL-91 de la población PANEL, en total 2 (1%) CI del total de 200 estudiados entre las dos poblaciones.

1.2.4.6. Del ex21-24

Este gran reordenamiento genético consiste en la pérdida de los exones 21, 22, 23 y 24 del gen *BRCA1*. Algunos reordenamientos genómicos en *BRCA1* pueden ser responsables del SCMOH. Aunque el espectro y la prevalencia de estas variantes puede variar entre poblaciones, en población española se ha relacionado la pérdida de los exones 23 y 24 con el SCMOH (186,187). Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población BRCA.

1.2.5. Variantes patogénicas halladas en *BRCA2*

Las 9 variantes patogénicas o probablemente patogénicas encontradas en el gen *BRCA2* se muestran en la tabla y figura que aparecen a continuación (**Tabla IV.6** y **figura IV.7**).

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/ Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	ClinVar	HGMD	Criterios ACMG	Tipo de variante	Familia	CO	Estadio FIGO	Edad (años)	Respuesta a platino
BRCA2	10	c.1310_1313delAAGA	p.Lys437IlefsTer22	rs80359277	VP	VP CD972071	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-84	COSAG	IV	70	SENS
		c.1608dupT	p.Glu537Ter	rs276174811	VP	VP CI086614	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-88	COSAG	IIIC	49	SENS
	11	c.3264dupT	p.Gln1089SerfsTer10	rs80359380	VP	VP CI020600	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-05	COSAG	IIIC	58	SENS
									OL-36	COSAG + CTF	IIIB	57	SENS
		c.3455T>G	p.Leu1152Ter	rs80358593	VP	VP CM111041	PVS1, PP5, PM2	NS	OL-73	COSAG	IIIB	50	SENS
		c.4936_4939delAAAG	p.Glu1646GlnfsTer23	rs80359473	VP	VP CD043795	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-69	COSAG	IIIC	54	SENS
									OL-74	COSAG	IIIC	65	SENS
		c.4965C>G	p.Tyr1655Ter	rs80358721	VP	VP CM076035	PVS1, PP5, PM2	NS	OL-25	COSAG	IIIC	56	SENS
		c.5073dupA	p.Trp1692MetfsTer3	rs80359479	VP	VP CI011228	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-82	COSAG	IV	76	SENS
		c.6024dupG	p.Gln2009AlafsTer9	rs80359554	VP	VP CI057920	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-53	COSAG	IV	74	RESIST
23	c.9026_9030delTATCA	p.Tyr3009SerfsTer7	rs80359741	VP	VP CD961862	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-85	COSAG	IIIB	43	SENS	

Tabla IV.6. Variantes patogénicas halladas en *BRCA2* en la población BRCA. VP: variante patogénica, FS: *frameshift*, NS: variante *nonsense* o sin sentido, COSAG: cáncer de ovario seroso de alto grado, CTF: cáncer de trompa de Falopio, SENS: sensible, RESIST: resistente.

IV. RESULTADOS

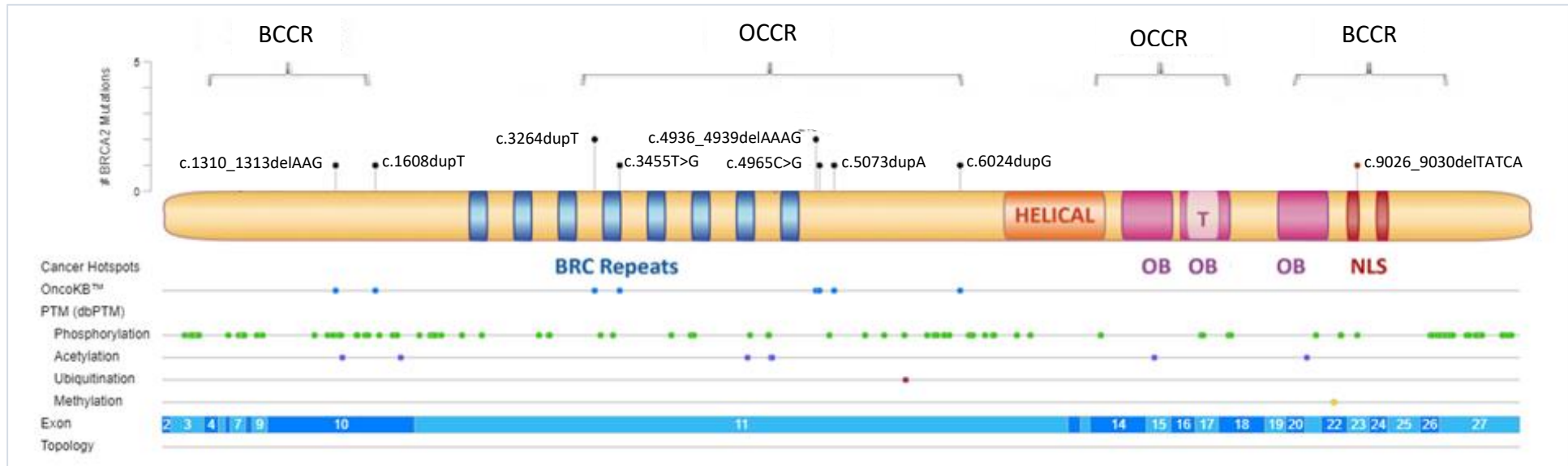


Figura IV.7. Distribución de las variantes patogénicas halladas en *BRCA2* en la población BRCA, sus principales dominios y regiones asociadas al cáncer de mama (BCCR) y al cáncer de ovario (OCCR). Figura modificada de Stella et al (182). Las localizaciones proteicas de los dominios funcionales se obtuvieron de la herramienta informática Mutation Mapper-cBioPortal for Cancer Genomics.

https://www.cbioportal.org/mutation_mapper?standaloneMutationMapperGeneTab

IV. RESULTADOS

1.2.5.1. c.1310_1313delAAGA

La variante c.1310_1313delAAGA es la delección de los nucleótidos AAGA en el exón 10 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Aunque esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población BRCA, es una variante de alta frecuencia en familias afectadas de SCMOH en la región noreste de Marruecos y en estudios de la Región de Murcia se ha vinculado a familias del norte de África (168).

1.2.5.2. c.1608dupT

La variante c.1608dupT es una duplicación de la timina que se encuentra en la posición 1608 del exón 10 del gen *BRCA2*. Esta alteración sustituye un residuo de glutamina por un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada con la pérdida del 84% de los aminoácidos o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito en 1 CI de la población BRCA y en 2 CI (OL-128 y OL-148) de la población PANEL, en total 3 (1,5%) CI del total de 200 estudiados entre las dos poblaciones. Esta variante supone una de las más recurrentes de este estudio, sin embargo, no aparece como variante de alta frecuencia en estudios de población española (184).

1.2.5.3. c.3264dupT

La variante c.3264dupT es una duplicación de la timina que se encuentra en la posición 3264 del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada

IV. RESULTADOS

prematureo que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito en 2 CI de la población BRCA y es una variante recurrente en familias SCMOH en España con una prevalencia significativa en la Comunidad Valenciana y la Región de Murcia (56,188).

1.2.5.4. c.3455T>G

La variante c.3455T>G es un cambio de una timina por una guanina en la posición 3455 del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar al cambio de una leucina por un codón de parada prematuro en la posición 1152 de 3419 de la proteína BRCA2. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Aunque esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población BRCA, es una variante recurrente en familias SCMOH de la Región de Murcia (168).

1.2.5.5. c. 4936_4939delAAAG

La variante c.4936_4939del es la delección de la secuencia AAAG en la posición 4936_4939 del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población BRCA.

1.2.5.6. c.4965C>G

La variante c.4965C>G es un cambio de una citosina por una guanina en la posición 4965 del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar al

IV. RESULTADOS

cambio de una tirosina por un codón de parada prematuro en la posición 1655 de 3419 de la proteína BRCA2. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito en 1 CI de la población BRCA y en el CI OL-105 de la población PANEL, en total 2 (1%) CI del total de 200 estudiados entre las dos poblaciones.

1.2.5.7. c.5073dupA

La variante c.5073dupA es una duplicación de la adenina que se encuentra en la posición 5073 del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito en 1 CI de la población BRCA y en el CI OL-169 de la población PANEL, en total 2 (1%) CI del total de 200 estudiados entre las dos poblaciones.

1.2.5.8. c.6024dupG

La variante c.6024dupG es la duplicación de la guanina que se encuentra en la posición 6024 del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población BRCA y posee un origen en el suroeste de Navarra (174).

IV. RESULTADOS

1.2.5.9. c.9026_9030delTATCA

La variante c.9026_9030del es la delección de la secuencia TATCA en la posición 9026_9030 del exón 23 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito en 1 CI de la población BRCA y en el CI OL-218 de la población PANEL, en total 2 (1%) CI del total de 200 estudiados entre las dos poblaciones. Esta variante es una de las 3 variantes genéticas más recurrentes en familias españolas con SCMOH y destaca de forma recurrente en la Región de Murcia (180).

1.2.6. Correlación genotipo-fenotipo

1.2.6.1. Genotipo-fenotipo *BRCA1*

La media de edad al diagnóstico de los 9 CI con variantes patogénicas halladas en *BRCA1* fue de 51,5±12 años con un máximo de 75 y un mínimo de 36 años.

El subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en todos los casos de tipo II y seroso. De los cuales, todos fueron de grado 3 o alto grado excepto un CI clasificado de grado 2 o moderadamente diferenciado. Ninguno de los CI presentó otro tipo de cáncer ginecológico.

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, todas las variantes patogénicas de *BRCA1* se hallaron en CO avanzado, considerando avanzado los estadios III y IV.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, se obtuvieron respuestas sensibles en 7 (78%) y resistente en 2 (22%).

IV. RESULTADOS

1.2.6.2. Genotipo-fenotipo *BRCA2*

La media de edad al diagnóstico de los CI con variantes patogénicas halladas en *BRCA2* fue de $59,3 \pm 10,7$ años con un máximo de 76 y un mínimo de 43 años.

El subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en todos los casos seroso de alto grado. De los cuales, uno de ellos presentó cáncer de trompa de Falopio de forma sincrona.

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, todas las variantes patogénicas de *BRCA1* se hallaron en CO avanzado, considerando avanzado los estadios III y IV.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, se obtuvieron respuestas sensibles en 10 (91%) y resistente en 1 (9%).

1.2.7. Variantes con significado clínico desconocido

De las 19 variantes halladas en la población BRCA, 4 variantes encontradas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* se clasificaron como variantes de significado clínico desconocido o VUS. De las cuales, 1 (25%) se halló en el gen *BRCA1* y 3 (75%) en el gen *BRCA2*.

Las VUS obtenidas en la población BRCA se priorizaron siguiendo el algoritmo propio del LDG del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Publicado por Rosado Jiménez L. en “Estudio de variantes genéticas recurrentes y priorización de variantes de significado clínico desconocido asociadas al síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario en familias de la Región de Murcia”. Una vez aplicado el algoritmo de priorización de VUS ninguna de las variantes halladas se clasificó como VUS priorizada. Las VUS de la población BRCA se muestran en la tabla que aparecen a continuación (**Tabla IV.7**).

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/ Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	Tipo de variante	<i>ClinVar</i>	HGMD	<i>VarSome</i>	Criterios ACMG	OCCR/ BCCR	Reclasificación	Familia
BRCA1	10	c.3605A>G	p.Tyr1202Cys	ND	MISS	ND	ND	VUS	PM2, BP4	OCCR	VUS	OL-85
BRCA2	-	c.39-12_39- 10delTCT	-	rs276174798	5'UTR	VUS(2);VPB(3)	VUS CD1619579	VUS	PM2, BP4	-	VUS	OL-79
	9	c.754G>A	p.Asp252Asn	rs549269828	MISS	VUS	ND	VUS	PM2, BP4	BCCR	VUS	OL-80
	11	c.3032C>G	p.Thr1011Arg	rs80358548	MISS	VP(1);VUS(7);VPB(3)	VUS CM035690	VUS	PM2, PP3	OCCR	VUS	OL-21

Tabla IV.7. Variantes de significado clínico desconocido halladas en la población BRCA. VUS: variante de significado clínico desconocido, ND: no descrita, MISS: variante missense o con cambio de sentido, 5'UTR: región no traducida 5', PM2: variante ausente en controles, BP4: variante con escasa evidencia de alteración del producto, PP3: variante con evidencia computacional de patogenicidad.

1.3. Análisis de supervivencia

En esta población se ha realizado un estudio de supervivencia de manera retrospectiva para comparar la SG de la población BRCA en función de las variables que se han recogido. La SG de la población BRCA se ha cuantificado desde el diagnóstico del CO hasta la muerte por cáncer o finalización del periodo temporal estudiado, en cuyo caso la supervivencia es mayor al tiempo de seguimiento.

En este análisis se ha realizado en 85 CI de la población BRCA. Un CI ha sido excluido de este estudio por no recibir el tratamiento con quimioterapia basada en platino debido a una reacción adversa al fármaco. Al finalizar el periodo observacional, más de un 75% de la población obtuvo una supervivencia superior a 5 años. La función de supervivencia obtenida para la población BRCA en un periodo observacional de 5 años se refleja en la siguiente figura (**Figura IV.8**).

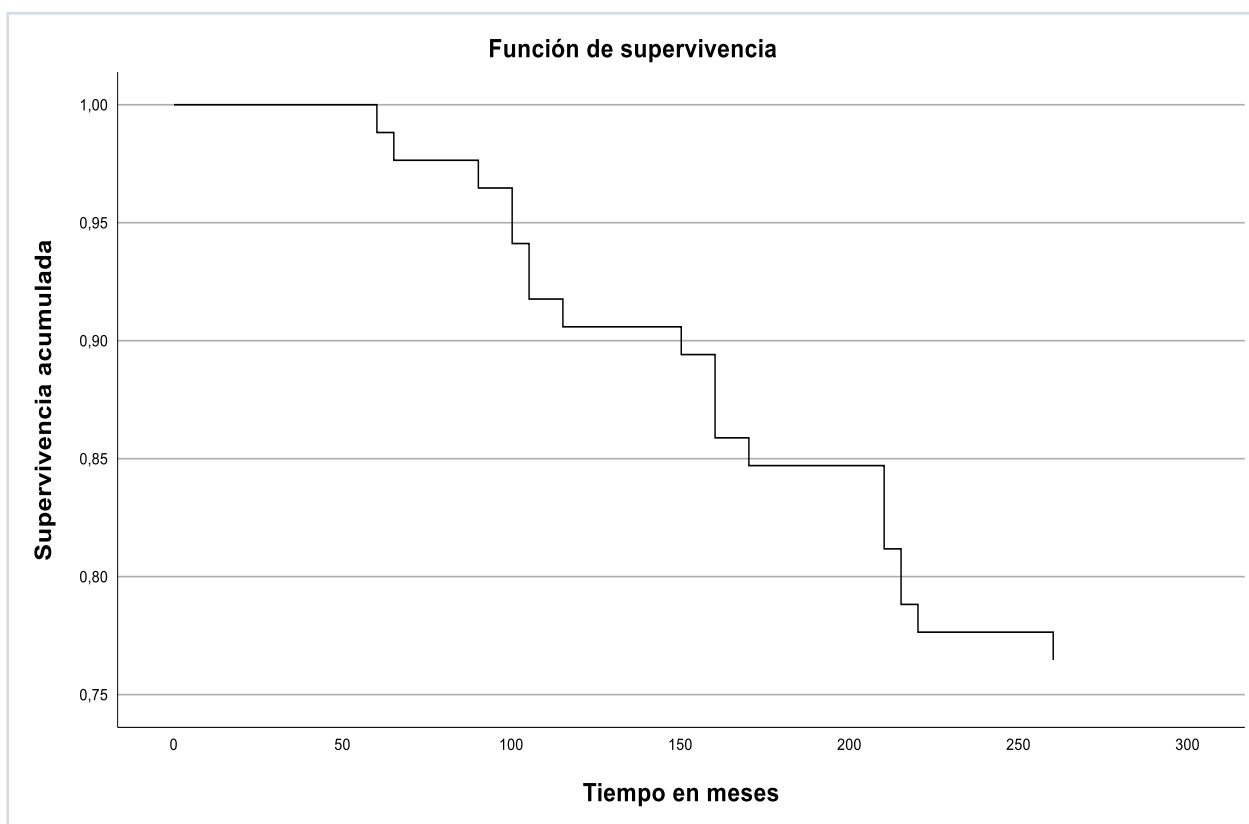


Figura IV.8. Función de supervivencia de la población BRCA representada en función de la supervivencia acumulada en función del tiempo representado en meses.

1.3.1. Curva de supervivencia según el estadiaje

Se analizó el pronóstico de la enfermedad en relación con el estadiaje en el momento del diagnóstico, para ello se llevó a cabo un análisis de supervivencia comparativo entre los estadios FIGO de los CI, con el motivo de conseguir un número de CI significativo se agruparon los estadios FIGO en dos categorías. Los estadios FIGO I y II se agruparon en el grupo “precoz” y los estadios FIGO III y IV se agruparon en el grupo “avanzado” (**Figura IV.9**).

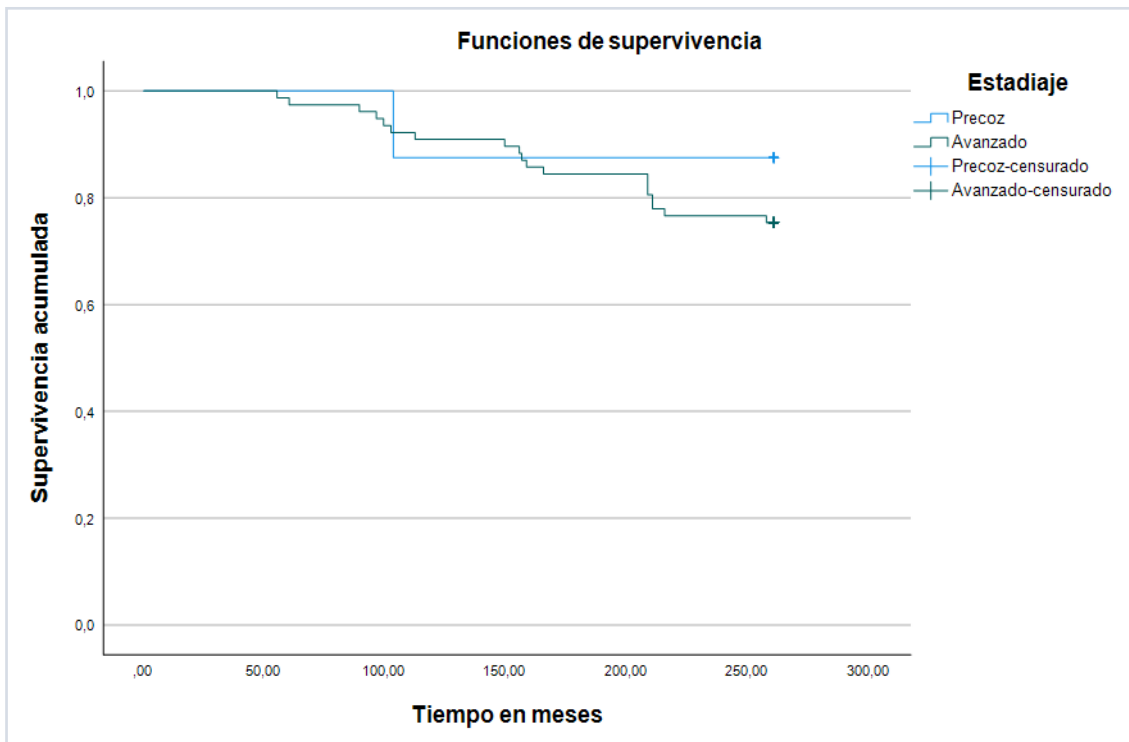


Figura IV.9. Función de supervivencia de la población BRCA representada según el estadiaje FIGO. Precoz: estadios I y II, Avanzado: estadios III y IV. Datos censurados por supervivencia mayor al tiempo de estudio.

El análisis estadístico (test Log-Rank) no encontró diferencias estadísticamente significativas entre la SG de la población y el estadiaje de la enfermedad al diagnóstico, los resultados del análisis estadístico se pueden ver en las siguientes tablas (**Tablas IV.8-10**).

IV. RESULTADOS

Estadiaje	N total	N de eventos	Censurado	
			N	Porcentaje
Precoz	8	1	7	87,5%
Avanzado	77	19	58	75,3%
Global	85	20	65	76,5%

Estadiaje	Estimación	Desv. Error	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Precoz	240,375	18,358	204,394	276,356
Avanzado	233,662	6,178	221,554	245,771
Global	234,294	5,861	222,807	245,781

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	,512	1	,474

Tablas IV.8-10. Análisis estadístico descriptivo de la supervivencia global para cohortes en función del estadiaje. Precoz: estadios I y II, Avanzado: estadios III y IV. Sig.: significación estadística ($p < 0,001$), gl: grados de libertad.

1.3.2. Curva de supervivencia en función de la respuesta al tratamiento

Se analizó el pronóstico de la enfermedad en relación a la respuesta de la enfermedad al tratamiento con quimioterapia basada en platino, para ello se llevó a cabo un análisis de supervivencia comparativo según la sensibilidad de la enfermedad a este agente. (**Figura IV.10**).

IV. RESULTADOS

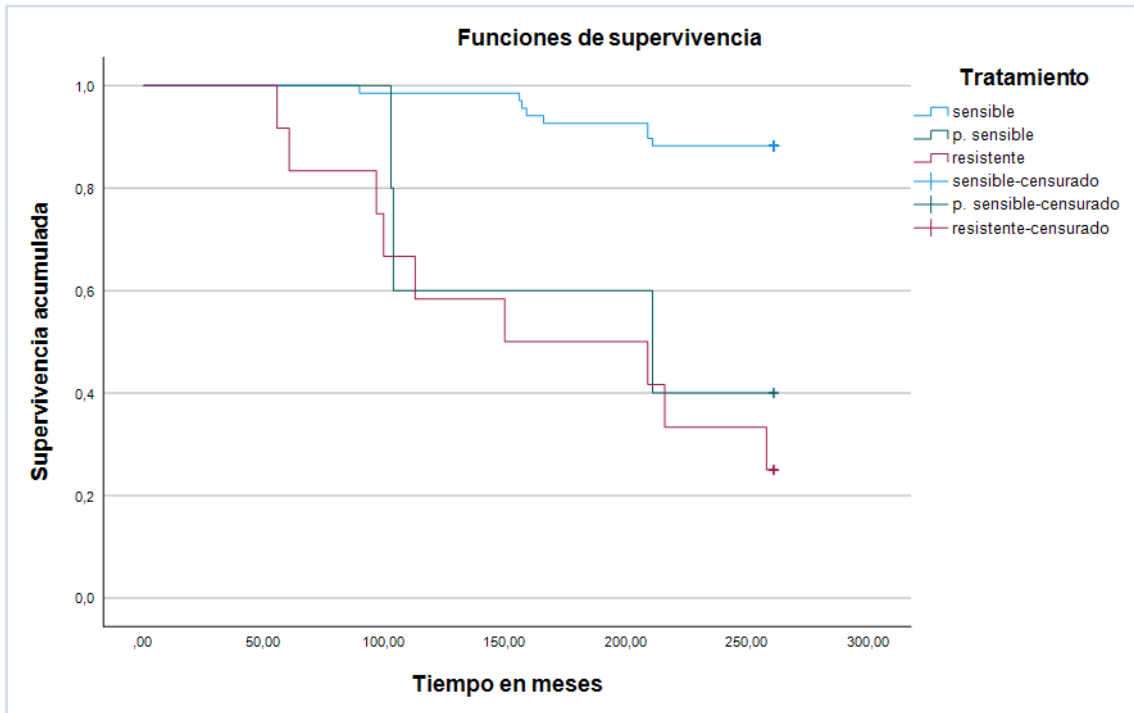


Figura IV.10. Función de supervivencia de la población BRCA representada según el grado de sensibilidad de la enfermedad a la quimioterapia con platino. Sensible: enfermedad sensible a la quimioterapia con platino, p. sensible: enfermedad parcialmente sensible a la quimioterapia con platino, resistente: enfermedad que no responde al tratamiento de quimioterapia con platino. Datos censurados por supervivencia mayor al tiempo de estudio.

El análisis estadístico (test Log-Rank) encontró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre la SG de la población y el grado de sensibilidad de la enfermedad a la quimioterapia con platino, los resultados del análisis estadístico se pueden ver en las siguientes tablas (**Tablas IV.11-13**).

IV. RESULTADOS

Tratamiento	N total	N de eventos	Censurado	
			N	Porcentaje
sensible	68	8	60	88,2%
p. sensible	5	3	2	40,0%
resistente	12	9	3	25,0%
Global	85	20	65	76,5%

Tratamiento	Estimación	Media		
		Desv. Error	Límite inferior	Límite superior
sensible	249,250	3,906	241,594	256,906
p. sensible	187,000	31,917	124,442	249,558
resistente	169,250	22,818	124,526	213,974
Global	234,294	5,861	222,807	245,781

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	37,166	2	<,001

Tablas IV.11-13. Análisis estadístico descriptivo de la supervivencia global para cohortes en función del grado de sensibilidad de la enfermedad a la quimioterapia con platino. Sensible: enfermedad sensible a la quimioterapia con platino, p. sensible: enfermedad parcialmente sensible a la quimioterapia con platino, resistente: enfermedad que no responde al tratamiento de quimioterapia con platino. Sig.: significación estadística ($p < 0,001$), gl: grados de libertad.

1.3.3. Curva de supervivencia en función del genotipo

Se analizó el pronóstico de la enfermedad en relación al resultado del estudio genético obtenido para los CI, para ello se llevó a cabo un análisis de supervivencia comparativo según el hallazgo o no de variantes clínicamente relevantes para la enfermedad. (**Figura IV.11**).

IV. RESULTADOS

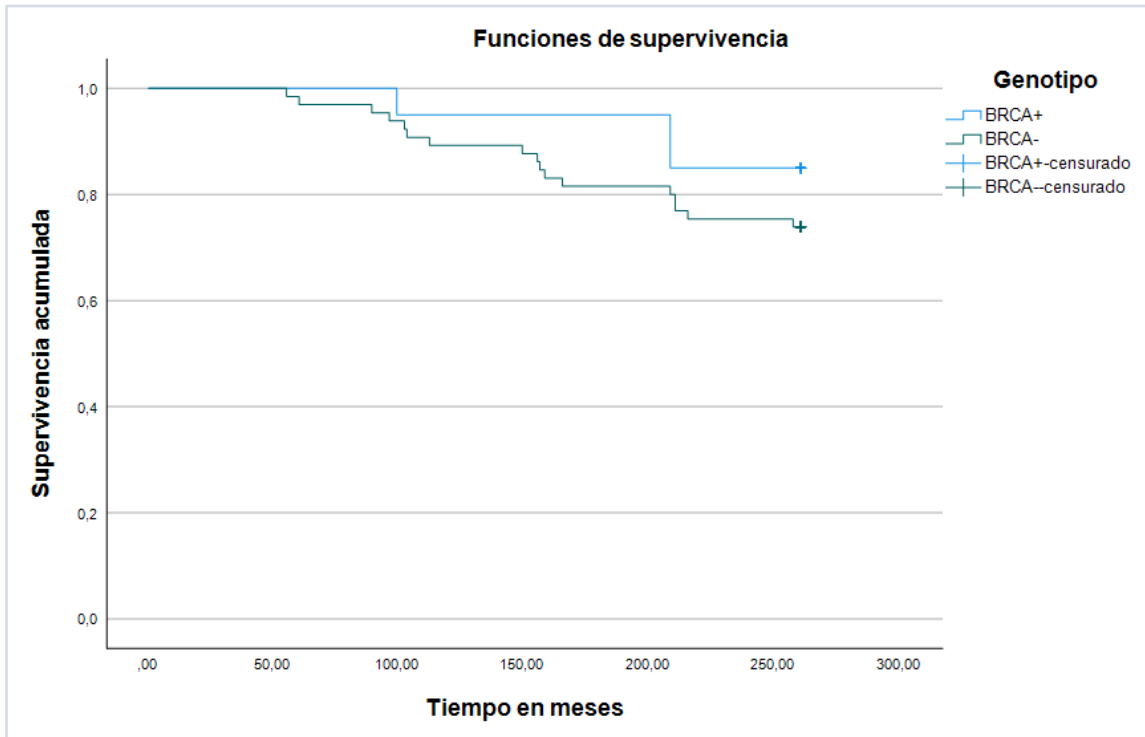


Figura IV.11. Función de supervivencia de la población BRCA representada según el resultado del estudio genético. BRCA+: hallazgo de variante genética patogénica relacionada con la enfermedad, BRCA-: estudio genético sin hallazgos clínicamente relevantes. Datos censurados por supervivencia mayor al tiempo de estudio.

El análisis estadístico (test Log-Rank) no encontró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre la SG de la población y el hallazgo de una variante genética patogénica relacionada con la enfermedad, los resultados del análisis estadístico se pueden ver en las siguientes tablas (Tablas IV.14-16).

IV. RESULTADOS

Genotipo	N total	N de eventos	Censurado	
			N	Porcentaje
BRCA+	20	3	17	85,0%
BRCA-	65	17	48	73,8%
Global	85	20	65	76,5%

Genotipo	Estimación	Desv. Error	Media	
			Límite inferior	Límite superior
BRCA+	246,750	8,339	230,405	263,095
BRCA-	230,462	7,155	216,438	244,485
Global	234,294	5,861	222,807	245,781

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	1,064	1	,302

Tablas IV.14-16. Análisis estadístico descriptivo de la supervivencia global para cohortes en función del resultado de la prueba genética para los genes *BRCA1* y *BRCA2*. BRCA+: hallazgo de variante genética patogénica relacionada con la enfermedad, BRCA-: estudio genético sin hallazgos clínicamente relevantes. Sig.: significación estadística ($p < 0,001$), gl: grados de libertad.

2. POBLACIÓN PANEL

2.1. Descripción de la muestra

De los 114 CI analizados, 63 (55%) procedieron del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca y 51 (45%) del Hospital General Universitario Morales Meseguer. El total de los CI incluidos en esta población fueron diagnosticados de CO clasificados como muy diferenciados o de alto grado.

La media de edad al diagnóstico de la población PANEL fue de $62,9 \pm 8,5$ años con un máximo de 84 y un mínimo de 33 años. La mayoría de los CI (93%) tienen más de 51 años y solo una minoría (7%) tiene una edad inferior a 50 años (**Tabla IV.17** y **Figura IV.12**).

IV. RESULTADOS

<i>Edad</i>	N	%	% acum.
<35 años	2	1,8	1,8
35-50 años	6	5,3	7,0
51-65 años	60	52,6	59,6
>65 años	46	40,4	100

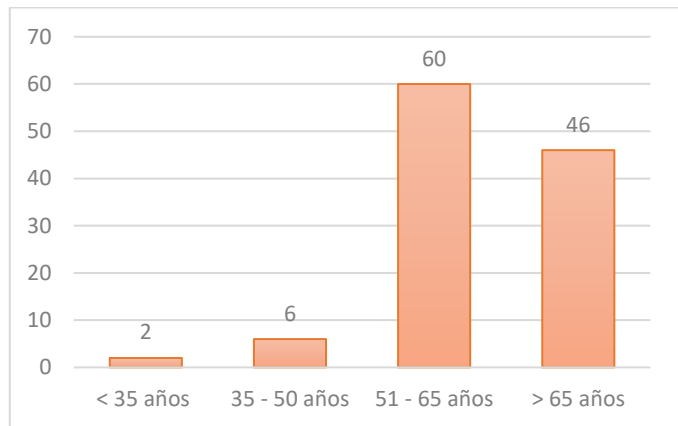


Tabla IV.17 y figura IV.12. Distribución de los CI de la población PANEL según el grupo de edad.

Los subtipos histológicos del CO diagnosticado a los CI fueron; 104 (91,2%) de tipo II, de los cuales 93 (81,6%) fueron serosos y 11 (9,6%) endometrioides de alto grado. De tipo I se diagnosticaron 10 (8,8%), de los cuales 8 (7%) fueron de células claras y 2 (1,8%) fueron mucinosos. De los 93 CI con diagnóstico de CO seroso, un total de 10 (8,8%) CI presentaron co-afectación con otro tipo de cáncer ginecológico, 5 (4,4%) serosos de alto grado junto a cáncer de trompa de Falopio, 3 (2,6%) serosos de alto grado junto a endometrioide y 2 (1,8%) serosos de alto grado junto a células claras. La distribución de los subtipos histológicos se encuentra representada en la siguiente figura (**Tabla IV.18 y Figura IV.13**).

IV. RESULTADOS

	Subtipo histológico	N	%	% acum.
TIPO II	Seroso	93	81,6	81,6
	Endometriode	11	9,6	91,2
TIPO I	Células claras	8	7,0	98,2
	Mucinoso	2	1,8	100

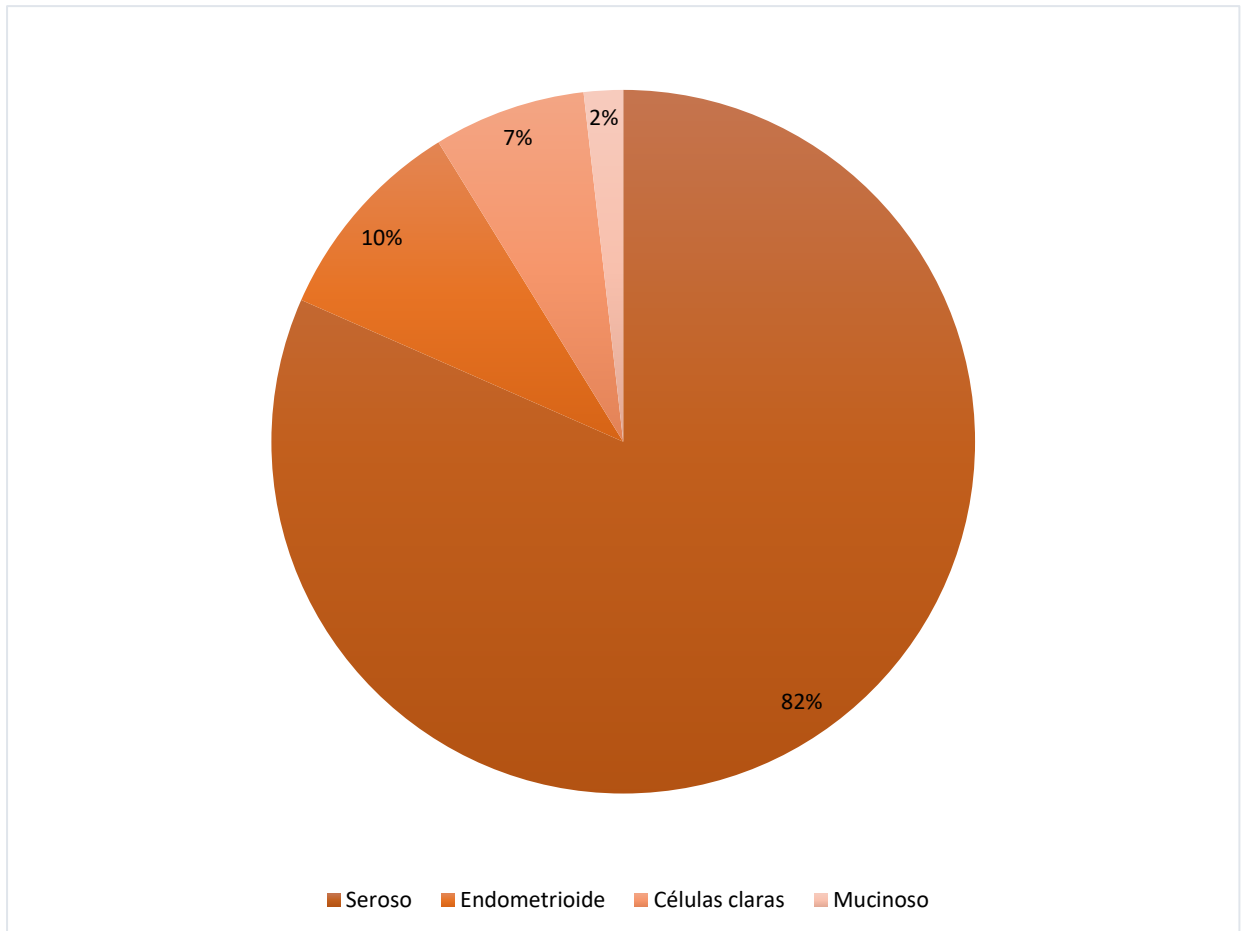


Tabla IV.18 y figura IV.13. Distribución de los CI de la población PANEL según el subtipo histológico de CO.

La mayor parte de los CI presentó al momento del diagnóstico un estadio FIGO avanzado, considerando avanzado los estadios III y IV. La distribución de los CI según el estadiaje y su representación gráfica se presentan en la siguiente tabla y figura (**Tabla IV.19 y Figura IV.14**).

IV. RESULTADOS

<i>Estadio FIGO</i>		n	%	% acum.
<i>Estadio I</i>	IA	4	3,5	3,5
	IB	1	0,9	4,4
	IC	3	2,6	7,0
<i>Estadio II</i>	IIA	1	0,9	7,9
	IIB	0	0,0	7,9
	IIC	3	2,6	10,5
<i>Estadio III</i>	IIIA	10	8,8	19,3
	IIIB	17	14,9	34,2
	IIIC	42	36,8	71,1
<i>Estadio IV</i>	IV	33	28,9	100

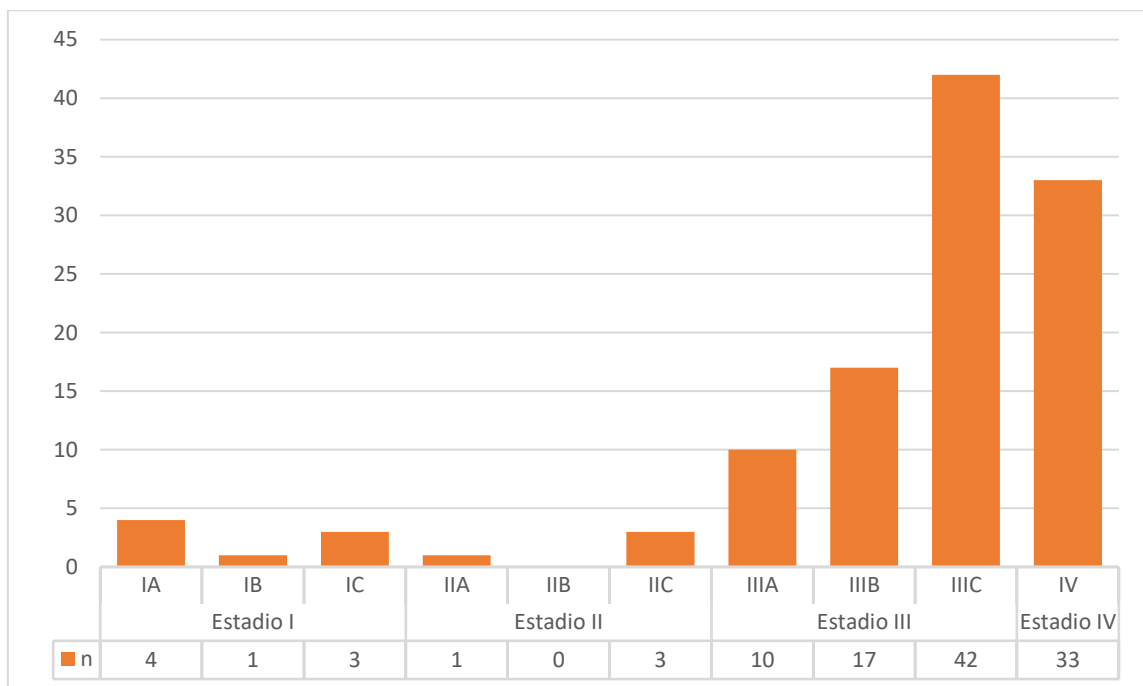


Tabla IV.19 y figura IV.14. Distribución de los CI de la población PANEL según el estadio FIGO en el diagnóstico.

Por último, la respuesta al tratamiento con quimioterapia basada en platino se clasificó en respuestas sensibles 87 (76,3%), parcialmente sensibles 9 (7,9%) y resistentes 18 (15,8%) (**Figura IV.15**).

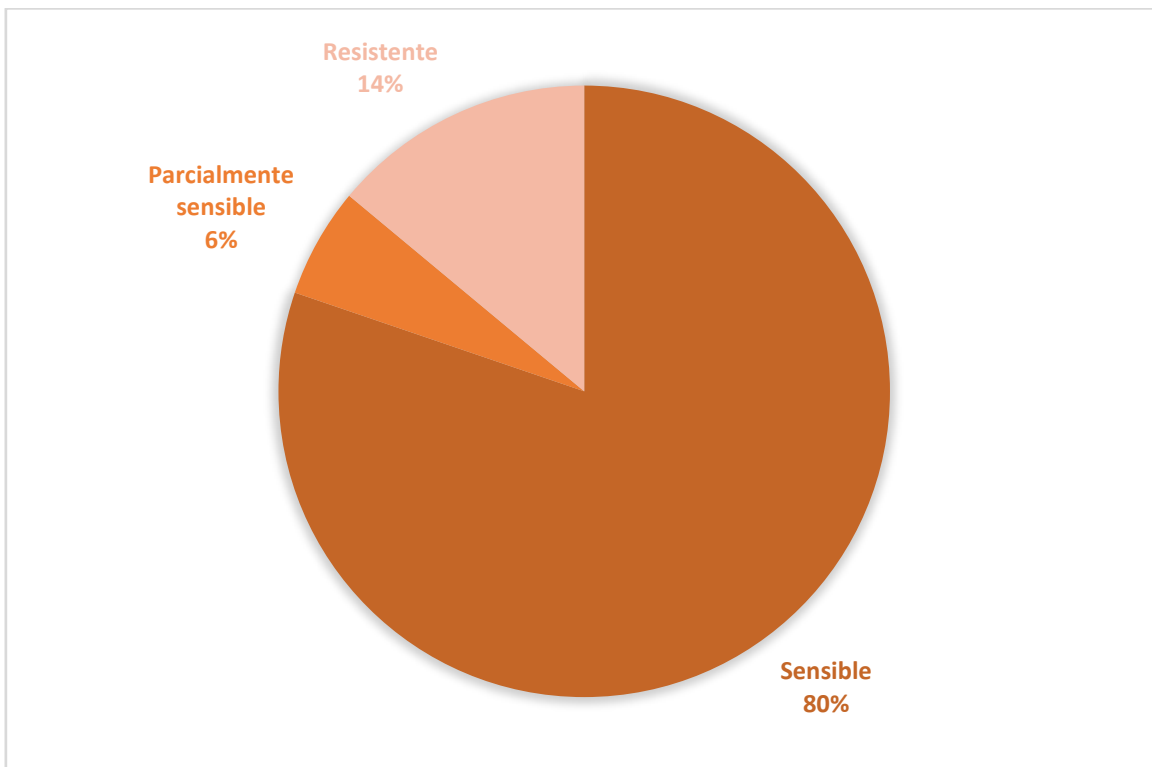


Figura IV.15. Distribución de los CI según la respuesta al tratamiento con quimioterapia basada en platino.

2.2. Estudio genético PANEL

2.2.1. Rendimiento diagnóstico

Los 114 CI de la población PANEL fueron seleccionados utilizando los criterios de la SEOM para el análisis molecular mediante un panel de genes: *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *TP53*. En el presente estudio se registraron 25 variantes patogénicas en un total de 27 CI, lo que supuso casi un 24% del total de los 114 CI analizados.

2.2.2. Correlación genotipo-fenotipo

La media de edad al diagnóstico de los 27 CI con variantes patogénicas halladas en los genes estudiados en la población PANEL fue de $59,4 \pm 11,4$ años con un máximo de 84 y un mínimo de 33 años.

En la población PANEL con variantes clínicamente relevantes, el subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en la mayoría de los casos

IV. RESULTADOS

COSAG, 23 (85,7%) a excepción de 1 (3,5%) CO de células claras y 3 (10,7%) carcinomas endometrioides de ovario. De los cuales, casi todos 26 (96,4%) fueron de grado 3 o alto grado salvo 1 (3,6%) CO seroso de grado 2 o moderadamente diferenciado. Además, uno de los CI estudiados (3,6%) presentó cáncer de trompa de Falopio de manera sincrona.

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, casi todas las variantes patogénicas 26 (96,4%) se hallaron en CO avanzado, excepto 1 (3,6%) estadio FIGO IIB, se consideraron avanzados los estadios III y IV.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, obtuvieron respuestas sensibles en 23 (85,7%) y resistente en 4 (14,3%).

2.2.3. Tipos de variantes detectadas

Tras llevar a cabo el estudio genético correspondiente a la población PANEL, se encontraron un total de 25 variantes patogénicas en 27 CI (24,6%). De las cuales, 7 (28%) se hallaron en el gen *BRCA1*, 9 (36%) en el gen *BRCA2*, 1 (4%) en el gen *ATM*, 2 (8%) en el gen *BRIP1*, 1 (4%) en el gen *EPCAM*, 1 (4%) en el gen *NF1*, 1 (4%) en el gen *PALB2*, 1 (4%) en el gen *PMS2*, 1 (4%) en el gen *STK11* y 1 (4%) en el gen *RAD51D*. El aporte de cada gen a las variantes patogénicas encontradas se detalla en la siguiente figura (**Figura IV.16**).

IV. RESULTADOS

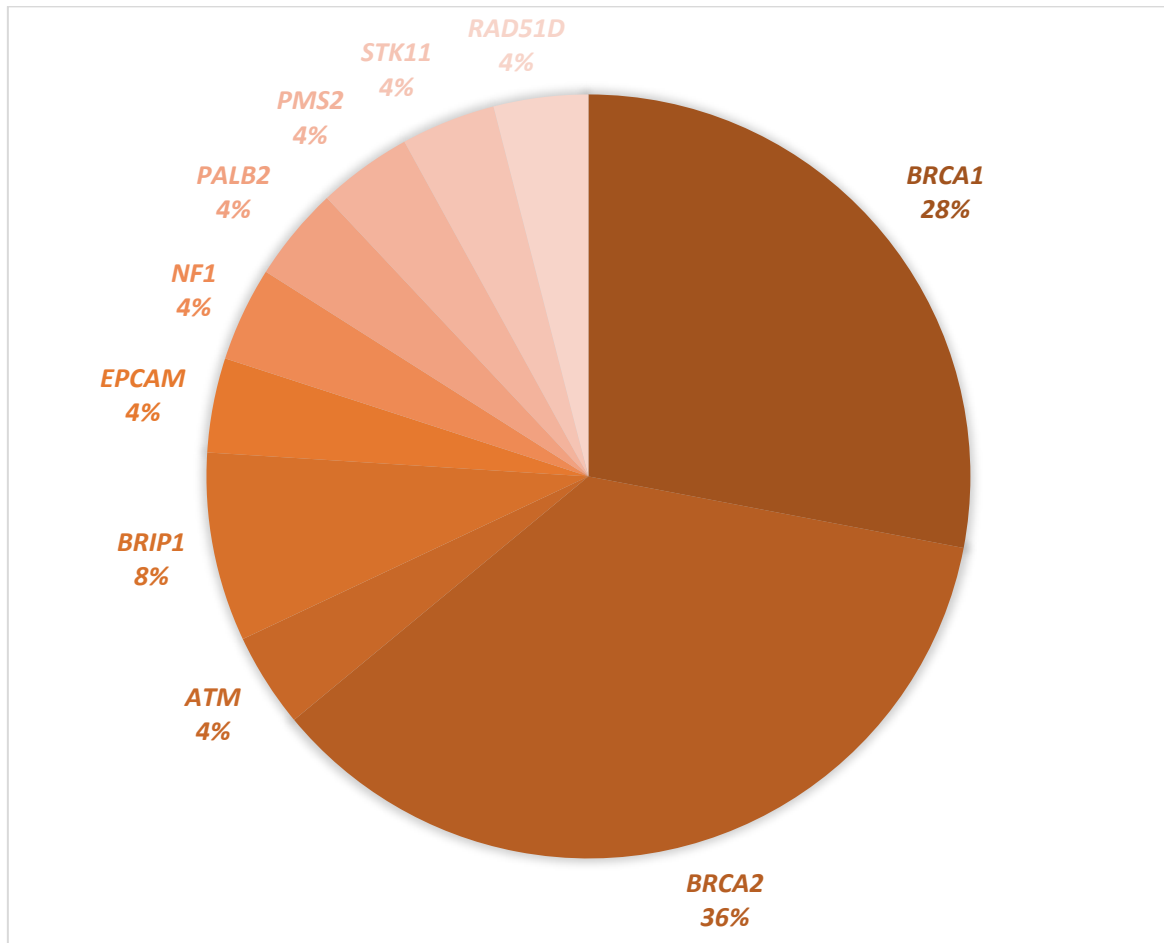


Figura IV.16. Proporción de variantes patogénicas aportadas por cada gen en la población PANEL.

Debido a la relación de los genes estudiados a través del panel de genes con otras patologías distintas al CO, se pueden agrupar las variantes patogénicas aportadas por cada patología. De esta manera los genes históricamente relacionados con el SCMOH *BRCA1/2* suponen un 16 (64%) de las variantes patogénicas obtenidas, el gen relacionado con la ataxia-telangiectasia un 1 (4%), los genes relacionados con la anemia de Fanconi 4 (16%), los genes relacionados con el Síndrome de Lynch 2 (8%), el gen relacionado con el Síndrome de Peutz-Jeghers 1 (4%) y otros como el relacionado con la neurofibromatosis (*NF1*) 1 (4%). No se detectó ninguna variante patogénica en el gen *TP53* relacionado con el Síndrome de Li-Fraumeni (**Figura IV.17**).

IV. RESULTADOS

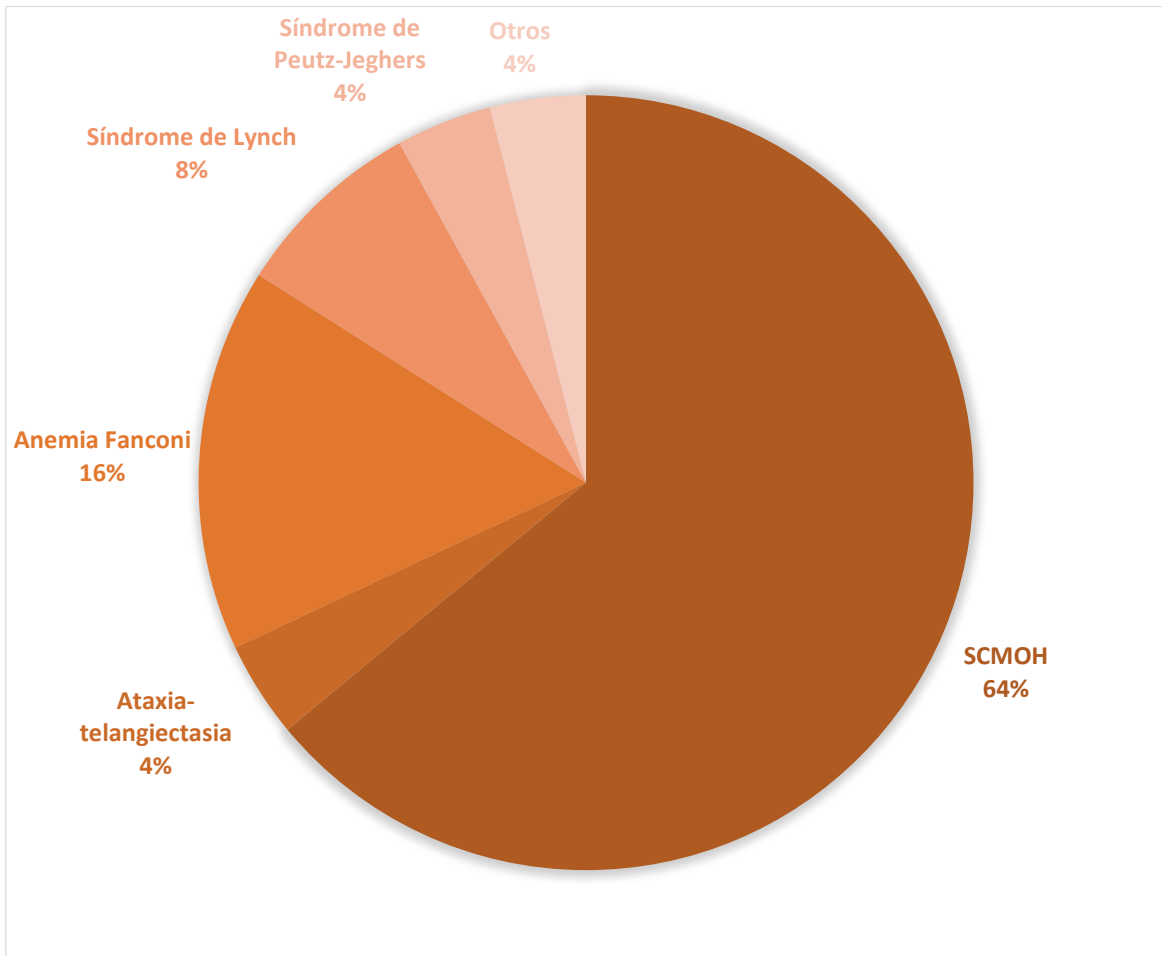


Figura IV.17. Proporción de variantes patogénicas aportadas por cada patología relacionada con CO hereditario en la población PANEL.

Desde el punto de molecular, de las 25 variantes patogénicas descritas, 15 (60%) se correspondieron con mutaciones *frameshift*, 8 (32%) con mutaciones de un único nucleótido (SNV, *single nucleotide variants*), de las cuales 3 (12%) fueron mutaciones *missense*, 2 (8%) mutaciones intrónicas (SSM, *Splice Site Mutation*), 2 (8%) mutaciones *nonsense* y 1 (4%) mutación sinónima. Además, también se hallaron 2 (8%) reordenamientos genómicos (**Figura IV.18**).

IV. RESULTADOS

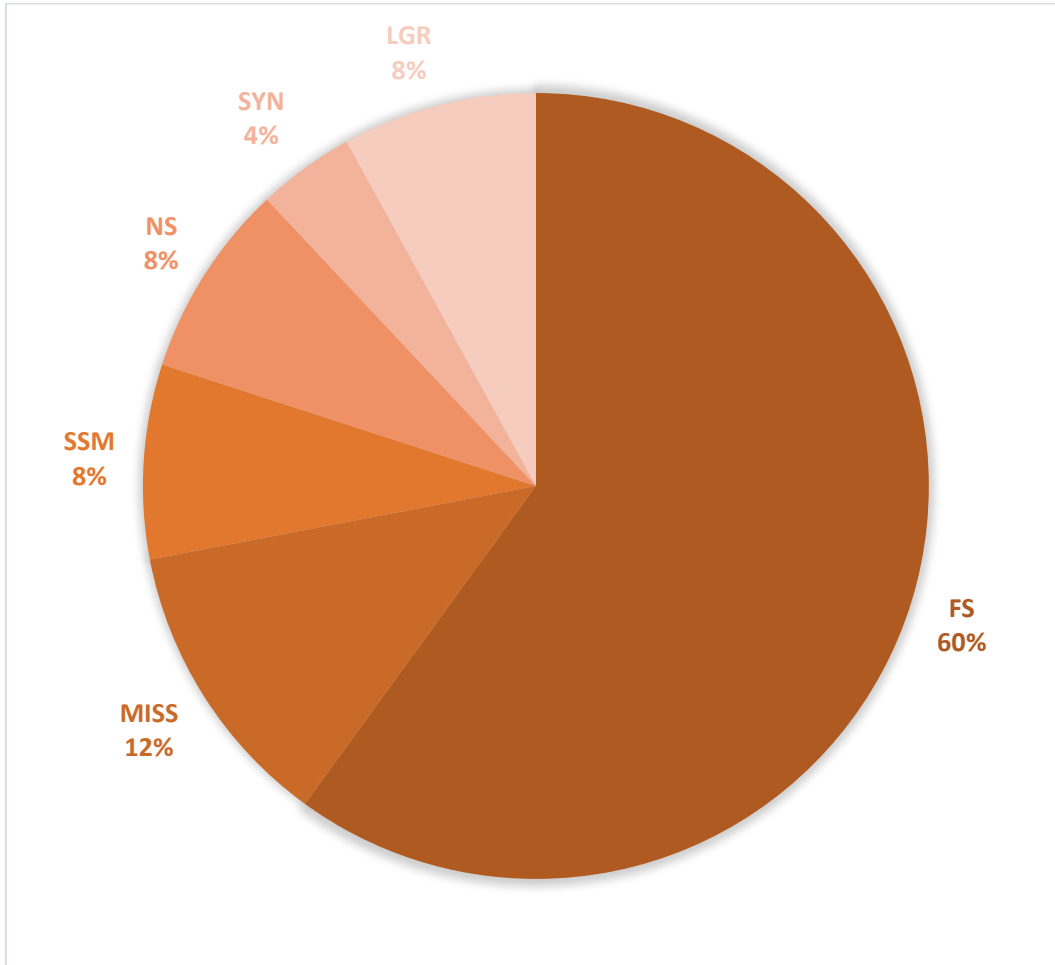


Figura IV.18. Distribución de las variantes patogénicas halladas según su clasificación molecular en la población PANEL. FS: *frameshift* o cambio de marco de lectura, MISS: *missense* o con cambio de sentido, SSM: variante de *splicing*, NS: *nonsense* o sin sentido, SYN: sinónima, LGR: gran reordenamiento genético.

Desde un punto de vista clínico, además de las 25 (42%) variantes patogénicas, se hallaron 34 (58%) variantes de significado clínico desconocido o VUS. Sumando un total de 59 variantes en los genes estudiados en la población PANEL. La aportación de cada gen a las variantes totales halladas se muestra en la figura que aparece a continuación (**Figura IV.19**).

IV. RESULTADOS

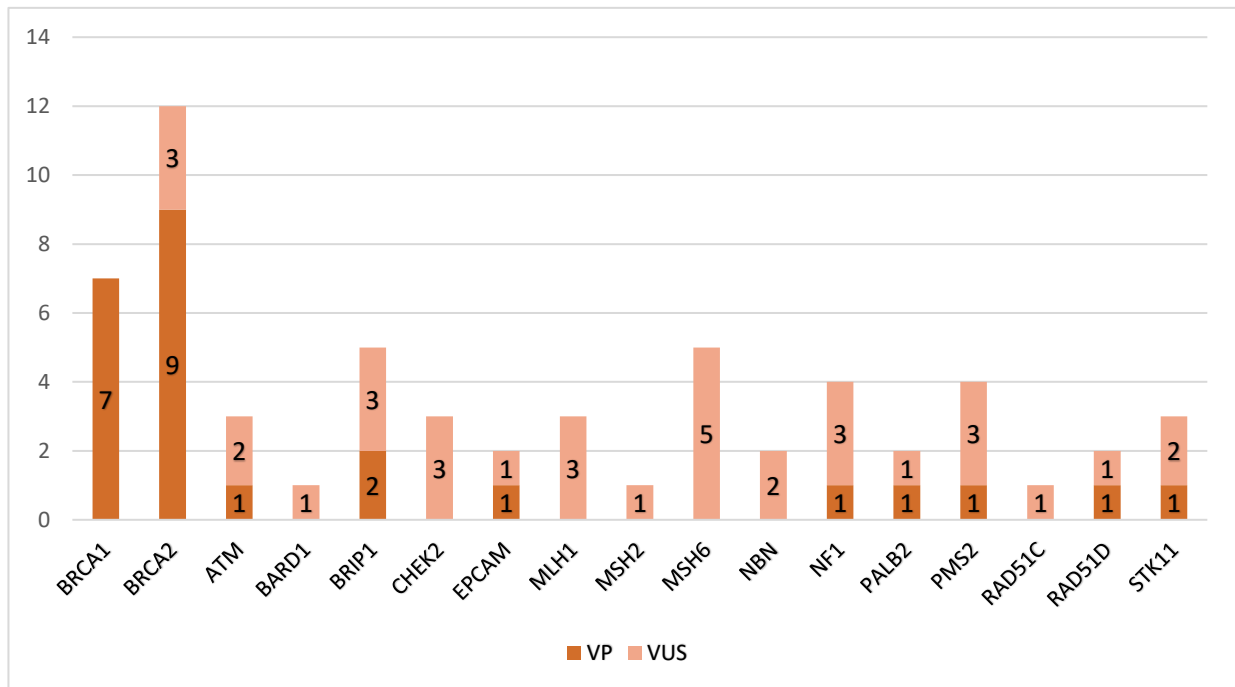


Figura IV.19. Proporción de VP y VUS aportadas por cada gen en la población PANEL. VP: variante patogénica, VUS: variante de significado clínico desconocido.

El resumen de la clasificación molecular y clínica se muestra en la siguiente tabla (**Tabla IV.20**).

	BRCA1/2		RESTO PANEL	
	VP (CI)	VUS (CI)	VP (CI)	VUS (CI)
Frameshift	11 (12)	-	4 (4)	1 (1)
Missense	3 (3)	3 (4)	1 (1)	27 (30)
Sinónima	1 (2)	-	-	1 (1)
SSM	1 (1)	-	1 (1)	2 (4)
LGR	-	-	3 (3)	-
TOTAL	16 (18)	3 (4)	9 (9)	31 (36)

Tabla IV.20. Resumen de las variantes encontradas en la población PANEL. VP: variante patogénica, VUS: variante de significado clínico desconocido, LGR: gran reordenamiento genético, SSM: variante de *splicing*. Se muestra entre paréntesis el número total de CI con las variantes.

IV. RESULTADOS

Para cada variante detectada se realizó el análisis molecular del cambio producido, revisión bibliográfica disponible sobre la variante, se comprobaron los criterios para su clasificación según la ACMG y se realizó un estudio genotipo-fenotipo.

2.2.4. Variantes patogénicas halladas en la población PANEL

Las variantes patogénicas o probablemente patogénicas encontradas en la población PANEL se muestran en la tabla que aparece a continuación (**Tabla IV.21**).

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	ClinVar	HGMD	Criterios ACMG	Tipo de variante	Familia	CO	Estadio FIGO	Edad (años)	Respuesta a platino
ATM	56	c.8251_8254delACTA	p.Thr2751SerfsTer54	rs786202120	VP	VP CD121260	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-133	CEAG	IIB	58	RESIST
BRCA1	1	c.68_69delAG	p.Glu23ValfsTer17	rs80357914	VP	VP CD951600	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-173	COSAG	IV	59	RESIST
		c.70_73dupACAG	p.Pro25LeufsTer17	rs397509310	VP	VP CI994465	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-225	COSAG	IIIC	70	SENS
	4	c.181T>G	p.Cys61Gly	rs28897672	VP	VP CM940172	PP5, PS3, PM5, PP3, PM1, PM2	MISS	OL-147	CCC	IIIC	47	SENS
		c.211A>G	p.Arg71Gly	rs80357382	VP	VP CM994455	PP3, PP5, PM5, PM1, PM2	MISS	OL-150	COSAG	IIIC	67	SENS
	IN4-5	c.212+1G>A	p.Phe46_Arg71del p.Cys64X	rs80358042	VP	VP CS951355	PP3, PP5, PM5, PM1, PM2	SSM	OL-172	COSAG	IIIA	61	SENS
	10	c.1651_1652insC	p.Ser551ThrfsTer4	rs886039961	VP	VP CI1828526	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-145	COSAG	IV	66	SENS
	11	c.3583delC	p.His1195IlefsTer15	rs273900710	VP	VP CD86255	PVS1, PM1, PM2	FS	OL-91	COSAG	IIIB	64	SENS

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	ClinVar	HGMD	Criterios ACMG	Tipo de variante	Familia	CO	Estadio FIGO	Edad (años)	Respuesta a platino
BRCA2	10	c.1608dupT	p.Glu537Ter	rs276174811	VP	VP CI086614	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-128	COSAG	IIIC	49	SENS
									OL-148	COSAG	IIIC	51	SENS
	11	c.2808_2811delACAA	p.Ala938ProfsTer21	rs80359351	VP	VP CD951625	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-201	COSAG	IIIC	68	SENS
		c.3680_3681delTG	p.Leu1227GlnfsTer5	rs80359395	VP	VP CD011120	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-181	COSAG	IV	65	SENS
		c.4963delT	p.Tyr1655ThrfsTer15	rs886040557	VP	VP CD161018	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-208	COSAG	IIIC	49	SENS
		c.4965C>A	p.Tyr1655Ter	rs80358721	VP	VP CM109775	PVS1, PP5, PM2	NS	OL-105	COSAG	IIIC	55	SENS
		c.5073dupA	p.Trp1692MetfsTer3	rs80359479	VP	VP CI011228	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-169	COSAG	IIIB	57	SENS
		c.6486_6489delACAA	p.Lys2162AsnfsTer5	rs80359598	VP	VP CD982506	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-117	COSAG	IIIB	43	SENS
	23	c.9026_9030delTATCA	p.Tyr3009SerfsTer7	rs80359741	VP	VP CD961862	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-218	COSAG	IIIB	49	SENS
		c.9117G>A	p.Pro3039=	rs28897756	VP	VP CM151680	PP5, PP3, PM2	SYN	OL-113	COSAG	IIIC	75	SENS
									OL-153	CEAG	IIIC	72	SENS

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	ClinVar	HGMD	Criterios ACMG	Tipo de variante	Familia	CO	Estadio FIGO	Edad (años)	Respuesta a platino
BRIP1	4	c.290_293delACAA	p.Asn97MetfsTer3	rs763009188	VP	VP CD1517891	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-159	COSG2	IV	75	SENS
	7	c.903delG	p.Leu301PhefsTer2	rs876659490	VP	VP CD1814611	PVS1, PP5, PM2	FS	OL-40	COSAG	IV	63	RESIST
EPCAM	IN4-5	c.491+1G>A	-	rs606231203	VP	VP CS083989	PVS1, PP5, PM2	SSM	OL-123	CEAG	IIIC	72	SENS
NF1	34	c.4643_4644dupCT	p.Glu1549LeufsTer26	ND	ND	ND	PVS1, PM2	FS	OL-149	COSAG	IV	33	SENS
PALB2	-	Del ex7-11 c.2587-?_3201+?del	p.?	-	-	VP CG119359	-	LGR	OL-146	COSAG	IIIC	84	RESIST
PMS2	5	c.400C>T	p.Arg134Ter	rs63750871	VP	VP CM950967	PVS1, PP5, PM2	NS	OL-109	COSAG	IIIC	42	SENS
RAD51D	4	c.694C>T	p.Arg232Ter	rs587780104	VP	VP CM128411	PVS1, PP5	NS	OL-188	COSAG + CTF	IIIB	60	SENS
STK11	-	Del ex1	p.?	-	-	VP CG1824155	-	LGR	OL-174	COSAG	IIIC	59	SENS

Tabla IV.21. Variantes patogénicas halladas en la población PANEL. FS: *frameshift*, SSM: variante de *splicing*, MISS: variante missense o con cambio de sentido, NS: *nonsense* o sin sentido, LGR: gran reordenamiento genético, SYN: variante sinónima, COSAG: cáncer de ovario seroso de alto grado, COG2, cáncer de ovario seroso moderadamente diferenciado (grado 2), CEAG: cáncer endometriode de ovario de alto grado, CCC: cáncer de células claras, CFT: cáncer de trompa de Falopio, SENS: sensible, RESIST: resistente. Se resaltan en negrita las variantes patogénicas ya descritas en la población BRCA.

IV. RESULTADOS

2.2.4.1. c.8251_8254delACTA del gen *ATM*

La variante c.8251_8254delACTA es la delección de la secuencia ACTA del exón 56 del gen *ATM*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de una proteína truncada no funcional con pérdida de los dominios con función quinasa PI3K/PI4K y FATC o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Aunque esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL, se ha detectado con una frecuencia significativamente elevada en familias con SCMOH en la Región de Murcia (189). Además, se ha comprobado que las familias portadoras de esta variante compartían un ancestro común y se ha certificado como mutación fundadora en nuestra región (168).

2.2.4.2. c.70_73dup del gen *BRCA1*

La variante c.70_73dup, es la duplicación de la secuencia ACAG en el exón 2 del gen *BRCA1*, dando lugar a una alteración del marco de lectura generando un codón de parada en la posición 17, lo que conlleva a la formación de una proteína truncada no funcional con pérdida de todos los dominios funcionales de la proteína BRCA1 o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante está clasificada como VP según la ACMG ya que cumple los siguientes criterios PVS1, PP5 y PM2. Además, ha sido clasificada por *ClinVar* como VP con 3 estrellas, lo que significa que ha sido revisada y confirmada como patogénica por un panel de expertos. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.3. c.181T>G del gen *BRCA1*

La variante c.181T>G es una mutación puntual de una guanina por una timina en el exón 4 del gen *BRCA1*, a nivel proteico supone el cambio de una cisteína muy conservada filogenéticamente a glicina en la posición 61. La glicina y la cisteína tienen características bioquímicas muy distintas y este cambio genera una alteración de la oligomerización del dominio RING de BRCA1 imprescindible para su función en la reparación del ADN por

IV. RESULTADOS

recombinación homóloga (190). Esta variante ha sido clasificada como VP por *VarSome* y *ClinVar* con 3 estrellas. Además, según la ACMG es una VP que cumple los criterios PVS1, PP5 y PM2. Aunque esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL, se considera una variante con una prevalencia relevante en familias con SCMOH de la Región de Murcia y se considera una mutación fundadora de Europa Central con escasos registros en población española (168,191).

2.2.4.4. c.211A>G del gen *BRCA1*

La variante c.211A>G es una mutación puntual de una adenina por una guanina en el exón 4 del gen *BRCA1*. Esta VP se encuentra a -2 pb del sitio dador de *splicing* y genera dos transcritos aberrantes. El primer transcrito genera la pérdida de 22 pb en el exón 4 además de un codón de parada en la posición 64 de la proteína BRCA1. El segundo transcrito resulta en la deleción del exón 4 que afecta al dominio RING (192). Esta variante es una mutación con efecto fundador de origen español, siendo clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2 (193). Aunque esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL, se considera la variante genética más prevalente en población española y se encuentra ampliamente distribuida por territorio nacional (184).

2.2.4.5. c.212+1G>A del gen *BRCA1*

La variante c.212+1G>A es un cambio de guanina por adenina en un sitio dador de *splicing* del gen *BRCA1* que genera los mismos transcritos aberrantes de la variante c.211A>G. El primer transcrito genera la pérdida de 22 pb en el exón 4 además de un codón de parada en la posición 64 de la proteína BRCA1. El segundo transcrito resulta en la deleción del exón 4 que afecta al dominio RING. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

IV. RESULTADOS

2.2.4.6. c.1651_1652insC del gen *BRCA1*

La variante c.1651_1652insC es la inserción de una citosina entre la posición 1651 y 1652 del exón 10 del gen *BRCA1*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro que conlleva a la formación de la proteína BRCA1 truncada sin los dominios funcionales COILED COIL y BRCT, o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.7. c.2808_2811delACAA del gen *BRCA2*

La variante c.2808_2811delACAA es la delección de la secuencia ACAA del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro en el residuo 936 de la proteína BRCA que conlleva la pérdida del 70% de aminoácidos. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Aunque esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL, es la segunda variante genética más recurrente en familias españolas con SCMOH (184).

2.2.4.8. c.3680_3681delTG del gen *BRCA2*

La variante c.3680_3681delTG es la delección de la secuencia TG del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro en el residuo 1227 de la proteína BRCA. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.9. c.4963delT del gen *BRCA2*

La variante c.4963delT es la delección de un timina del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro en el residuo 1655 de la proteína BRCA generando una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero

IV. RESULTADOS

mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.10. c.6486_6489delACAA del gen *BRCA2*

La variante c.6486_6489delACAA es la delección de la secuencia ACAA del exón 11 del gen *BRCA2*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro en el residuo 2162 de la proteína BRCA generando una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.11. c.9117G>A del gen *BRCA2*

La variante c.9117G>A es el cambio de una guanina por una adenina en el exón 23 del gen *BRCA2*. Esta variante es un cambio sinónimo, ya que, el codón generado sigue traduciendo una prolina. Sin embargo, esta VP afecta a una zona de *splicing* que se encuentra al final del exón 23. Esta alteración conlleva la eliminación del exón 23 y una alteración del marco de lectura que genera una proteína BRCA2 truncada no funcional o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Esta variante se ha descrito en 2 CI de la población PANEL y se considera una variante recurrente en familias con SCMOH en la Región de Murcia (168).

2.2.4.12. c.290_293delACAA del gen *BRIP1*

La variante c.290_293delACAA es la delección de la secuencia ACAA del exón 4 del gen *BRIP1*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura generando un codón de parada prematuro en el residuo 97-98 de la proteína BRIP1 generando una proteína con pérdida de casi la totalidad de la proteína o la degradación del ARN mensajero por mecanismo NMD. Esta

IV. RESULTADOS

variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 2 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Únicamente se ha descrito en 1 CI de la población PANEL. Además, esta variante también ha sido descrita como VP en estudios de cáncer hereditario de tipo genitourinario (194).

2.2.4.13. c.903delG del gen *BRIP1*

La variante c.903delG es la delección de una guanina del exón 7 del gen *BRIP1*. Esta alteración da lugar a un cambio en el marco de lectura que ocasiona un codón de parada prematuro en el residuo 302, generando una proteína truncada con pérdida de varios dominios con actividad helicasa, la región de interacción con BRCA1, los dominios de unión a BLM y MRE11 y tres de los cuatro dominios de unión a azufre, esenciales para la actividad helicasa. Además, este codón de parada prematuro activa la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 2 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.14. c.491+1G>A del gen *EPCAM*

La variante c.491+1G>A es el cambio de una guanina por una adenina en una zona de *splicing* del gen *EPCAM*. Esta alteración conlleva la eliminación del exón 4 en el transcrito y una alteración del marco de lectura que genera una proteína EPCAM truncada no funcional o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Además, la variante c.491+1G>A del *EPCAM* está descrita en la bibliografía como variante patogénica asociada al síndrome de Lynch (195). Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.15. c.4643_4644dupCT del gen *NF1*

La variante c.4643_4644dup es una inserción de una citosina y una timina entre la posición 4643 y 4644 en el exón 34 del gen *NF1*. Esta alteración genera un cambio del marco de lectura dando lugar a un codón de parada

IV. RESULTADOS

prematureo en la posición 5 de la proteína NF1 generando una proteína truncada no funcional o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada por *VarSome* como VPP al cumplir los criterios de la ACMG PVS1 y PM2. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.16. Del ex7-11 del gen *PALB2*

Este gran reordenamiento genético consiste en la pérdida de los exones 7, 8, 9, 10 y 11 del gen *PALB2*. Se estima que la frecuencia de reordenamientos genómicos en *PALB2* en familias con SCMOH puede ser del 0,1% (196). Además, este reordenamiento genético se ha descrito en un estudio a nivel nacional y se ha asociado a cáncer de mama en un varón (50). Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.17. c.400C>T del gen *PMS2*

La variante c.400C>T es un cambio de una citosina por una timina en el exón 5 del gen *PMS2*. Esta alteración provoca un cambio de un residuo de arginina por un codón de parada en la posición 134 de la proteína *PMS2*, dando lugar a una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 3 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1, PP5 y PM2. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.4.18. c.694C>T del gen *RAD51D*

La variante c.694C>T es un cambio de una citosina por una timina en el exón 8 del gen *RAD51D*. Esta alteración provoca un cambio de un residuo de arginina por un codón de parada en la posición 232 de la proteína *RAD51D*, dando lugar a una proteína truncada o la degradación del ARN mensajero mediada por mecanismo NMD. Esta variante ha sido clasificada como VP por *ClinVar* con 2 estrellas y por *VarSome* al cumplir los criterios de la ACMG PVS1 y PP5. Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

IV. RESULTADOS

2.2.4.19. Del ex1 del gen *STK11*

Este gran reordenamiento genético consiste en la pérdida de la zona 5'UTR junto al exón 1 del gen *STK11*. Este reordenamiento genético se ha descrito en un estudio de grandes deleciones del gen *STK11* relacionadas con el síndrome de Peutz-Jeghers en familias chilenas. El estudio de co-segregación determinó que los familiares afectados con el síndrome de Peutz-Jeghers estaba presente esta deleción (197). Esta variante se ha descrito únicamente en 1 CI de la población PANEL.

2.2.5. Correlación genotipo-fenotipo

2.2.5.1. Variantes patogénicas en *BRCA1*

La media de edad al diagnóstico de los 7 CI con variantes patogénicas halladas en *BRCA1* fue de $61,6 \pm 7,6$ años con un máximo de 70 y un mínimo de 47 años.

El subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en casi todos COSAG, 6 (86%) a excepción de 1 (14%) CO de células claras. Ninguno de los CI presentó otro tipo de cáncer ginecológico.

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, todas las variantes patogénicas de *BRCA1* se hallaron en CO avanzado, considerando avanzado los estadios III y IV.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, obtuvieron respuestas sensibles en 6 (86%) y resistente en 1 (14%).

2.2.5.2. Variantes patogénicas en *BRCA2*

La media de edad al diagnóstico de los 11 CI con variantes patogénicas halladas en *BRCA2* fue de $58,2 \pm 10,4$ años con un máximo de 75 y un mínimo de 43 años.

El subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en casi todos COSAG, 10 (92%) a excepción de 1 (8%) carcinoma endometrioide de ovario.

IV. RESULTADOS

De los cuales, todos fueron de grado 3 o alto grado. Ninguno de los CI presentó otro tipo de cáncer ginecológico.

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, todas las variantes patogénicas de *BRCA2* se hallaron en CO avanzado, considerando avanzado los estadios III y IV.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, todos obtuvieron respuestas sensibles y no se hallaron resistencias a la quimioterapia basada en platino.

2.2.5.3. Variantes patogénicas en genes no *BRCA1/2*

La media de edad al diagnóstico de los 9 CI con variantes patogénicas halladas el resto de los genes del panel fue $59,4 \pm 15$ años con un máximo de 84 y un mínimo de 33 años.

El subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en casi todos COSAG, 7 (78%) a excepción de 1 (11%) CO endometriode y 1 (11%) CO seroso de grado 2 o moderadamente diferenciado. Uno de los CI estudiados (11%) presentó otro tipo de cáncer ginecológico (cáncer de trompa de Falopio).

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, casi todas las variantes patogénicas 8 (89%) se hallaron en CO avanzado salvo 1 (11%) estadio FIGO IIB, se consideraron avanzados los estadios III y IV.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, obtuvieron respuestas sensibles en 6 (67%) y resistente en 3 (33%).

2.2.6. Variantes de significado clínico desconocido

Del total de las 59 variantes halladas en la población PANEL, 34 variantes encontradas en los genes estudiados se clasificaron como variantes de significado clínico desconocido o VUS. De las cuales, 2 (6%) se hallaron en el gen *ATM*, 1 (3%) en el gen *BARD1*, 3 (9%) en el gen *BRCA2*, 2 (6%) en el gen *BRIP1*, 3 (9%) en el gen *CHEK2*, 1 (3%) en el gen *EPCAM*, 3 (9%) en el gen *MLH1*, 1 (3%) en el gen *MSH2*, 5 (15%) en el gen *MSH6*, 2 (6%) en el gen

IV. RESULTADOS

NBN, 3 (9%) en el gen *NF1*, 1 (3%) en el gen *PALB2*, 3 (9%) en el gen *PMS2*, 1 (3%) en el gen *RAD51C*, 1 (3%) en el gen *RAD51D* y 2 (6%) en el gen *STK11*. La aportación de cada gen a las VUS halladas se muestra en la figura que aparece a continuación (**Figura IV.20**).

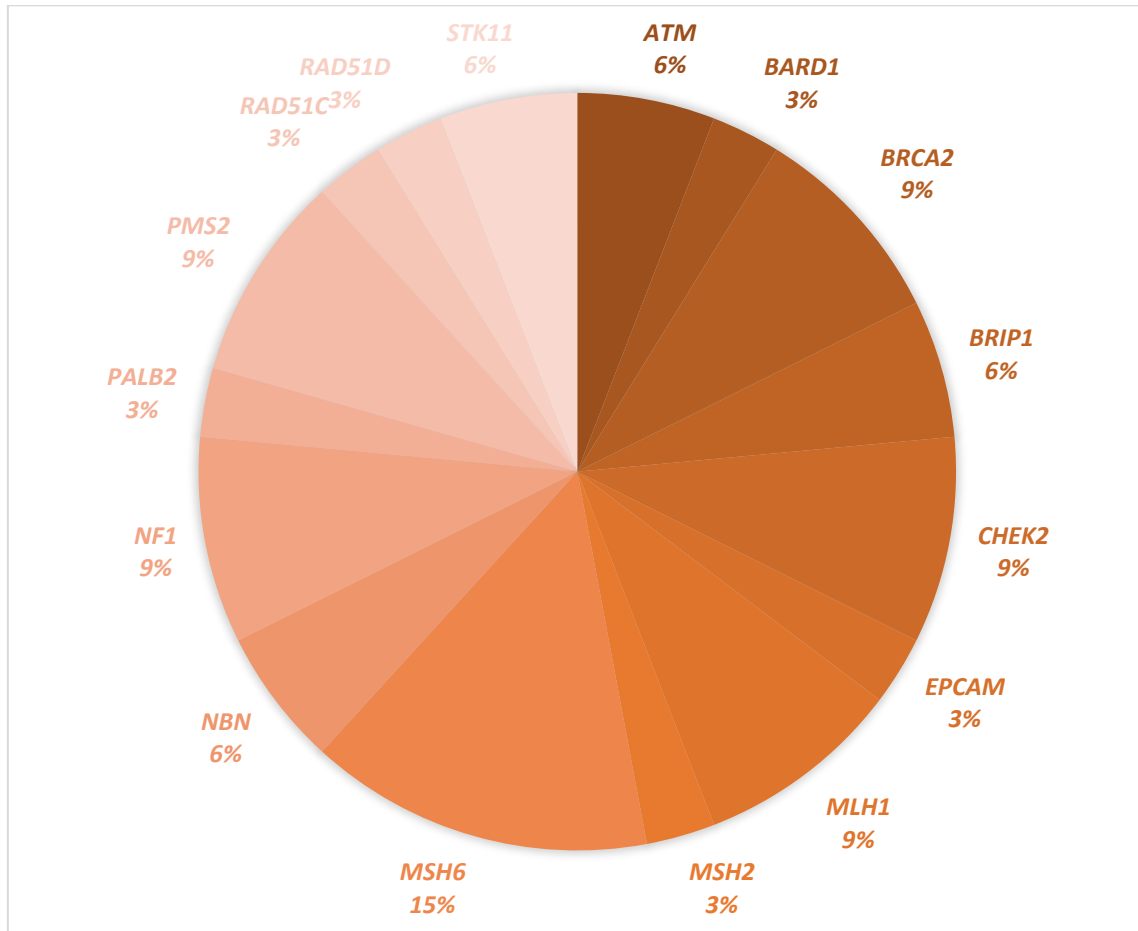


Figura IV.20. Proporción de VUS aportadas por cada gen estudiado en la población PANEL.

Respecto a la aportación de las distintas patologías relacionadas con CO hereditario su aportación a las VUS encontradas se pueden agrupar según los genes históricamente relacionados con el SCMOH *BRCA1/2* han supuesto 3 (12%), el gen relacionado con la ataxia-telangiectasia un 2 (8%), los genes relacionados con la anemia de Fanconi 5 (19%), los genes relacionados con el Síndrome de Lynch 14 (54%), el gen relacionado con el Síndrome de Peutz-Jeghers 1 (4%) y otros (*BARD1*, *CHEK2*, *NBN* y *NF1*) 9 (35%). Tampoco se detectó ninguna VUS en el gen *TP53* relacionado con el Síndrome de Li-Fraumeni (**Figura IV.21**).

IV. RESULTADOS

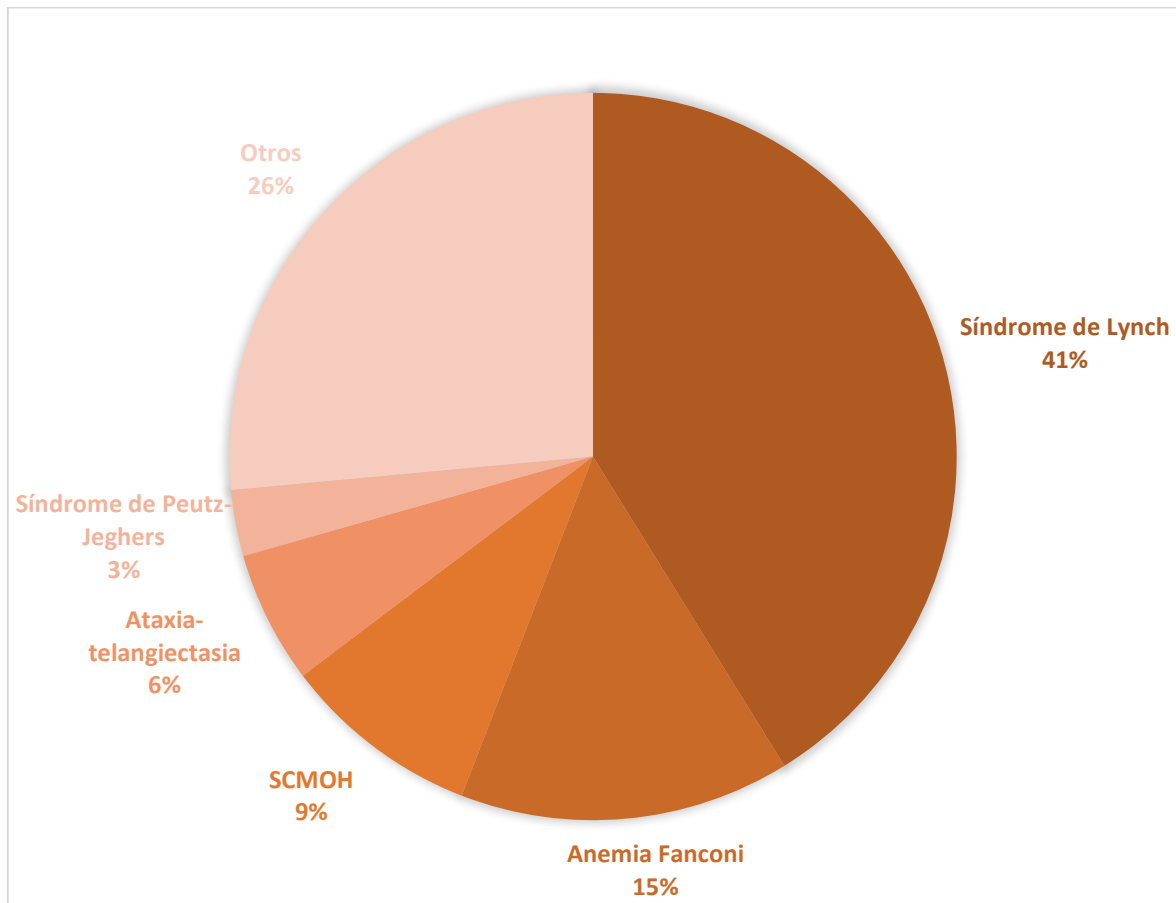


Figura IV.21. Proporción de variantes patológicas aportadas por cada patología relacionada con CO hereditario en la población PANEL.

Desde el punto de molecular, de las 34 variantes estudiadas, 1 (3%) se correspondió con mutación tipo *frameshift*, 31 (91%) con mutaciones de un único nucleótido SNV, de las cuales 30 (88%) fueron mutaciones *missense* y 1 (3%) mutación sinónima. Además, también se hallaron 2 (6%) mutaciones SSM (**Figura IV.22**).

IV. RESULTADOS

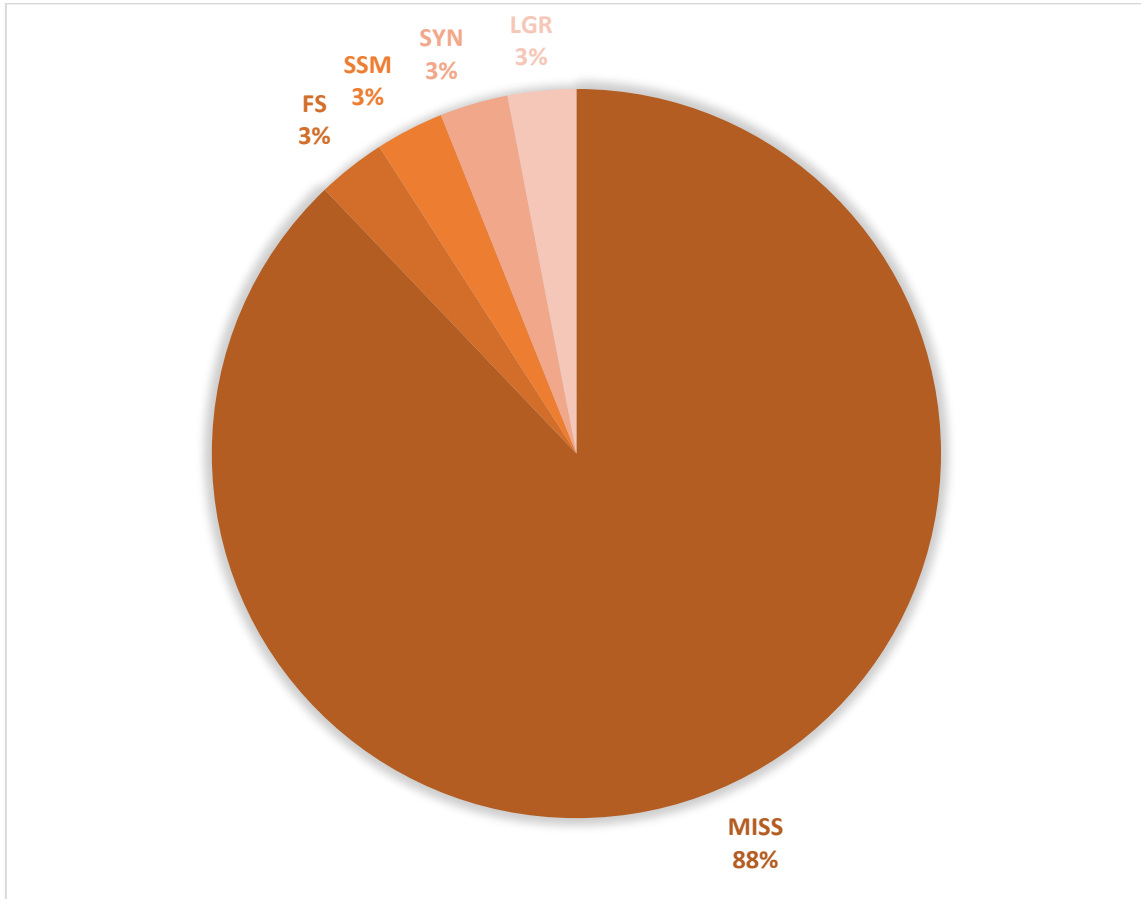


Figura IV.22. Distribución de las VUS halladas según su clasificación molecular en la población PANEL. MISS: *missense*, LGR: *large genomic rearrangement*, SYN: *synonymous*, SSM: *splice site mutation*, FS: *frameshift*.

Las VUS obtenidas en la población PANEL (**Tabla IV.22**) se priorizaron siguiendo el algoritmo propio del LDG del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Publicado por Rosado Jiménez L. en “Estudio de variantes genéticas recurrentes y priorización de variantes de significado clínico desconocido asociadas al síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario en familias de la Región de Murcia”. Una vez aplicado el algoritmo de priorización de VUS se obtuvieron 3 (9%) VUS priorizadas y 31 (91%) VUS no priorizadas.

Respecto a la correlación genotipo-fenotipo, la media de edad al diagnóstico de los 40 CI con VUS halladas en los genes estudiados en la población PANEL fue de $63,2 \pm 5$ años con un máximo de 74 y un mínimo de 52 años.

IV. RESULTADOS

El subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en todos COSAG.

El estadio FIGO al momento del diagnóstico, casi todas las VUS 38 (95%) se hallaron en CO avanzado, excepto 2 (5%) con estadio precoz, se consideraron precoces los estadios FIGO I y II y avanzados los estadios FIGO III y IV.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, obtuvieron una respuesta sensible en 34 (85%) y resistente en 6 (15%).

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/ Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	Tipo de variante	ClinVar	HGMD	VarSome	REVEL score	Criterios ACMG	Reclasificación	Familia
ATM	29	c.4396C>G	p.Arg1466Gly	rs730881369	MISS	VUS (4), VPB (1)	VUS CM2135370	VUS	0.552	PM2, PP3, BP1	VUS	OL-189
	56	c.8207A>G	p.Asn2736Ser	rs1190456608	MISS	VUS (3)	VUS CM195473	VUS	0.567	PM2, BP1	VUS	OL-40
BARD1	1	c.152C>T	p.Ser51Leu	rs766788652	MISS	VUS (4)	ND	VUS	ND	PM2, PP3, BP1	VUS P	OL-119
BRCA2	11	c.5200G>A	p.Glu1734Lys	rs786202543	MISS	VUS (7), VPB (2)	ND	VPB	0.201	BP1, BP4, PM2	VUS	OL-171
		c.5723T>C	p.Leu1908Pro	rs80358797	MISS	VUS (3), VPB (7), VB (2)	ND	VPB	0.116	BP4, BP1, PM2	VUS	OL-118
		c.6613G>A	p.Val2205Met	rs80358889	MISS	VUS (9), VPB (4)	VUS CM180658	VPB	0.444	BP4, BP1, PM2	VUS	OL-122 OL-134
BRIP1	7	c.868G>A	p.Gly290Ser	rs145601931	MISS	VUS (4)	VUS CM2221356	VPB	0.11	BP4, BP1, PM2	VUS	OL-130
	15	c.2220G>T	p.Gln740His	rs45589637	MISS	VUS(17), VPB (9)	VUS CM160119	VB	0.429	PM2, BS3	VUS	OL-71
CHEK2	2	c.246_260del	p.Asp82_Glu86del	rs587780181	FS	VUS (16) VPB (2) VB (1)	VUS CD030580	VUS	ND	PM4, PS3, PM2	VUS	OL-178
	IN 2-3	c.320-5T>A	-	rs121908700	SSM	VUS (2), VPB (1)	VUS CS086685	VUS	-	PM2	VUS	OL-33
												OL-143
7	c.870C>A	p.Asn290Lys	rs2052980129	MISS	VUS	ND	ND	ND	-	PM2	VUS	OL-194

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/ Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	Tipo de variante	ClinVar	HGMD	VarSome	REVEL score	Criterios ACMG	Reclasificación	Familia
EPCAM	3	c.267G>C	p.Gln89His	rs146480420	MISS	VPB (2)	ND	VPB	ND	BP6, BP4, BP7, PM2	VUS	OL-179
MLH1	2	c.157G>A	p.Glu53Lys	rs63751199	MISS	VUS (4)	ND	VUS	0.683	PM2, PP3	VUS	OL-104
	11	c.954C>A	p.His318Gln	rs146777069	MISS	VUS (4)	ND	VUS	0.453	PM1, PM2, BP4	VUS	OL-126
	16	c.1852A>G	p.Lys618Glu	rs35001569	MISS	VUS (3), VPB (9), VB (5)	VUS CM973729	VPB	0.874	BS1, BS2, BP4, PM5, PM1	VUS	OL-194
MSH2	5	c.656G>C	p.Arg219Thr	rs878853821	MISS	VUS	ND	VUS	0.788	PM2, PP3, BP1	VUS P	OL-207
MSH6	1	c.227T>A	p.Leu76Gln	rs587780672	MISS	VUS (3)	ND	VPB	0.37	BP1, BP4, PM2	VUS	OL-171
	4	c.663A>C	p.Glu221Asp	rs41557217	MISS	VUS (6), VPB (11), VB (5)	ND	VB	0.316	BS3, BP4, BP1, PM2	VUS	OL-110
		c.884A>G	p.Lys295Arg	rs267608051	MISS	VPB	VUS CM53328	VUS	0.591	BP4, BP1, BP6, PM2	VUS	OL-150
		c.1871G>T	p.Gly624Val	rs763606858	MISS	VUS (1), VPB (1)	ND	VUS	0.141	PM2, BP4, BP1	VUS	OL-140
		c.2291C>T	p.Thr764Ile	rs561198849	MISS	VUS	ND	VUS (7), VB (1)	0.347	PM1, PM2, PP3	VUS	OL-121
NBN	5	c.505C>T	p.Arg169Cys	rs182756889	MISS	VUS (11), VPB (2)	ND	VPB	0.173	BP4, BP1, PM2	VUS	OL-145
	6	c.680T>C	p.Phe227Ser	rs749025721	MISS	VUS (3)	ND	VUS	0.873	PP3, PM2, BP1	VUS P	OL-182
NF1	17	c.1960C>T	p.Pro654Ser	rs765281937	MISS	VUS (3)	ND	VPB	0.1	BP4, BP1, PM2	VUS	OL-187
	18	c.2188A>T	p.Asn730Tyr	rs758893131	MISS	VUS (3)	ND	VPB	0.066	BP4, BP1, PM2	VUS	OL-128
												OL-138
												OL-194

IV. RESULTADOS

Gen	Exón/ Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	Tipo de variante	<i>ClinVar</i>	HGMD	<i>VarSome</i>	REVEL score	Criterios ACMG	Reclasificación	Familia
NF1	47	c.6780A>C	p.Gly2260Gly	rs1567618228	SYN	ND	ND	VPB	ND	BP4, BP7, PM2	VUS	OL-132
PALB2	18	c.2188A>T	p.Asn730Tyr	rs758893131	MISS	VUS (3)	ND	VPB	0.066	BP4, BP1, PM2	VUS	OL-128
PMS2	IN 6-7	c.706-4dupA	-	rs60794673	SSM	VUS (2), VPB (4), VB (9)	ND	VB	ND	BA1, BP4	VUS	OL-138
	9	c.1437C>G	p.His479Gln	rs63750685	MISS	VPB (5)	ND	VB	ND	BP6, BP4, BP7, PM2	VUS	OL-194
	10	c.2174C>T	p.Ala725Val	rs150630090	MISS	VUS (7)	ND	VPB	0.133	BP4, BP1, PM2	VUS	OL-159
RAD51C	3	c.492T>G	p.Phe164Leu	rs573992101	MISS	VUS (11)	ND	VUS	0.575	PP3, PM2, BP1	VUS	OL-182
RAD51D	8	c.715C>T	p.Arg239Trp	rs770250516	MISS	VUS (9), VPB (2)	VUS CM128414	VPB	0.287	BP1	VUS	OL-188
STK11	1	c.151A>C	p.Met51Leu	rs730881986	MISS	VUS (6)	ND	VUS	0.334	PM1, PM2, BP4	VUS	OL-165
	9	c.1062C>G	p.Phe354Leu	rs59912467	MISS	VUS (3), VPB (5), VB (23)	ND	VB	0.156	BP6, BS1, BS2, BP4, BP1	VUS	OL-129 OL-140

Tabla IV.22. VUS obtenidas en la población PANEL y su reclasificación. VUS: variante de significado clínico desconocido, VUS P: variante de significado clínico desconocido priorizada, VUS NP: variante de significado clínico desconocido no priorizada, VP: variante patogénica, FS: *frameshift*, SNV: variante de un solo nucleótido, SSM: variante de *splicing*, COSAG: cáncer de ovario seroso de alto grado, SENS: sensible, RESIST: resistente.

IV. RESULTADOS

2.2.6.1. VUS priorizadas

Se hallaron un total de 3 VUS priorizadas en 3 CI en la población PANEL, 1 (33,3%) en el gen *BARD1*, 1 (33,3%) en el gen *MSH2* y 1 (33,3%) en el gen *NBN*. Las variantes priorizadas fueron:

- c.152C>T del gen *BARD1*, esta variante de tipo *missense* es un cambio de una citosina por una timina en el exón 1 de 10 del transcrito del gen *BARD1*. Esta mutación puntual provoca el cambio de un residuo de serina por uno de leucina en la posición 51 de la proteína BARD1. Además, esta variante se encuentra a -7pb de una zona de *splicing*. La frecuencia poblacional de esta variante es muy baja ($f=1,3 \cdot 10^{-5}$ y cobertura de 34,2) cumpliendo el criterio PM2 de la ACMG. Sin embargo, la mayoría de las variantes *missense* del gen *BARD1* (95,9%) son de tipo benigno, criterio BP1 de la ACMG. Por otro lado, la herramienta para predecir patogenicidad de SNVs MetaRNN le otorga una puntuación de 0,783 criterio PP3 de la ACMG. En *ClinVar* está clasificada como VUS con 2 estrellas. Siguiendo el algoritmo de priorización de VUS de nuestro laboratorio esta VUS se priorizó para realizar su seguimiento.
- c.656G>C del gen *MSH2*, esta variante de tipo *missense* es un cambio de una guanina por una citosina en el exón 4 de 16 del transcrito del gen *MSH2*. Esta mutación puntual provoca el cambio de un residuo de arginina por uno de treonina en la posición 219 de la proteína MSH2. La frecuencia poblacional de esta variante carece de registros con una cobertura de 31,0 cumpliendo el criterio PM2 de la ACMG. La zona de esta variante presenta una puntuación de conservación filogenética de 7,75 según *PhyloP100way*, *MetaRNN* le otorga una puntuación de 0,83 (criterio PP3 de la ACMG) y tiene un REVEL score de 0,788. Sin embargo, la mayoría de las variantes *missense* del gen *MSH2* (52,2%) son de tipo benigno, criterio BP1 de la ACMG. Por lo que siguiendo el algoritmo de priorización de VUS de nuestro laboratorio esta VUS se priorizó para realizar su seguimiento.

IV. RESULTADOS

- c.680T>C del gen *NBN*, esta variante de tipo *missense* es un cambio de una timina por una citosina en el exón 6 de 16 del transcrito del gen *NBN*. Esta mutación puntual provoca el cambio de un residuo de fenilalanina por uno de serina en la posición 227 de la proteína *NBN*. La frecuencia poblacional de esta variante es muy baja ($f=3,9 \cdot 10^{-6}$ y cobertura de 31,4) cumpliendo el criterio PM2 de la ACMG. La zona de esta variante presenta una puntuación de conservación filogenética de 7,08 según *PhyloP100way*, *MetaRNN* le otorga una puntuación de 0,849 (criterio PP3 de la ACMG) y tiene un REVEL score de 0,873. Sin embargo, la mayoría de las variantes *missense* del gen *NBN* (94,3%) son de tipo benigno, criterio BP1 de la ACMG. Por otro lado, en *ClinVar* está clasificada como VUS con 2 estrellas. Por lo que siguiendo el algoritmo de priorización de VUS de nuestro laboratorio esta VUS se priorizó para realizar su seguimiento.

2.2.6.2. VUS no priorizadas

Se hallaron un total de 31 VUS no priorizadas en 37 CI en la población PANEL, 2 (6%) se hallaron en el gen *ATM*, 3 (10%) en el gen *BRCA2*, 2 (6%) en el gen *BRIP1*, 3 (10%) en el gen *CHEK2*, 1 (3%) en el gen *EPCAM*, 3 (10%) en el gen *MLH1*, 5 (17%) en el gen *MSH6*, 1 (3%) en el gen *NBN*, 3 (10%) en el gen *NF1*, 1 (3%) en el gen *PALB2*, 3 (10%) en el gen *PMS2*, 1 (3%) en el gen *RAD51C*, 1 (3%) en el gen *RAD51D* y 2 (6%) en el gen *STK11*. El resumen de la clasificación de las VUS obtenidas en la población PANEL se muestra en la siguiente figura (**Figura IV.23**).

IV. RESULTADOS

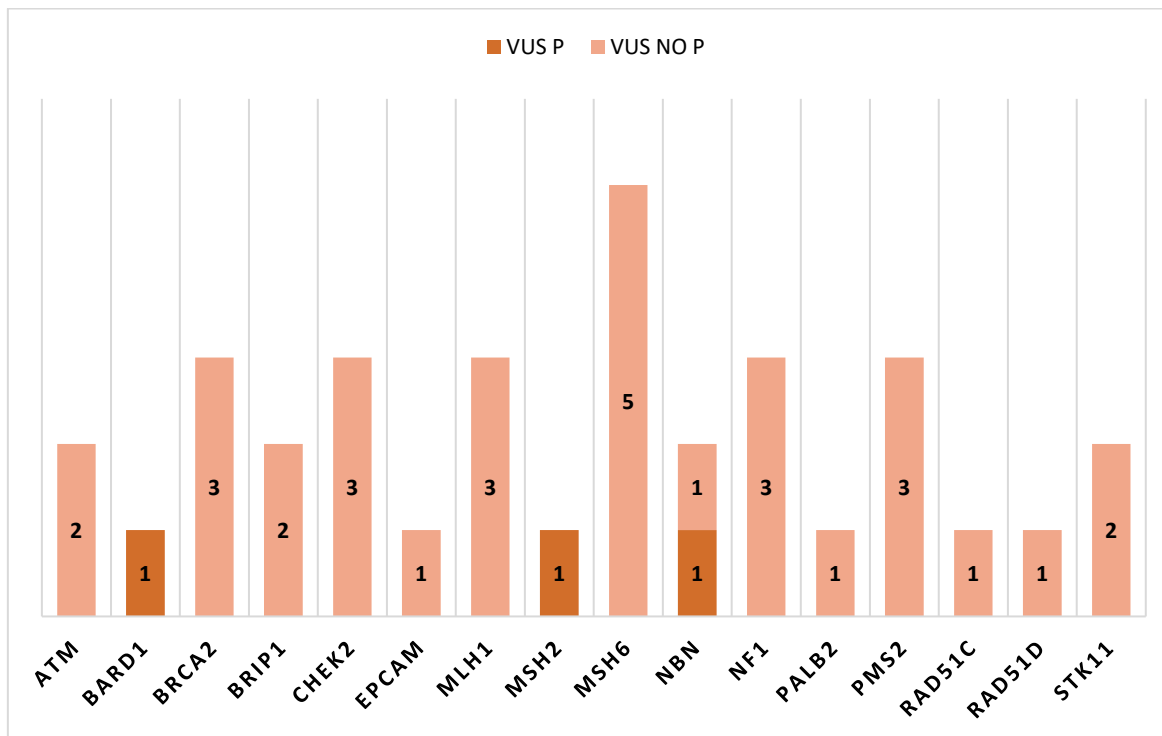


Figura IV.23. Proporción de VUS priorizadas y no priorizadas aportadas por cada gen en la población PANEL. VUS P: variante de significado clínico desconocido priorizada, VUS NO P: variante de significado clínico desconocido no priorizada.

En cuanto a la correlación genotipo-fenotipo, la media de edad al diagnóstico de los 37 CI con VUS no priorizadas halladas en estos genes fue de $63,6 \pm 5,1$ años con un máximo de 74 y un mínimo de 52 años.

El subtipo histológico de CO diagnosticado a los CI fue en todos COSAG.

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, casi todas las VUS no priorizadas 35 (95%) se hallaron en CO avanzado, excepto 2 (5%) con estadio FIGO IC.

Por último, la respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en estos CI, obtuvieron respuestas sensibles en 33 (89%) y resistente en 4 (11%).

V. DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

La muestra de este estudio estuvo formada por dos cohortes separadas por el estudio genético realizado. La primera cohorte de 86 CI diagnosticados de CO y con estudio genético en línea germinal de los genes *BRCA1* y *BRCA2* se denominó “población BRCA”. La segunda cohorte de 114 CI diagnosticados de CO y con estudio genético en línea germinal de los genes *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11* y *TP53* realizado a través de un panel de genes, se denominó “población PANEL”.

Estas dos cohortes suman un total de 200 CI diagnosticados de CO con el estudio genético en línea germinal de los genes *BRCA1* y *BRCA2*, principales genes históricamente vinculados al SCMOH.

La distribución de las edades de ambas poblaciones se muestra en la siguiente tabla y figura (**Tabla y figura V.1**).

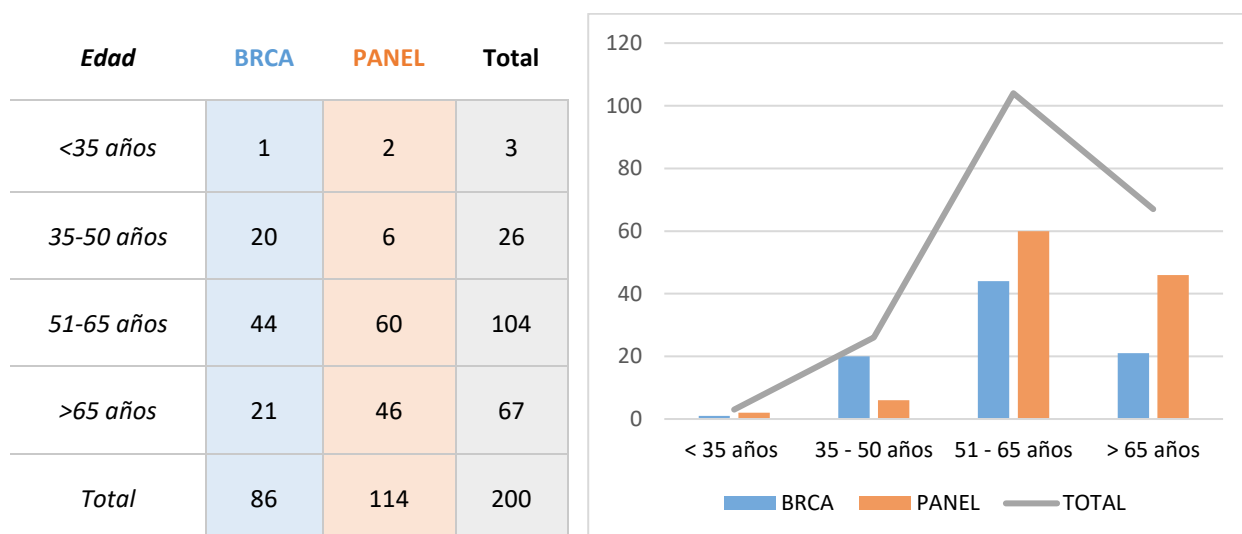


Tabla y figura V.1. Distribución de los CI de este estudio según el grupo de edad y la población.

La media de edad al diagnóstico de la población BRCA fue de $58 \pm 10,4$ años con un máximo de 78 y un mínimo de 34 años. En la población PANEL fue de $62,9 \pm 8,5$ años con un máximo de 84 y un mínimo de 33 años. La normalidad de la distribución de edad de los CI de las dos poblaciones se

V. DISCUSIÓN

comprobó con la prueba estadística Kolmogorov-Smirnov para $n > 50$ (**Tabla V.2**).

Pruebas de normalidad							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	población	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
edad	BRCA	,063	86	,200*	,984	86	,360
	PANEL	,123	114	,093	,930	114	,143

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.
a. Corrección de significación de Lilliefors

Tabla V.2. Prueba estadística Kolmogorov-Smirnov para la edad de los CI de este estudio según la población.

Para conocer si hay diferencias estadísticamente significativas entre la media de edad de las dos poblaciones se realizó la prueba T de Student (**Tabla V.3**). La prueba muestra que se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la media de edad de la población BRCA y la población PANEL ($p=0,008$). Según la SEOM, el CO es más frecuente en mujeres postmenopáusicas con una incidencia máxima entre los 50 y 75 años con una media de edad al diagnóstico alrededor de los 63 años (6). Aunque las medias de edad de ambas poblaciones presentan diferencias estadísticamente significativas, ambas se encuentran dentro de la horquilla de edad de máxima incidencia de CO. La media de edad de la población PANEL se ajusta más a los datos de la SEOM y presenta menos dispersión que la media de edad de la población BRCA.

V. DISCUSIÓN

		Prueba de muestras independientes			
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias	
		F	Sig.	t	gl
Edad	Se asumen varianzas iguales	8,480	,008	-3,650	198
	No se asumen varianzas iguales			-3,551	162,010

Tabla V.3. Prueba estadística T de Student para la variable edad de las poblaciones BRCA y PANEL.

Estas diferencias de edad pueden estar justificadas con la evolución del objetivo clínico del estudio genético del CO. Durante los primeros años, los estudios posteriores al año 2018 tenían como objetivo encontrar variantes patogénicas en los genes *BRCA1/2* dentro de un contexto de cáncer hereditario (124,198). Los estudios de cáncer hereditario asociados a *BRCA1/2* se han vinculado con fenotipos más tempranos y esto se ha traducido con una población BRCA estadísticamente más joven que la población PANEL. Por otro lado, el objetivo clínico del estudio genético del CO a través de panel de genes ha sido mayoritariamente motivado por criterios terapéuticos para el tratamiento con PARPi. Ya que, las indicaciones para el tratamiento de CO con PARPi durante los primeros años de su aprobación y comercialización estaba vinculado a genotipos *BRCA1/2+* o RHD+.

La distribución del subtipo histológico del CO diagnosticado a los CI de ambas poblaciones se muestra en la siguiente tabla y figura (**Tabla V.4** y **figura V.2**).

V. DISCUSIÓN

Subtipo histológico		BRCA	PANEL	Total
TIPO II	Seroso	74	93	167
	Endometriode	5	11	16
TIPO I	Células claras	5	8	13
	Mucinoso	2	2	4
Total		86	114	200

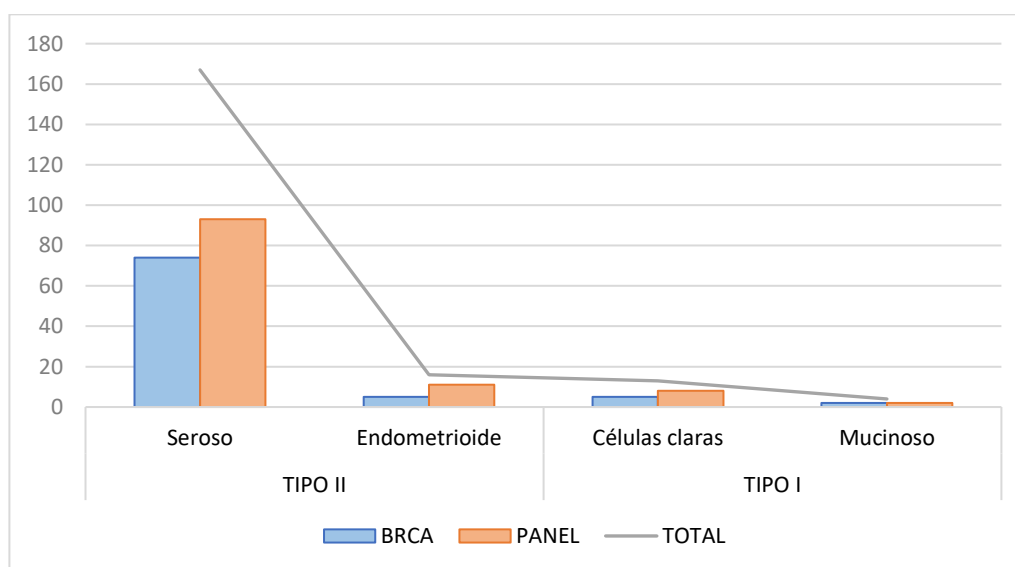


Tabla V.4 y figura V.2. Distribución de los CI de este estudio según el subtipo histológico del CO diagnosticado y la población.

Para comprobar si hay diferencias estadísticamente significativas entre la histología de las dos poblaciones se realizó la prueba chi-cuadrado (**Tabla V.5**). La prueba muestra que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la histología del CO de la población BRCA y la población PANEL.

V. DISCUSIÓN

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,208 ^a	3	,751
Razón de verosimilitud	1,238	3	,744
Asociación lineal por lineal	,224	1	,636
N de casos válidos	200		

a. 2 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1,72.

Tabla V.5. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable histología en las poblaciones BRCA y PANEL.

La distribución del estadiaje FIGO al momento del diagnóstico de los CI de ambas poblaciones se muestra en la siguiente tabla y figura (**Tabla V.6** y **figura V.3**).

Estadio FIGO		BRCA	PANEL	Total
<i>Estadio I</i>	<i>IA</i>	2	4	6
	<i>IB</i>	1	1	2
	<i>IC</i>	1	3	4
<i>Estadio II</i>	<i>IIA</i>	1	1	2
	<i>IIB</i>	2	0	2
	<i>IIC</i>	1	3	4
<i>Estadio III</i>	<i>IIIA</i>	2	10	12
	<i>IIIB</i>	7	17	24
	<i>IIIC</i>	45	42	87
<i>Estadio IV</i>	<i>IV</i>	24	33	57
<i>Total</i>		86	114	200

Tabla V.6. Distribución de los CI de este estudio según el estadiaje FIGO del CO al momento del diagnóstico y la población.

V. DISCUSIÓN

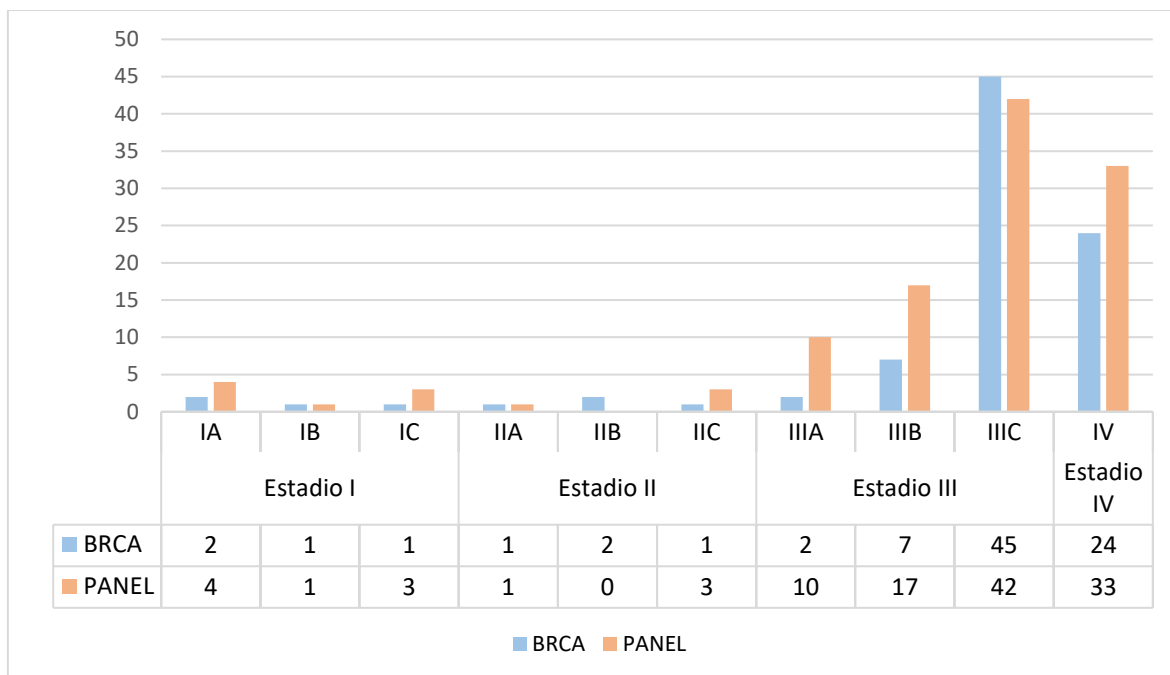


Figura V.3. Distribución de los CI de este estudio según el estadiaje FIGO del CO al momento del diagnóstico y la población.

Para comprobar si hay diferencias estadísticamente significativas entre el estadiaje FIGO al momento del diagnóstico de las dos poblaciones se realizó la prueba chi-cuadrado (**Tabla V.7**). La prueba muestra que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el estadiaje FIGO al momento del diagnóstico de la población BRCA y la población PANEL.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,677 ^a	3	,879
Razón de verosimilitud	,687	3	,876
Asociación lineal por lineal	,058	1	,810
N de casos válidos	200		

a. 2 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 3,44.

Tabla V.7. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable estadiaje FIGO en las poblaciones BRCA y PANEL.

V. DISCUSIÓN

Por último, la respuesta al tratamiento con quimioterapia basada en platino de los CI de ambas poblaciones se muestra en la siguiente tabla y figura (**Tabla V.8** y **figura V.4**).

Respuesta	BRCA	PANEL	Total
Resistente	12	18	30
Parcialmente sensible	5	9	14
Sensible	69	87	156
Total	86	114	200

Tabla V.8 y figura V.4. Distribución de los CI de este estudio según la respuesta al tratamiento con quimioterapia basada en platino y la población.

Para comprobar si hay diferencias estadísticamente significativas entre la respuesta al tratamiento con quimioterapia basada en platino de las dos poblaciones se realizó la prueba chi-cuadrado (**Tabla V.9**). La prueba muestra que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la respuesta al tratamiento de la población BRCA y la población PANEL.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,510 ^a	2	,775
Razón de verosimilitud	,516	2	,773
Asociación lineal por lineal	,303	1	,582
N de casos válidos	200		

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 6,02.

Tabla V.9. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en las poblaciones BRCA y PANEL.

2. RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO

Los resultados obtenidos en este trabajo han permitido determinar el rendimiento diagnóstico para el cáncer de ovario de alto grado en dos poblaciones a las cuales se les aplicó un estudio genético diferente. Por un lado, se calculó el rendimiento diagnóstico de los genes *BRCA1* y *BRCA2* y por otro lado, se calculó el rendimiento diagnóstico de los 20 genes recomendados por la NCCN para cáncer de ovario (161).

2.1. Rendimiento diagnóstico de los genes *BRCA1* y *BRCA2*

El rendimiento diagnóstico de los genes *BRCA1* y *BRCA2* para el cáncer de ovario de alto grado se calculó teniendo en cuenta los 86 CI estudiados en la población BRCA junto a los 114 CI analizados en la población PANEL. En la población BRCA se hallaron 5 VP en 8 CI en el gen *BRCA1* y 9 VP en 11 CI en el gen *BRCA2*. Por otro lado, en la población PANEL se hallaron 7 VP en 7 CI en el gen *BRCA1* y 9 VP en 11 CI en el gen *BRCA2* (**Tabla V.10**).

Población	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	Total	Rendimiento diagnóstico
BRCA	8 (9%)	11 (13%)	19	22%
PANEL	7 (6%)	11 (10%)	18	16%
Total	15	22	37	18,5%

Tabla V.10. Resumen de los CI con variantes clínicamente relevantes por población en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Entre paréntesis se muestran los porcentajes de los genes en cada población.

La comparativa del rendimiento diagnóstico obtenido en este estudio respecto a otros estudios publicados se muestran en la siguiente tabla (**Tabla V.11**).

V. DISCUSIÓN

Localización geográfica/ Referencia bibliográfica	Casos índice estudiados	Fenotipo asociado	Línea estudiada	Rendimiento
Estudio actual (población BRCA)	86	CO	Germinal	22%
Estudio actual (población PANEL)	114	CO	Germinal	16%
Estados Unidos / Bell et al. (32)	489	COSAG	Germinal y Somática	22%
Estados Unidos / Pal et al. (199)	209	CO	Germinal	15,3%
Canadá / Risch et al. (200)	977	CO	Germinal	13,2%
Chipre / O'Mahony et al. (201)	1242	CO	Germinal	16,1%
China / Shao et al. (202)	429	CO	Germinal	23%

Tabla V.11. Comparativa de resultados de rendimiento diagnóstico de otros estudios publicados para los genes *BRCA1* y *BRCA2* en cáncer de ovario. CO: cáncer de ovario, COSAG: cáncer de ovario seroso de alto grado.

Cabe destacar que el rendimiento diagnóstico de los genes *BRCA1/2* en las poblaciones estudiadas no se pueden tener en cuenta de manera conjunta debido a las diferencias estadísticas encontradas entre ellas. A pesar de ello, los rendimientos globales de los estudios de ambas poblaciones fueron en todos los casos superiores al 10% recomendado por la SEOM (6).

El rendimiento diagnóstico de los genes *BRCA1/2* de nuestro estudio en la población PANEL fue muy similar a los rendimientos obtenidos en estudios genotipo–fenotipo similares al nuestro, estudios en línea germinal de CI diagnosticados de CO. Sin embargo, el rendimiento diagnóstico de la población BRCA fue superior a todos, pero similar al estudio estadounidense de Bell et al. (32). Este estudio en línea germinal y somática en CI diagnosticados de COSAG obtuvo también un rendimiento diagnóstico para los genes *BRCA1/2* del 22%. Esta similitud entre resultados podría estar justificada por la mayor presencia de COSAG en proporción a otros CO en esta población (86% de COSAG en la población BRCA frente al 80% de la población PANEL) y el

escaso rendimiento diagnóstico de estos genes en línea somática que en este mismo estudio se estima en menos del 3%.

Por último, en la población BRCA se ha obtenido una mayor frecuencia de variantes patogénicas en el gen *BRCA1* (un rendimiento del 9% en la población BRCA frente al 6% de la población PANEL). Este rendimiento más elevado en la primera población estudiada puede justificarse con las diferencias halladas entre las dos muestras. La población BRCA es una población significativamente más joven que la población PANEL y las variantes patogénicas en el gen *BRCA1* están asociadas a un fenotipo de CO con una aparición más temprana (64).

2.2. Rendimiento diagnóstico del panel de 20 genes

El rendimiento diagnóstico de los genes *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11* y *TP53*, para cáncer de ovario de alto grado se calculó teniendo en cuenta los 114 CI incluidos en la población PANEL. En esta población se hallaron un total de 25 variantes patogénicas, 7 se hallaron en el gen *BRCA1*, 9 en el gen *BRCA2*, 1 en el gen *ATM*, 2 en el gen *BRIP1*, 1 en el gen *EPCAM*, 1 en el gen *NF1*, 1 en el gen *PALB2*, 1 en el gen *PMS2*, 1 en el gen *STK11* y 1 en el gen *RAD51D*. Estas 25 variantes patogénicas se hallaron en 27 CI, por lo que el rendimiento diagnóstico del estudio mediante panel de genes fue del 24%. La ampliación del estudio de los genes *BRCA1/2* a panel de genes en el estudio molecular de CO supone un incremento del 16% al 24% en el diagnóstico genético (**Tabla V.12**).

V. DISCUSIÓN

Localización geográfica/ Referencia bibliográfica	Genes estudiados	Rendimiento
Estudio actual (población PANEL)	<i>ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, NBN, NF1, PALB2, PMS2, PTEN, RAD51C, RAD51D, STK11 y TP53</i>	24%
Estados Unidos / Kurian et al. (72)	<i>APC, ATM, BARD1, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDK4, CHEK2, MLH2, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, P14ARF, P16, PALB2, PMS2, PTEN, RAD51C, RAD51D, SMAD4, STK11 y TP53</i>	14%
Canadá / Lerner-Elis et al. (203)	<i>APC, ATM, BARD1, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, FANCC, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, PALB2, PMS2, POLD1, POLE, PTEN, RAD51C, RAD51D, SMAD4, STK11 y TP53</i>	15,2%
Estados Unidos y Canadá/ Kotsopoulos et al. (204)	<i>APC, ATM, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDKN2A, CHEK2, EPCAM, ERCC2, ERCC3, FANCC, FANCM, KRAS, MEN1, MLH1, MRE11A, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, NF1, PALB2, PMS2, PPM1D, PRSS1, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, RECQL, RINT1, SLX4, TP53 y XRCC2.</i>	11,2%
China / Shao et al. (202)	<i>ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1, MRE11A, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, PALB2, PMS1, PMS2, PTEN, RAD50, RAD51C, STK11 y TP53.</i>	27%

Tabla V.12. Desglose de resultados de rendimiento diagnóstico por genes en la población PANEL y comparativa de resultados de rendimiento diagnóstico de otros estudios publicados para el estudio genético de cáncer de ovario a través de panel de genes.

El rendimiento diagnóstico de todos los estudios referenciados en la tabla anterior fue en todos los casos superiores al 10% recomendado por la SEOM (6). Teniendo en cuenta los datos obtenidos en las dos poblaciones estudiadas, el rendimiento diagnóstico calculado en la población PANEL para los genes *ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, NBN, NF1, PALB2, PMS2, PTEN, RAD51C, RAD51D, STK11 y TP53* es un valor estadísticamente más fiable debido al mayor número de CI estudiados (114 CI frente a 86 CI de la población BRCA).

En el estudio de SCMOH separado por cohortes publicado por Shao et al. (202), se estudiaron 429 CI con diagnóstico de CO. Aunque en dicho estudio no especifica el fenotipo de los CO estudiados, para incluir a los CI en este estudio se siguió la guía de la NCCN para SCMOH. Para un contexto de CO ligado al SCMOH se obtuvo un rendimiento del 23% para los genes *BRCA1/2*, un 4% para los genes (*ATM, BARD1, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1,*

V. DISCUSIÓN

MRE11A, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, PALB2, PMS1, PMS2, PTEN, RAD50, RAD51C, STK11 y TP53) estudiados a través del panel de genes y rendimiento diagnóstico global del 27%. Teniendo en cuenta la elevada prevalencia de variantes patogénicas en *BRCA1/2* en la población china estudiada, la ampliación del estudio genético a panel de genes supuso en este estudio un incremento del rendimiento diagnóstico similar al obtenido en la presente tesis doctoral. El resto de los genes en población china tienen menos peso en el rendimiento diagnóstico del análisis genético que en nuestra población.

Por otra parte, recientemente se ha publicado un estudio de 776 CI diagnosticados de CO y cáncer peritoneal por Kotsopoulos et al. (204) en el cual realizan el análisis genético mediante un panel de genes más amplio. Este panel de genes incluye los relacionados con cáncer hereditario *APC, ATM, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDKN2A, CHEK2, EPCAM, ERCC2, ERCC3, FANCC, FANCM, KRAS, MEN1, MLH1, MRE11A, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, NF1, PALB2, PMS2, PPM1D, PRSS1, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, RECQL, RINT1, SLX4, TP53 y XRCC2* fuera del contexto del SCMOH. En este estudio se obtuvo un rendimiento diagnóstico del 11,2% lo que nos indica que, a pesar de estudiar más cantidad de genes, el rendimiento diagnóstico no fue mayor.

El rendimiento diagnóstico es un valor calculado que varía mucho dependiendo de la población estudiada y los criterios de selección para realizar el estudio. En los estudios de población estadounidense y canadiense los rendimientos obtenidos rondan el 15%, con unos criterios de selección más laxos y sin hacer uso de guías como la publicada por la NCCN (199,200). En este sentido, se obtiene un mayor rendimiento diagnóstico cuando se siguen las guías de práctica clínica como las guías de la SEOM y la NCCN. De este modo, se ha obtenido un rendimiento diagnóstico del 24% y puede ser incluso mayor si hay mayor prevalencia de VP en algunos genes como en el estudio de Shao et al. (202) que alcanza un 27%.

3. ESPECTRO MUTACIONAL DEL CÁNCER DE OVARIO HEREDITARIO

Los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral han revelado que el espectro mutacional de predisposición hereditaria asociada únicamente al CO está asociado a los genes *BRCA1/2* además de otros genes estudiados mediante un panel genético. Lo que justifica el empleo de esta técnica para estudiar los genes clínicamente relevantes relacionados con el cáncer de ovario hereditario. Los resultados de este estudio demuestran que la tasa mutacional más significativa de variantes clínicamente relevantes se corresponde con los genes *BRCA1/2*, seguida de otros genes (*ATM*, *BRIP1*, *EPCAM*, *NF1*, *PALB2*, *PMS2*, *RAD51D* y *STK11*).

3.1. Análisis conjunto de los genes *BRCA1* y *BRCA2*

En la población BRCA se estudiaron 86 CI en los cuales se hallaron 5 VP en 8 CI en el gen *BRCA1* y 9 VP en 11 CI en el gen *BRCA2*. Por otro lado, en la población PANEL se estudiaron 114 CI en los cuales se hallaron 7 VP en 7 CI en el gen *BRCA1* y 9 VP en 11 CI en el gen *BRCA2*. Las variantes patogénicas halladas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* de las dos poblaciones incluidas en este estudio se pueden consultar en el **Anexo C.1**.

El paisaje genómico de las variantes patogénicas y su localización en diferentes dominios y regiones OCCR/BCCR se muestran en la figura que aparece a continuación para el gen *BRCA1* (**Figura V.5**) y en la segunda figura el gen *BRCA2* (**Figura V.6**).

V. DISCUSIÓN

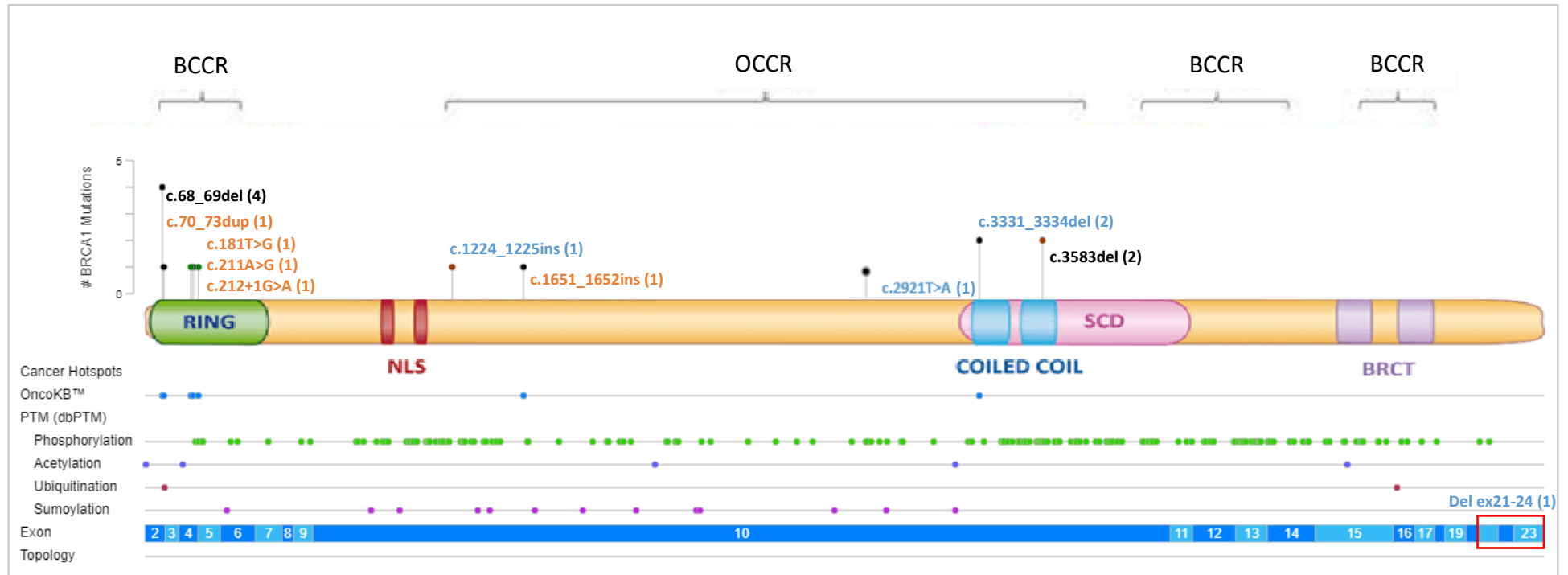


Figura V.5. Distribución de las variantes patogénicas halladas en *BRCA1* en las poblaciones BRCA y PANEL, sus principales dominios y regiones asociadas al cáncer de mama (BCCR) y al cáncer de ovario (OCCR). Figura modificada de Stella et al (182). En negrita las VP que aparecen en las poblaciones BRCA y PANEL, en azul las VP de la población BRCA y en naranja las VP de la población PANEL. Entre paréntesis, el número total de CI con la variante. Las localizaciones proteicas de los dominios funcionales se obtuvieron de la herramienta informática Mutation Mapper-cBioPortal for Cancer Genomics.

https://www.cbioportal.org/mutation_mapper?standaloneMutationMapperGeneTab

V. DISCUSIÓN

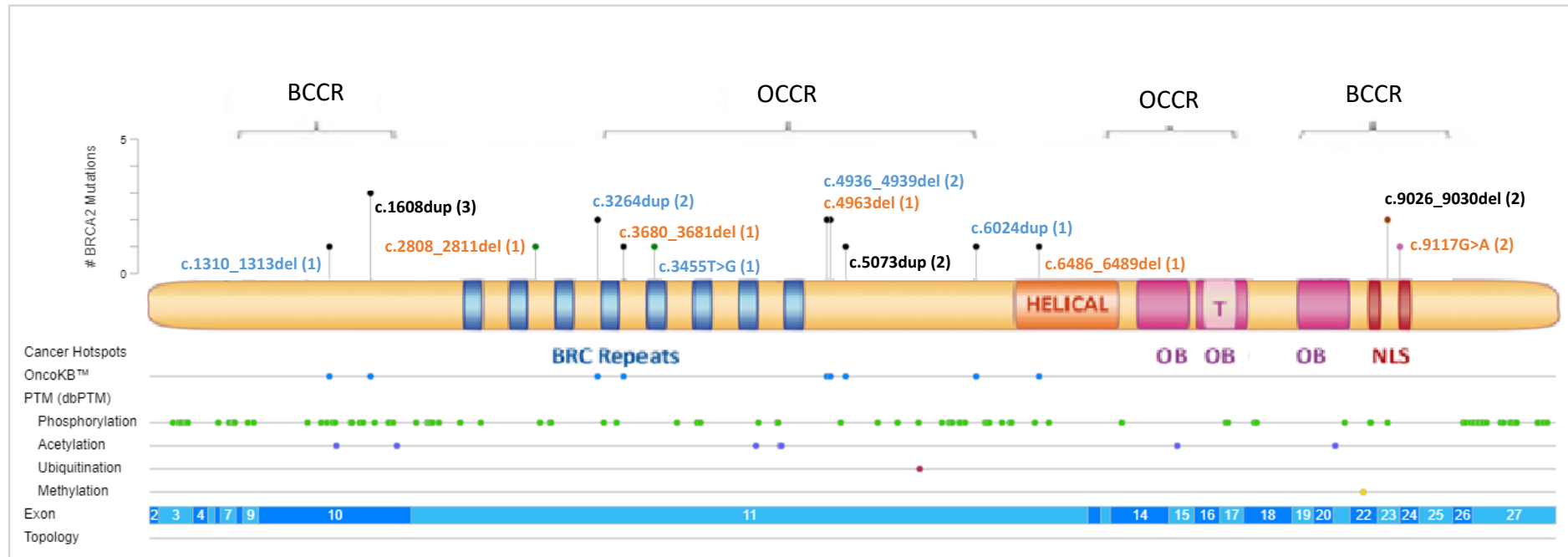


Figura V.6. Distribución de las variantes patogénicas halladas en *BRCA2* en las poblaciones BRCA y PANEL, sus principales dominios y regiones asociadas al cáncer de mama (BCCR) y al cáncer de ovario (OCCR). Figura modificada de Stella et al (182). En negrita las VP que aparecen en las poblaciones BRCA y PANEL, en azul las VP de la población BRCA y en naranja las VP de la población PANEL. Entre paréntesis, el número total de CI con la variante. Las localizaciones proteicas de los dominios funcionales se obtuvieron de la herramienta informática Mutation Mapper-cBioPortal for Cancer Genomics.

https://www.cbioportal.org/mutation_mapper?standaloneMutationMapperGeneTab

V. DISCUSIÓN

En el gen *BRCA1* se hallaron 11 VP en un total de 16 CI y en el gen *BRCA2* se hallaron 14 VP en un total de 22 CI, sumando 25 VP en 38 CI. El hallazgo de VP vinculadas a regiones BCCR/OCCR se muestra en la siguiente tabla (**Tabla V.13**).

GEN	BCCR (CI)	OCCR (CI)	VP (CI)
<i>BRCA1</i>	6 (9)	5 (7)	11 (16)
<i>BRCA2</i>	4 (8)	10 (14)	14 (22)
Total	10 (17)	15 (21)	25 (38)

Tabla V.13. Resumen de las variantes patogénicas halladas en los genes *BRCA1/2* y las regiones asociadas a cáncer de ovario y cáncer de mama. BCCR: región asociada al cáncer de mama, OCCR: región asociada al cáncer de ovario. VP: variantes patogénicas. Entre paréntesis, el número total de CI.

En este estudio, la localización de las variantes patogénicas de *BRCA1/2* en regiones OCCR/BCCR han sido: en el gen *BRCA1*, 9 CI (56%) con VP en zona BCCR y 7 (44%) VP en zona OCCR; y en el gen *BRCA2*, 8 CI (36%) con VP en zona BCCR y 14 (64%) en zona OCCR. De manera global supone una proporción del 45% de VP en zona BCCR y del 55% en zona OCCR. Sin embargo, en el gen *BRCA2* la proporción de VP en zona OCCR llega al 64% de los CI estudiados. Estos resultados son similares a los publicados en población estadounidense por Risch et al (205). En el cual, de los 649 CI estudiados se hallaron hasta un 62% de VP en región OCCR en el gen *BRCA2*.

3.2. Genes no *BRCA1/2* estudiados mediante NGS

La caracterización molecular de los genes *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11* y *TP53*, permitió hallar 25 variantes patogénicas en un total de 27 CI. En la población PANEL se hallaron 9 variantes patogénicas en genes no *BRCA1/2*, 1 en el gen *ATM*, 2 en el gen *BRIP1*, 1 en el gen *EPCAM*, 1 en el gen *NF1*, 1 en el gen *PALB2*, 1 en el gen

V. DISCUSIÓN

PMS2, 1 en el gen *STK11* y 1 en el gen *RAD51D*. El resumen de los resultados según la penetrancia, su asociación con otras patologías y su manejo clínico recomendado por la NCCN se muestra en la siguiente tabla (**Tabla V.14**). Estas variantes se pueden consultar en el **Anexo C.2**.

Gen	HGVS (ADNc)	Penetrancia	Otras patologías	Recomendaciones NCCN versión 1.2023
<i>ATM</i>	c.8251_8254delACTA	Moderada-baja	VP en homocigosis: ataxia telangiectasia	CM: incremento de riesgo. CO: riesgo potencial, pero sin evidencia para RRSO.
<i>BRIP1</i>	c.290_293delACAA	Moderada-baja	Anemia de Fanconi	CM: sin evidencia suficiente. CO: incremento de riesgo, RRSO recomendada.
	c.903delG			
<i>EPCAM</i>	c.491+1G>A	Moderada-baja	Síndrome de Lynch	CM: sin evidencia suficiente. CO: incremento de riesgo, seguir las guías de cáncer colorrectal.
<i>NF1</i>	c.4643_4644dup	Moderada-baja	Neurofibromatosis de tipo 1	CM: incremento de riesgo. CO: sin riesgo conocido.
<i>PALB2</i>	DEL Ex7-11	Moderada-baja	Anemia de Fanconi	CM: incremento de riesgo. CO: incremento de riesgo, RRSO recomendada.
<i>PMS2</i>	c.400C>T	Moderada-baja	Síndrome de Lynch	CM: sin evidencia suficiente. CO: incremento de riesgo, seguir las guías de cáncer colorrectal.
<i>RAD51D</i>	c.694C>T	Moderada-baja	Anemia de Fanconi	CM: sin evidencia suficiente. CO: incremento de riesgo, RRSO recomendada.
<i>STK11</i>	DEL Ex1	Elevada	Síndrome de Peutz-Jeghers	CM: incremento de riesgo. CO: sin evidencia suficiente.

Tabla V.14. Resumen VP halladas fuera de los genes *BRCA1/2*, su relación con otras patologías y las recomendaciones de la NCCN. NCCN: National Comprehensive Cancer Network, CM: cáncer de mama, CO: cáncer de ovario, RRSO: salpingo-ooforectomía reductora de riesgo.

Por otro lado, la comparativa de los hallazgos clínicamente relevantes en los genes asociados a CO estudiados a través de panel de genes disponible en la bibliografía respecto a este estudio se muestra en las siguientes tablas (**Tabla V.15 y V.16**).

V. DISCUSIÓN

Localización geográfica / Referencia bibliográfica	Genes BRCA1/2	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	Genes no BRCA	<i>ATM</i>	<i>BRIP1</i>	<i>EPCAM</i>	<i>NF1</i>	<i>PALB2</i>	<i>PMS2</i>	<i>RAD51D</i>	<i>STK11</i>
Estudio actual (población PANEL)	66,7%	25,9%	40,8%	33,3%	3,7%	7,4%	3,7%	3,7%	3,7%	3,7%	3,7%	3,7%
Estados Unidos / Kurian et al. (72)	63,5%	27,8%	35,7%	36,5%	6%	5%	NI	NI	3,8%	3%	1,3%	0,3%
Estados Unidos / Norquist et al. (43)	79,5%	51,7%	27,8%	20,5%	NI	7,4%	NI	NI	3,4%	1,1%	3,1%	NI
Estados Unidos / Walsh et al. (80)	74,2%	47,1%	27,1%	25,9%	ND	4,7%	NI	NI	2,4%	ND	NI	ND
Estados Unidos y Canadá / Kotsopoulos et al. (204)	65,9%	34,1%	31,8%	34,1%	7,3%	4,9%	ND	ND	6,1%	ND	2,4%	NI
China / Shao et al. (202)	86,1%	57,4%	28,7%	13,9%	ND	4,3%	NI	NI	ND	ND	NI	0,9%

Tabla V.15. Desglose del rendimiento diagnóstico obtenido para cada gen con VP en la población PANEL y comparativa disponible en la bibliografía respecto a este estudio. ND: variantes no descritas en el gen, NI: gen no incluido en el estudio genético.

V. DISCUSIÓN

Localización geográfica / Referencia bibliográfica	Genes <i>BRCA1/2</i>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	Genes no <i>BRCA</i>	<i>ATM</i>	<i>BRIP1</i>	<i>EPCAM</i>	<i>NF1</i>	<i>PALB2</i>	<i>PMS2</i>	<i>RAD51D</i>	<i>STK11</i>
Localización geográfica / Referencia bibliográfica	Genes <i>BRCA1/2</i>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	Genes no <i>BRCA</i>	<i>ATM</i>	<i>BRIP1</i>	<i>EPCAM</i>	<i>NF1</i>	<i>PALB2</i>	<i>PMS2</i>	<i>RAD51D</i>	<i>STK11</i>
Estudio actual (población PANEL)	15,8%	6,1%	9,7%	7,9%	0,9%	1,6%	0,9%	0,9%	0,9%	0,9%	0,9%	0,9%
Estados Unidos / Kurian et al. (72)	9%	3,96%	5,08%	5,8%	0,9%	0,72%	NI	NI	0,42%	0,42%	0,18%	0,04%
Estados Unidos / Norquist et al. (43)	14,6%	9,5%	5,1%	3,7%	NI	1,3%	NI	NI	0,06%	NI	0,06%	NI
Estados Unidos / Walsh et al. (80)	17,5%	11,1%	6,4%	6,1%	ND	1,1%	NI	NI	0,06%	ND	NI	ND
Estados Unidos y Canadá / Kotsopoulos et al. (204)	8%	4,3%	3,7%	5%	0,9%	0,6%	ND	ND	0,7%	ND	0,3%	NI
China / Shao et al. (202)	23,1%	15,4%	7,7%	3,7%	ND	0,77%	NI	NI	ND	ND	NI	0,23%

Tabla V.16. Frecuencia mutacional obtenida para cada gen con VP en la población PANEL y comparativa disponible en la bibliografía respecto a este estudio. ND: variantes no descritas en el gen, NI: gen no incluido en el estudio genético.

V. DISCUSIÓN

En este estudio se han hallado variantes clínicamente relevantes en genes que, aunque no estén vinculados a un incremento de riesgo conocido a CO, es necesario entenderlos dentro del contexto de SCMOH. Cabe destacar que la propia patología de CO de alto grado es un criterio de inclusión para SCMOH, por este motivo el hallazgo de VP en genes como *NF1* con evidencia contradictoria para el CO se pueden manejar clínicamente dentro del SCMOH. Asimismo, el reciente estudio de Kotsopoulos et al. (204) publicado en el año 2023, ha relacionado el CO con VP en el gen *ATM*.

El gen *STK11* se considera un gen de elevada penetrancia para SCMOH asociado al síndrome de Peutz-Jeghers. Aunque no existe suficiente evidencia para asociar al gen *STK11* con un incremento de riesgo para CO, esta patología puede presentarse como forma del fenotipo del síndrome de Peutz-Jeghers (98,102,197). Además, algunas variantes patogénicas halladas en *STK11* descritas en los estudios de Kurian et al. (72) y Shao et al. (202) se han vinculado al CO. Por otro lado, este gen presenta evidencia que lo relaciona con el incremento de riesgo para CM según la guía de la NCCN versión 1.2023 por lo que también sería necesario entenderlo dentro del contexto de SCMOH (206,207).

Los genes *EPCAM* y *PMS2* involucrados en el mecanismo de reparación del ADN MMR son genes asociados con incremento de riesgo de CO descrito en algunos estudios (71,123) y según la guía de la NCCN versión 1.2023. Además, *EPCAM* y *PMS2* se consideran genes de moderada penetrancia asociados al síndrome de Lynch. Variantes patogénicas en ambos genes están relacionadas con un incremento de riesgo para el CO cuyo manejo clínico está descrito en las guías de práctica clínica del cáncer colorrectal (195,208,209).

Los genes pertenecientes a la vía de la anemia de Fanconi *BRIP1*, *PALB2* y *RAD51D*, poseen evidencia suficiente para considerarse genes de moderada-baja penetrancia del SCMOH. Los hallazgos de VP en ambos genes tienen un manejo clínico similar al de los genes *BRCA1/2* según la guía de práctica clínica de la NCCN versión 1.2023.

V. DISCUSIÓN

Respecto a posibles hallazgos incidentales, al utilizar un panel de genes dirigido a genes de accionabilidad clínica para el SCMOH, no se han encontrado. En cambio, se han encontrado VP en genes no relacionados con el fenotipo CO, estos hallazgos que podrían considerarse incidentales para este fenotipo, se han tenido en cuenta desde el punto de vista clínico del SCMOH. Por otro lado, en estudios genéticos de CO mediante panel de genes de cáncer hereditario no dirigido al SCMOH, el manejo de hallazgos incidentales puede suponer hasta un 4,5% de las VP obtenidas (204).

4. VARIANTES DE SIGNIFICADO CLÍNICO DESCONOCIDO

De las 19 variantes genéticas que se hallaron en la población BRCA formada por 86 CI, únicamente 4 se clasificaron como variantes de significado clínico desconocido. De las cuales, 1 se halló en el gen *BRCA1* y 3 en el gen *BRCA2*.

Por otro lado, en la población PANEL formada por 114 CI, se hallaron VUS de manera uniforme en casi todos los genes estudiados (*ATM, BARD1, BRCA2, BRIP1, CHEK2, EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, NBN, NF1, PALB2, PMS2, RAD51C, RAD51D, STK11*). Sin embargo, no se hallaron VUS en los genes *BRCA1, CDH1, PTEN* y *TP53* estudiados a través del panel. La comparación entre VP y VUS obtenidas en los genes *BRCA1/2* frente al resto de genes estudiados en la población PANEL se muestra en la siguiente tabla (Tabla V.17).

	<i>BRCA1/2</i>	RESTO GENES	Total
Variantes patogénicas	16	9	25
Variantes de significado clínico desconocido	3	31	34
Total	19	40	59

Tabla V.17. Comparativa de las variantes halladas en la población PANEL y su clasificación desde el punto de vista clínico.

La discordancia entre las 16 VP de los genes *BRCA1/2* frente a las 9 VP del resto de genes es esperable y son concordantes con la bibliografía. La evidencia científica destaca una mayor prevalencia de las variantes patogénicas asociadas a *BRCA1* y *BRCA2*, puesto que son considerados los principales genes responsables de la predisposición hereditaria asociada al cáncer de ovario (32).

Además, la evolución cronológica del diagnóstico molecular basado en el análisis de los genes *BRCA1/2* ha permitido su estudio más detallado y por este motivo las 3 VUS halladas en los genes *BRCA1/2* suponen un escaso 9% frente al 81% del resto de las 31 VUS halladas en los otros genes estudiados mediante el panel. En el trabajo de Castillo Guardiola V. “Aportación de la Secuenciación Masiva de Nueva Generación en el Diagnóstico del Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario Mediante el Uso de un Panel de Genes” (189) se obtuvieron resultados parecidos respecto a la cantidad de VUS halladas a través del análisis genético con un panel de genes similar. En el estudio anteriormente citado, se hallaron 79 VUS en 138 CI relacionados con el SCMOH. De manera semejante al presente estudio, se hallaron únicamente 3 VUS en los genes *BRCA1/2* y el resto de VUS se localizaron en otros genes analizados a través del panel.

4.1. Reclasificación y priorización de VUS

Los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral han reflejado el incremento del número de VUS halladas que supone la realización del estudio genético mediante paneles de genes de predisposición al cáncer hereditario. Este aumento del número de VUS detectadas supone un dilema importante asociado al diagnóstico molecular del cáncer hereditario. Estas variantes se descubren con evidencia científica insuficiente para ser clasificadas como benignas o patogénicas y esto implica varias complicaciones a la hora del manejo clínico de los pacientes y sus familiares (179).

Según la declaración europea de consenso y las recomendaciones de expertos, es recomendable informar de las VUS halladas en *BRCA1/2* y otros genes de riesgo relativo alto. No obstante, esta información no debe ser

V. DISCUSIÓN

considerada para la toma de decisiones clínicas ni para estudios familiares (210).

Por estos motivos, el Comité de Asesoramiento Genético de la Región de Murcia ha decidido de forma consensuada informar únicamente las VUS priorizadas. Sin embargo, todas las VUS detectadas se almacenan en una base de datos la cual permite la reevaluación continua de estas variantes para realizar el seguimiento de los CI a la espera de nuevos hallazgos que aporten evidencia científica para su clasificación clínica definitiva.

Con el objetivo de facilitar este proceso, durante estos últimos años nuestro grupo de trabajo ha diseñado diferentes algoritmos destinados a la clasificación de variantes genéticas y priorización de VUS que se han ido modificando según las evidencias científicas publicadas. Los criterios de priorización de variantes del algoritmo actual, se fundamenta en la accionabilidad clínica de los genes y en las predicciones estimadas por las herramientas bioinformáticas disponibles. Este algoritmo permite seleccionar aquellas variantes susceptibles de patogenicidad, denominadas VUS priorizadas (211). De esta manera, se priorizan variantes intrónicas (± 10 pb) y exónicas con posibilidad de afectar al splicing según predicciones *in silico* y variantes *missense* con una puntuación mayor o igual a 0,7 en REVEL, además de variantes genéticas con elevada probabilidad de ser deletérea según bibliografía disponible.

En la presente tesis doctoral se hallaron un total de 39 VUS (34 VUS pertenecieron a la población PANEL y 5 a la población BRCA). Tras realizar una revisión bibliográfica exhaustiva y aplicar el algoritmo de priorización diseñado en el trabajo de Rosado Jiménez L. en “Estudio de variantes genéticas recurrentes y priorización de variantes de significado clínico desconocido asociadas al síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario en familias de la Región de Murcia”, se priorizaron 3 VUS. Cabe destacar que el diseño de este algoritmo parte del algoritmo de Bonache y colaboradores (107). Este algoritmo se modificó para su uso en genes clínicamente accionables, se añadió el cribado de *splicing* aberrante para considerar variantes ± 10 pb del

V. DISCUSIÓN

sitio de *splicing* y se añadió la puntuación obtenida en REVEL para variantes *missense*.

El resumen de las variantes encontradas en este estudio se muestra en la siguiente figura (**Figura V.7**).

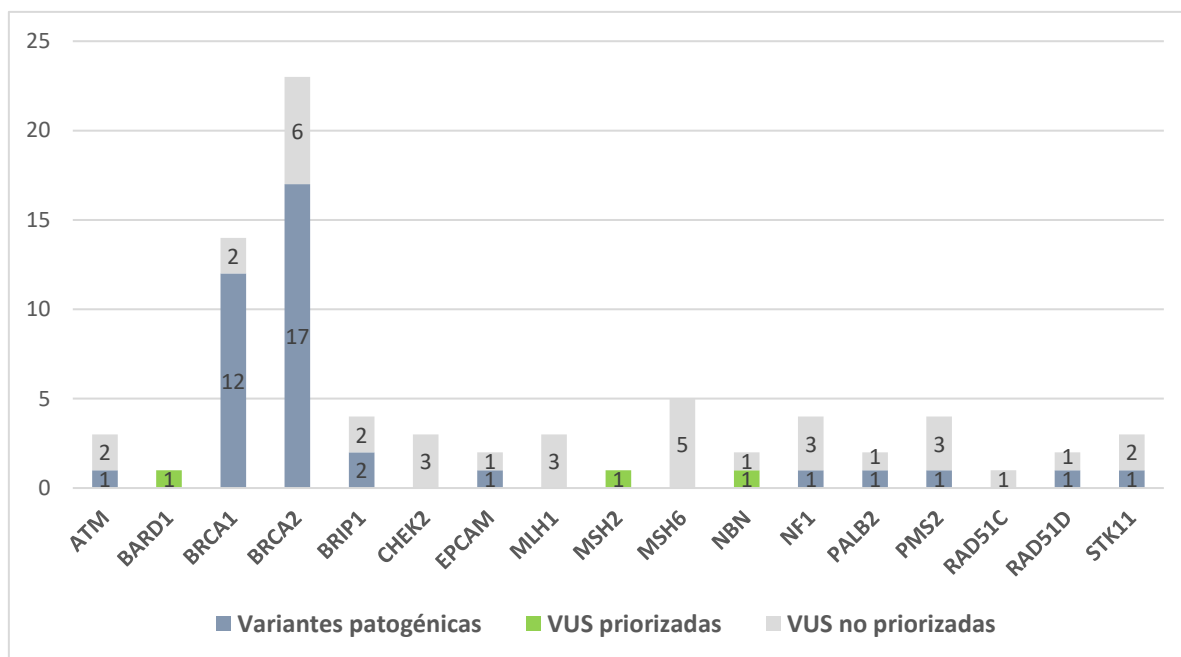


Figura V.7. Resumen de las variantes patológicas, VUS priorizadas y VUS no priorizadas detectadas en genes clínicamente relevantes.

Gracias a la implementación de este algoritmo, se ha notificado las 3 VUS priorizadas a los CI portadores y sus familias. Esto permitirá realizar un seguimiento periódico de estas pacientes, quedando a la espera de evidencia científica que permita una reclasificación definitiva de estas variantes y un asesoramiento genético basado en esta evidencia. Sin embargo, por el momento es necesario continuar aplicando este algoritmo para obtener un mayor número de resultados y conclusiones que permitan seguir mejorando el proceso de reclasificación y priorización de VUS.

Desde un punto de vista clínico, se emitieron 200 informes para los CI incluidos en este estudio, 86 pertenecieron a la población BRCA y 114 a la población PANEL. De estos 200 informes, 20 (10%) se emitieron por VP halladas en la población BRCA y 30 (15%) por variantes clínicamente

V. DISCUSIÓN

relevantes en la población PANEL. De las cuales, 27 (13%) informes se elaboraron por VP y otros 3 (2%) por VUS priorizadas. El resto de los 150 (75%) informes fueron no informativos para variantes clínicamente relevantes en el resto de los CI. La ausencia de informes emitidos por VUS priorizadas en la población BRCA se debe a que la priorización de VUS no estaba implementada durante el estudio de la población BRCA. En cualquier caso, las VUS de esta población no cumplen criterios para ser priorizadas. Los aportes de las VP y VUS priorizadas a los informes generados en el LDG se muestran en la siguiente figura (**Figura V.8**).

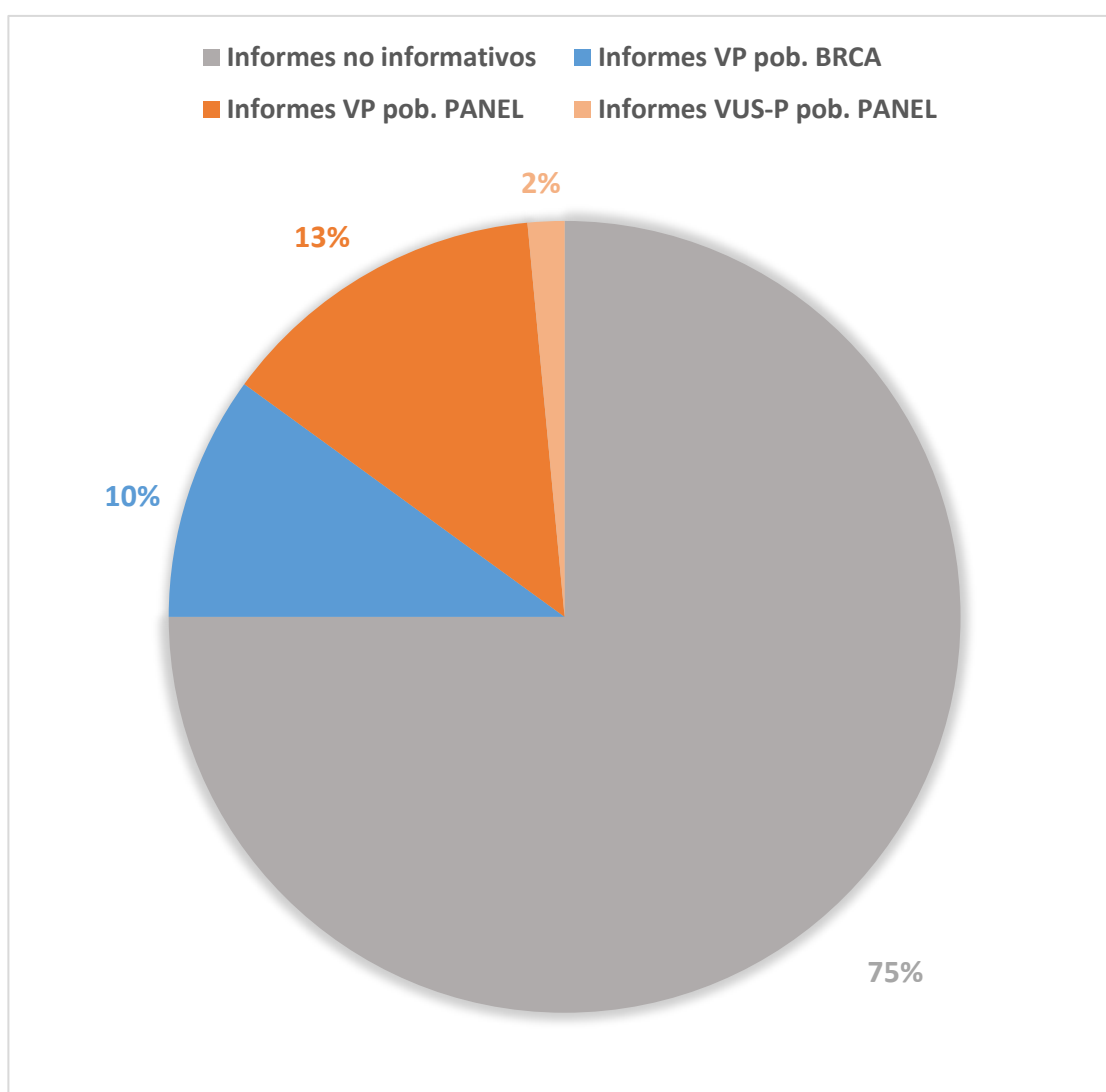


Figura V.8. Distribución de los tipos de informes clínicos generados en los estudios genéticos del CO realizados en el Laboratorio de Genómica durante el período de este estudio.

5. CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

5.1. Genotipo-fenotipo población BRCA

La media de edad del grupo *BRCA1+* es significativamente más joven que la media de edad del grupo *BRCA2+*, estos datos coinciden con lo descrito en la bibliografía que relacionan las VP en *BRCA1* con una aparición más temprana del CO (124,198).

Respecto al estadio FIGO al momento del diagnóstico, todas las VP halladas en los genes *BRCA1/2* fueron en CO avanzado, considerando avanzado los estadios III y IV. La epidemiología del CO sostiene que la mayoría de los diagnósticos de esta patología reciben un estadiaje avanzado, por este motivo, existe una escasa representación de los estadiajes precoces (únicamente el 13% de la población BRCA) y todas las VP se han hallado en estadiajes avanzados (5). El resumen de la correlación genotipo-fenotipo de la población BRCA se muestra en la siguiente tabla (**Tabla V.18**).

Población BRCA		<i>BRCA1+</i>	<i>BRCA2+</i>	<i>BRCA1/2wt</i>
Edad (años)	Media	51,5±12	59,3±10,7	55,9±10,4
	Máximo	75	76	79
	Mínimo	36	43	35
Histología	COSAG	8 (89%)	10 (91%)	51 (80%)
	COSAG+CTF	0	1 (9%)	1 (2%)
	COG2	1 (11%)	0	2 (3%)
	CEAG	0	0	5 (8%)
	CCC	0	0	5 (8%)
	CM	0	0	2 (3%)
Estadio FIGO	Precoz (I-II)	0	0	8 (13%)
	Avanzado (III-IV)	9 (100%)	11 (100%)	58 (91%)
Respuesta a platino	Sensible	7 (78%)	10 (91%)	57 (89%)
	Resistente	2 (22%)	1 (9%)	9 (14%)

Tabla V.18. Resumen de la correlación genotipo-fenotipo de la población BRCA. Entre paréntesis se muestra el porcentaje de las variables cualitativas. COSAG: cáncer seroso de ovario de alto grado, COSAG+CTF: cáncer seroso de ovario de alto grado junto a cáncer de trompa de Falopio, COG2: cáncer seroso de ovario de grado 2, CEAG: cáncer endometriode de alto grado, CCC: cáncer de células claras, CM: cáncer de ovario mucinoso.

La respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en la población BRCA no presentó diferencias estadísticamente significativas entre el genotipo *BRCA1/2+* y el genotipo

V. DISCUSIÓN

BRCAwt (**Tabla V.19**). Estos datos ponen en manifiesto que la resistencia al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino no es exclusiva del genotipo *BRCAwt* ya que, en ambas cohortes se han registrado resistencias al tratamiento.

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,024 ^a	1	,877		
Corrección de continuidad ^b	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitud	,023	1	,878		
Prueba exacta de Fisher				1,000	,565
Asociación lineal por lineal	,023	1	,878		
N de casos válidos	86				

a. 1 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 2,79.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Tabla V.19. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en la población BRCA en función del genotipo.

Según la evidencia científica, el fenotipo sensible al tratamiento en primera línea con derivados de platino no está vinculado exclusivamente a un genotipo asociado a variantes patogénicas, en línea germinal o somática, de genes relacionados con la RH. Este fenotipo también está asociado a ciertos perfiles epigenéticos no analizables mediante panel de genes. El más destacado es el silenciamiento del gen *BRCA1* por hipermetilación del promotor que disminuye la expresión de este gen (32,135).

5.2. Genotipo-fenotipo de la población PANEL

La media de edad de los grupos *BRCA1+*, *BRCA2+*, *RHD+* y *BRCAwt/RHDwt* son similares. Estos datos, no coinciden con lo descrito en la bibliografía que relacionan las VP en *BRCA1* con una aparición más temprana del CO como ocurría en la población BRCA. Sin embargo, en la población PANEL se han recabado más datos (114 CI frente a 86 CI) y por su mayor tamaño se puede considerar estadísticamente más fiable. Además, el objetivo clínico del estudio genético en la población BRCA ha generado una cohorte

V. DISCUSIÓN

más joven. El resumen de la correlación genotipo-fenotipo de la población PANEL se muestra en la siguiente tabla (**Tabla V.20**).

Población PANEL		BRCA1+	BRCA2+	RHD+	BRCAwt/RHDwt
Edad (años)	Media	61,6±7,6	58,2±10,4	59,4±15	64,7±11,2
	Máximo	70	75	84	81
	Mínimo	47	43	33	34
Histología	COSAG	6 (86%)	11 (92%)	5 (56%)	64 (74%)
	COSAG+CTF	0	0	1 (11%)	2 (2%)
	COG2	0	0	1 (11%)	2 (2%)
	CEAG	0	1 (8%)	2 (22%)	9 (10%)
	CCC	1 (14%)	0	0	7 (8%)
	CM	0	0	0	2 (2%)
Estadio FIGO	Precoz (I-II)	0	0	1 (11%)	11 (13%)
	Avanzado (III-IV)	7 (100%)	12 (100%)	8 (89%)	75 (87%)
Respuesta a platino	Sensible	6 (86%)	12 (100%)	6 (67%)	72 (84%)
	Resistente	1 (14%)	0	3 (33%)	14 (16%)

Tabla V.20. Resumen de la correlación genotipo-fenotipo de la población PANEL. Entre paréntesis se muestra el porcentaje de las variables cualitativas. COSAG: cáncer seroso de ovario de alto grado, COSAG+CTF: cáncer seroso de ovario de alto grado junto a cáncer de trompa de Falopio, COG2: cáncer seroso de ovario de grado 2, CEAG: cáncer endometriode de alto grado, CCC: cáncer de células claras, CM: cáncer de ovario mucinoso.

Se han hallado VP en todos los grupos histológicos estudiados excepto en el subtipo histológico mucinoso en la población PANEL. Sin embargo, en la población BRCA solo se hallaron VP en los subtipos histológicos CO seroso de alto grado y moderadamente diferenciado a pesar de estar todos los subtipos histológicos representados en las cohortes de manera similar. El fenotipo de los genes no *BRCA1/2* con VP se muestra a continuación (**Tabla V.21**).

Gen	HGVS (ADNc)	Histología	Estadio FIGO	Respuesta a platino
ATM	c.8251_8254delACTA	CEAG	IIB	RESIST
BRIP1	c.290_293delACAA	COG2	IV	SENS
	c.903delG	COSAG	IV	RESIST
EPCAM	c.491+1G>A	CEAG	IIIC	SENS
NF1	c.4643_4644dup	COSAG	IV	SENS
PALB2	DEL Ex7-11	COSAG	IIIC	RESIST
PMS2	c.400C>T	COSAG	IIIC	SENS
RAD51D	c.694C>T	COSAG+CTF	IIIB	SENS
STK11	DEL Ex1	COSAG	IIIC	SENS

Tabla V.21. Resumen de la correlación genotipo-fenotipo de los genes no BRCA1/2 estudiados en la población PANEL. COSAG: cáncer seroso de ovario de alto grado, COSAG+CTF: cáncer

V. DISCUSIÓN

seroso de ovario de alto grado junto a cáncer de trompa de Falopio, COG2: cáncer seroso de ovario de grado 2, CEAG: cáncer endometriode de alto grado.

El síndrome de Lynch está asociado a CO de tipo histológico CEAG y COSAG (209). En este estudio se ha hallado la VP c.491+1G>A en *EPCAM* en un fenotipo CEAG y otra VP c.400C>T en *PMS2* en un fenotipo COSAG. Estos hallazgos demuestran la relevancia de estudiar genes como *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* y *EPCAM* asociados al síndrome de Lynch para entender mejor el genotipo-fenotipo del CO.

De manera excepcional, se incluyeron en ambas poblaciones 2 CI en cada una de CO mucinoso (en total 4 CI, 2% del total) a las que se realizó el análisis genético correspondiente. Estos CI no cumplían criterios de la SEOM para realizar dicho estudio, pero no se han excluido de estos resultados por englobar toda la patología del CO como han hecho otros estudios (32,200,202,204).

La respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en la población PANEL no presentó diferencias estadísticamente significativas entre el genotipo PANEL+ (*BRCA1+*, *BRCA2+* y *RHD+*) y el genotipo *BRCA-/RHD-* (**Tabla V.22**). Estos datos ponen en manifiesto que la resistencia al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino tampoco es exclusiva del genotipo *BRCA-/RHD-* ya que, se han encontrado resistencias en todas las cohortes.

V. DISCUSIÓN

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,063 ^a	1	,802		
Corrección de continuidad ^b	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitud	,064	1	,800		
Prueba exacta de Fisher				1,000	,533
Asociación lineal por lineal	,063	1	,802		
N de casos válidos	114				
a. 1 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 4,42.					
b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2					

Tabla V.22. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en la población PANEL en función del genotipo.

5.3. Análisis conjunto de la respuesta al tratamiento

La respuesta obtenida al tratamiento en primera línea con quimioterapia basada en platino en la población BRCA y PANEL no presentó diferencias estadísticamente significativas entre sus cohortes. Aunque las poblaciones no pueden considerarse similares debido a las diferencias estadísticamente significativas que se encontraron en la edad de ambas, la respuesta de la enfermedad al tratamiento con quimioterapia basada en platino se registró de manera similar en ambas poblaciones. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la respuesta de la enfermedad al tratamiento con quimioterapia basada en platino dentro de ambas poblaciones y su genotipo (**Tabla V.23 y 24**).

V. DISCUSIÓN

poblacion				genotipo				Total	
				BRCA+	PANEL+	BRCAwt	PANELwt		
BRCA	respuesta	sensible	Recuento	17		57		74	
			% dentro de respuesta	23,0%		77,0%		100,0%	
		resistente	Recuento	3		9		12	
			% dentro de respuesta	25,0%		75,0%		100,0%	
	Total	Recuento	20		66		86		
		% dentro de respuesta	23,3%		76,7%		100,0%		
	PANEL	respuesta	sensible	Recuento		24		72	96
				% dentro de respuesta		25,0%		75,0%	100,0%
resistente			Recuento		4		14	18	
			% dentro de respuesta		22,2%		77,8%	100,0%	
Total		Recuento		28		86	114		
		% dentro de respuesta		24,6%		75,4%	100,0%		
Total		respuesta	sensible	Recuento	17	24	57	72	170
				% dentro de respuesta	10,0%	14,1%	33,5%	42,4%	100,0%
	resistente		Recuento	3	4	9	14	30	
			% dentro de respuesta	10,0%	13,3%	30,0%	46,7%	100,0%	
	Total	Recuento	20	28	66	86	200		
		% dentro de respuesta	10,0%	14,0%	33,0%	43,0%	100,0%		

Tabla V.23. Tabla cruzada para la prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en las poblaciones BRCA y PANEL en función del genotipo.

poblacion		Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
BRCA	Chi-cuadrado de Pearson	,024 ^b	1	,877		
	Corrección de continuidad ^c	,000	1	1,000		
	Razón de verosimilitud	,023	1	,878		
	Prueba exacta de Fisher				1,000	,565
	Asociación lineal por lineal	,023	1	,878		
	N de casos válidos	86				
PANEL	Chi-cuadrado de Pearson	,063 ^d	1	,802		
	Corrección de continuidad ^c	,000	1	1,000		
	Razón de verosimilitud	,064	1	,800		
	Prueba exacta de Fisher				1,000	,533
	Asociación lineal por lineal	,063	1	,802		
	N de casos válidos	114				
Total	Chi-cuadrado de Pearson	,218 ^a	3	,975		
	Razón de verosimilitud	,218	3	,975		
	Asociación lineal por lineal	,069	1	,793		
	N de casos válidos	200				

a. 2 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 3,00.
b. 1 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 2,79.
c. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2
d. 1 casillas (25,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 4,42.

Tabla V.24. Prueba estadística chi-cuadrado para la variable respuesta al tratamiento en las poblaciones BRCA y PANEL en función del genotipo.

V. DISCUSIÓN

A partir del año 2020 el PARPi rucaparib comercializado como Rubraca® está indicado para la terapia de mantenimiento del CO de alto grado avanzado, en recidiva y platino sensible en respuesta completa o parcial. De manera que, a partir de este año y con la autorización para la financiación de este tratamiento por el SNS, los CI diagnosticados de CO con recidiva sensible al tratamiento con derivados de platino, tuvieron opción de tratamiento de mantenimiento con PARPi sin importar su genotipo germinal o somático. Además, desde el año 2021 el PARPi niraparib comercializado como Zejula® también está indicado para terapia de mantenimiento del CO de alto grado avanzado, platino sensible en respuesta completa o parcial tras completar la 1ª línea de tratamiento, sin necesidad de recidiva de la enfermedad.

Antes del año 2020 la indicación para el tratamiento de mantenimiento con PARPi estaba vinculada al hallazgo de una VP en los genes *BRCA1/2* en línea germinal o somática. En la población BRCA, 57 CI presentaron un fenotipo sensible al tratamiento en primera línea con derivados de platino, pero no se hallaron variantes clínicamente relevantes en los genes *BRCA1/2* en línea germinal. Suponiendo que las variantes patogénicas en los genes *BRCA1/2* en línea somática tienen una prevalencia cercana al 3% (32), alrededor del 89% de CI con CO sensible al tratamiento en primera línea con derivados de platino de la población BRCA no tuvieron opción de tratamiento de mantenimiento con PARPi.

Respecto a la resistencia al tratamiento con derivados de platino, existen dos tipos de resistencias, la resistencia primaria y la adquirida. En este estudio solo se han recogido datos de la resistencia primaria que se evidencia tras la finalización del primer esquema de quimioterapia con derivados del platino. En este sentido, se han encontrado resistencias en todos los grupos de este estudio.

Las variantes de *BRCA1/2* que han presentado un fenotipo resistente han sido las variantes c.68_69delAG y c.3583delC del gen *BRCA1* y la variante c.6024dupG del gen *BRCA2*. La variante c.68_69delAG de *BRCA1* ha sido la más prevalente de este estudio y junto a c.3583delC también de *BRCA1*,

V. DISCUSIÓN

ambas se han descrito en fenotipos sensibles por lo que se descartaría vincular la resistencia al tratamiento con ciertas variantes genéticas. Las variantes patogénicas halladas en los genes *BRCA1/2* y su genotipo en función de la respuesta al tratamiento en ambas poblaciones se muestra en el **Anexo D**.

De los mecanismos que contribuyen a la resistencia a platino destacan los relacionados con la concentración del fármaco dentro de la célula. Esta concentración puede verse alterada por un transporte excesivo al exterior celular mediante la sobreexpresión de la glicoproteína P o transportador transmembrana MDR-1, aunque también puede producirse por el secuestro del fármaco por las proteínas exportadoras ATP7A y ATP7B que disminuyen la captación del fármaco dentro de la célula. Sin embargo, estos mecanismos no explican la resistencia hallada en el genotipo *BRCA1/2+* y *RHD+* que puede estar justificado con la reversión de variantes patogénicas mediante mecanismos epigenéticos o la aparición de mutaciones somáticas en *BRCA1/2* que restablecen su papel en la reparación de ADN. En la población BRCA además, pueden coexistir mutaciones en otros genes relacionados con la reparación del ADN no estudiados que pueden tener el mismo efecto (212–214).

Cabe destacar que el microambiente tumoral también juega un papel muy importante a la hora de entender la respuesta al tratamiento con platino, este concepto engloba la relación de las células tumorales con componentes extracelulares al igual que, otras células como fibroblastos, células inmunes y células endoteliales que puedan estar relacionadas al cáncer. Además, la vascularización o perfusión tumoral juega un papel esencial a la hora de que un tratamiento sea efectivo o no (215).

6. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

En la población BRCA se realizó de manera retrospectiva un estudio de supervivencia para comparar la SG de esta población en función de las variables estadiaje, respuesta a tratamiento y genotipo. Sin embargo, este estudio no se concibió para analizar posibles diferencias en el pronóstico del

cáncer de ovario en función de las variantes estudiadas, en parte por el escaso tamaño muestral.

6.1. Pronóstico según el estadiaje

Se analizó el pronóstico de la enfermedad en relación con el estadiaje en el momento del diagnóstico, para ello se llevó a cabo un análisis de supervivencia comparativo entre los estadios FIGO de los CI. Debido a la escasa representación de los estadios FIGO I y II, se agruparon en dos categorías: los estadios FIGO I y II se agruparon en el grupo “precoz” y los estadios FIGO III y IV se agruparon en el grupo “avanzado”. Se aplicó el análisis estadístico test Log-Rank y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la SG de la población y el estadiaje de la enfermedad al diagnóstico.

El estadio en el momento del diagnóstico se considera el principal factor pronóstico para la supervivencia en el cáncer de ovario (34). Aunque en este estudio no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en relación con este factor, esta discordancia se debe principalmente a la poca representación obtenida de los estadios precoces FIGO I y II.

6.2. Pronóstico según la respuesta al tratamiento

Se analizó el pronóstico de la enfermedad en relación con la respuesta de la enfermedad al tratamiento con quimioterapia basada en platino, para ello se llevó a cabo un análisis de supervivencia comparativo según la sensibilidad a este agente. Se aplicó el análisis estadístico test Log-Rank y se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la SG de la población y el grado de sensibilidad de la enfermedad a la quimioterapia con platino con una significación estadística $p < 0,001$. El grupo parcialmente sensible mostró una función de supervivencia similar al grupo resistente y el grupo sensible obtuvo mejores datos estadísticos de supervivencia.

La sensibilidad a la quimioterapia basada en platino está relacionada con la incapacidad de reparar las roturas de cadena en el ADN a nivel celular, esta sensibilidad es la responsable del mejor pronóstico asociado al CO en

comparación a aquellos que son resistentes a este tratamiento. En este sentido, se estima que entorno al 50% de COSAG presentan alteraciones en la vía de la RH por variantes patogénicas germinales o alteraciones genéticas a nivel somático, este defecto confiere una mayor sensibilidad al tratamiento con quimioterapia basada en platino (32). Por este motivo, la sensibilidad al platino se utiliza como marcador de alteraciones en la vía de la RH y estos tumores pueden beneficiarse de tratamientos con PARPi según lo indican en su ficha técnica (132,141,143,145).

6.3. Pronóstico según el genotipo

Se analizó el pronóstico de la enfermedad en relación con el resultado del estudio genético obtenido, para ello se llevó a cabo un análisis de supervivencia comparativo según el hallazgo o no de variantes clínicamente relevantes para la enfermedad. Se aplicó el análisis estadístico test Log-Rank y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la SG de la población y el resultado del estudio genético.

Las variantes clínicamente relevantes en los genes *BRCA1* y *BRCA2* están ligadas a un mejor pronóstico según la evidencia científica (130). Sin embargo, la población BRCA ha creado un marco de escaso tamaño muestral para realizar un análisis de estas características. Además, en esta población se desconoce si hay variantes genéticas patogénicas en otros genes relacionados con el cáncer de ovario hereditario (198,216,217). En el trabajo de Sánchez Henarejos P. "Impacto pronóstico de las mutaciones de *BRCA1* y *BRCA2* en el cáncer de ovario hereditario" (185) se realizó un seguimiento de SG en pacientes diagnosticadas de CO en función del genotipo en población perteneciente a la Región de Murcia y se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo *BRCA1/2* no mutado y el grupo *BRCA1/2+*. Siendo el grupo *BRCA1/2+* la cohorte con una mejor SG comparado con el grupo *BRCA1/2* no mutado.

7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

En la presente tesis doctoral se han presentado ciertas limitaciones que deben estar presentes a la hora de interpretar los resultados obtenidos.

7.1. Análisis de supervivencia

A la hora de realizar el análisis de supervivencia, la mayor limitación ha sido el escaso tamaño muestral y el número reducido de CI portadoras de variantes clínicamente relevantes en los genes *BRCA1/2*.

Además, este estudio retrospectivo se ha realizado recogiendo la información clínica disponible en la historia clínica informatizada de los CI. Estos registros se han realizado por diferentes profesionales y pueden existir diferentes criterios a la hora de documentar la información clínica consultada.

7.2. Estudio en línea somática

En relación con el estudio genético, no se ha podido obtener el análisis de variantes clínicamente relevantes en línea somática de los genes *BRCA1/2* en los CI incluidos en este estudio. Se han recogido datos de 20 CI no incluidos en las poblaciones estudiadas con diferentes análisis genéticos en línea somática, en los cuales no se han hallado variantes clínicamente de manera significativa, pero sí se han encontrado evidencias de inestabilidad genética en algunas muestras analizadas con *Myriad HRD Status*.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

Conclusión 1

El rendimiento diagnóstico obtenido en el estudio genético de CO ha sido del 22% en la población BRCA. Este dato justifica la importancia de incluir este fenotipo en los criterios de selección de la SEOM para el estudio del síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario.

Conclusión 2

El estudio genético del CO, a través de un panel de genes de accionabilidad clínica relacionados con diversos síndromes hereditarios, logra aumentar el rendimiento diagnóstico con respecto solo el estudio de los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Por tanto, se hace necesario su inclusión en la práctica clínica.

Conclusión 3

Desde un punto de vista clínico, un 52% de las variantes obtenidas han sido clasificadas como VP y un 48% como VUS. Al ampliar el estudio genético a un panel de genes, el número de VUS obtenidas se ve incrementado y pueden superar, incluso, en número a las VP. Es por ello, que el laboratorio debe de disponer de un registro actualizado de las VUS obtenidas y proceder a su reevaluación de forma periódica con el fin de lograr su clasificación clínica de forma inequívoca.

Desde el punto de vista molecular, y en concordancia con la bibliografía, un 65% de las VP obtenidas han sido variantes tipo *frameshift* o de cambio del marco de lectura. Con respecto a las VUS obtenidas, un 87% han sido de tipo *missense* o con cambio de sentido, lo que dificulta su clasificación clínica en aquellos casos en donde no se disponga de información suficiente.

VI. CONCLUSIONES

Conclusión 4

El análisis de supervivencia del CO, en función de la respuesta al tratamiento en primera línea con derivados de platino, presenta un mejor pronóstico en el fenotipo sensible con respecto a los fenotipos parcialmente sensibles o resistentes. Este fenotipo sensible se comporta igual en presencia o ausencia de VP en los genes *BRCA1/2*, por lo que debe compartir características biológicas similares independientemente del genotipo BRCA.

Conclusión 5

El uso de técnicas NGS para secuenciar un amplio panel de genes, genera una gran cantidad de VUS. Para facilitar y optimizar el manejo de estas variantes es indispensable el uso de algoritmos de priorización de VUS. Gracias a este algoritmo se ha podido reclasificar un 8% de las VUS obtenidas como priorizadas según las evidencias de patogenicidad, siendo una herramienta imprescindible en la práctica asistencial.

VI. CONCLUSIONES

VII. ANEXOS

VII. ANEXOS

Anexo A. Conformidad del proyecto de investigación por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.



Arrixaca
Hospital Universitario
"Virgen de la Arrixaca"
Ctra. Madrid - Cartagena - Telf. 968 36 95 00
30120 El Palmar (Murcia)

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

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 30/03/2015, acta 03/15 ha evaluado la propuesta de la investigadora **Dra. M^a Desamparados Sarabia Meseguer** referida al estudio:

Título: Nuevos genes en el Síndrome de Cáncer de mama y ovario hereditario

1º. Considera que

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

2º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE** y acepta que dicho estudio sea realizado por la Dra. M^a Desamparados Sarabia Meseguer en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

Lo que firmo en Murcia, a 30 de marzo de 2015

Fdo:


Servicio Murciano de Salud
Hospital "Virgen de la Arrixaca"
Comité Ético de Investigación Clínica
MURCIA

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

Anexo B. Consentimiento informado para realización de pruebas genéticas con fines asistenciales y de investigación traslacional relacionados con el cáncer hereditario.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA REALIZACIÓN DE PRUEBAS GENÉTICAS EN CÁNCER HEREDITARIO.

UNIDAD DE ASESORAMIENTO GENÉTICO EN CÁNCER HEREDITARIO.
SERVICIO DE ONCOLOGÍA MÉDICA.

Introducción

Este formulario describe los beneficios, riesgos y limitaciones de las pruebas genéticas de susceptibilidad heredada al cáncer. Ésta es una prueba voluntaria y usted debe obtener asesoramiento genético antes de firmar este formulario.

¿Para qué se hace?

Esta prueba analiza un gen o genes específicos para detectar cambios genéticos denominados mutaciones. El gen o los genes analizados se asocian a un síndrome específico de cáncer hereditario. Esta prueba ayudará a determinar si una persona tiene un riesgo significativamente mayor de desarrollar ciertos tumores debidos a una mutación (o mutaciones) del gen de predisposición al cáncer. Las pruebas genéticas permiten calcular el riesgo de cáncer hereditario de manera más precisa que el que se logra considerando sólo los antecedentes personales y familiares de la persona.

¿Qué le vamos a hacer?

Para este estudio se le extraerá sangre para llenar un tubo de ensayo que se analizará en un laboratorio de este centro. En algunas ocasiones es posible que sea necesario que esta muestra sea enviada a otro laboratorio de referencia para completar el estudio.

¿Qué beneficios se esperan obtener de este procedimiento?

Los resultados de esta prueba podrían ayudarle a usted y a su médico a tomar decisiones informadas sobre su atención médica, tales como pruebas de detección precoz, cirugías para reducir el riesgo y estrategias de tratamiento con fármacos con finalidad preventiva.

La identificación de una mutación (o mutaciones) en un gen en una familia permite que otros familiares consanguíneos determinen si comparten o no el mismo riesgo de cáncer hereditario. Si obtiene un resultado positivo, se le proporcionará la información de cómo se hereda este tumor y de la probabilidad de que sus hijos y parientes consanguíneos puedan haber heredado la misma mutación (o mutaciones) en el gen o genes analizados.

Si obtiene un resultado negativo para una mutación que se sabe que existe en su familia, no puede transmitir esta mutación a sus hijos y por lo general, se considera que usted tiene el mismo riesgo de cáncer que la población general.

¿Qué riesgos tiene?

Las pruebas genéticas por lo general requieren que el ADN se extraiga de una muestra de sangre. Los efectos secundarios de una extracción de sangre son poco comunes pero podrían incluir: mareos, desmayos, dolor, hemorragia, formación de hematomas, y en raras ocasiones, infección. Los resultados de esta prueba serán comunicados exclusivamente a usted y serán custodiados por el Hospital.

¿Qué genes se estudian?

En la mayoría de los casos, el estudio se limita inicialmente al análisis de un grupo o **panel de genes** relacionados con la enfermedad o el trastorno genético mediante metodología de secuenciación masiva.

En el caso de que en el estudio genético se detecte una variante patogénica o probablemente patogénica (ambas relacionadas con una mayor predisposición a padecer la enfermedad), este resultado se comprobará nuevamente mediante el método de confirmación de Sanger, utilizando la misma muestra de sangre periférica obtenida previamente. Así mismo, los hallazgos de grandes reordenamientos génicos también serán comprobados mediante la metodología disponible en el laboratorio.

En cualquier caso, y a pesar de la exhaustividad de estos estudios, **es posible que no se logre encontrar la causa** de la enfermedad o del trastorno genético, ya que la sensibilidad de estas pruebas no es del 100%.

¿Qué limitaciones tiene esta técnica?

Los estudios de secuenciación masiva generan una gran cantidad de datos y es preciso distinguir los que puedan ser relevantes de los que puedan no serlo. Existen además ciertas limitaciones técnicas que conviene conocer para interpretar los resultados con precisión:

- Existen ciertas regiones en los genes que pueden resultar difíciles de analizar. Si esto sucediera en el análisis, se indicaría en el informe.
- Si el estudio se limita al análisis de un grupo o panel de genes, únicamente se podrán detectar mutaciones en estos genes. Por tanto, mutaciones de interés en otros genes no incluidos en el panel no van a ser detectadas. El informe incluirá la lista exacta de genes analizados, así como el diseño de panel específico empleado para el estudio.

¿Cuáles son los posibles resultados de un estudio de secuenciación masiva?

Nos podemos encontrar ante cuatro situaciones posibles:

- 1) *Que se detecte una o más alteraciones considerada/s como causante/s de la enfermedad o del trastorno genético* que indicó el estudio, lo que confirmaría o aclararía el diagnóstico. En esta situación, se comentará con el paciente el alcance y las implicaciones del resultado.
- 2) *Que se detecte una o más alteraciones **de significado incierto***. En este caso puede ser necesario solicitar exploraciones complementarias o estudiar a otros miembros de la familia con el fin de intentar confirmar si los hallazgos se relacionan o no con la enfermedad o el trastorno genético que motivó el estudio.
- 3) *Que no se detecten alteraciones* que puedan explicar la enfermedad o el trastorno genético.
- 4) *Que, en el caso de que se analicen todos los genes (secuenciación del exoma), se detecten **hallazgos incidentales o fortuitos***. Estos se definen como alteraciones detectadas de forma casual, no relacionadas con la enfermedad o el trastorno genético que indicó el estudio, pero que pueden tener implicaciones relevantes para la salud del paciente y/o de sus familiares.

¿Qué hallazgos se informan al paciente y cuáles no?

Se informan:

- Hallazgos causantes o relacionados con la enfermedad o el trastorno genético que indicó el estudio.

- **Si el paciente o el tutor legal lo solicita y lo autoriza**, hallazgos incidentales o fortuitos no relacionados con la enfermedad o el trastorno genético que indicó el estudio pero que pudieran tener consecuencias importantes para la salud del paciente o de sus familiares.

No se informan:

- Hallazgos de significado incierto sin relación causal aparente con el motivo del estudio.

El conocimiento sobre la función de los genes y su papel en determinadas enfermedades y trastornos genéticos avanza de forma rápida y progresiva. Una alteración genética identificada y considerada de significado incierto en la actualidad, deberá ser revisada más adelante. Por ello, en estos casos, se recomienda que, pasado un tiempo (uno o dos años), se acuda de nuevo a consulta para revisar la situación y comprobar si se dispone de nueva información que pudiera modificar la interpretación inicial del hallazgo.

¿Qué alternativas hay?

La no realización de este procedimiento supone tener que basarnos en los antecedentes personales o familiares para intentar hacer una aproximación al riesgo personal de padecer un cáncer aparentemente hereditario. Estas aproximaciones son menos precisas que las basadas en estudios genéticos y dificultan la toma de decisiones posterior para el seguimiento u otras medidas preventivas.

¿NOS AUTORIZA?

Por este documento solicitamos de forma general la autorización para realizar el procedimiento y/o prueba mencionados, y para usar imágenes e información de la Historia Clínica con fines docentes o científicos, ya que está siendo atendido en un Hospital Universitario. El anonimato será respetado.

Toda la información relacionada con el estudio es estrictamente confidencial y será tratada en conformidad con la **Ley Orgánica de Protección de Datos Personales 3/2018** y los derechos que conlleva de acceso, cancelación, rectificación y oposición.

En caso de obtener su autorización, los resultados de los estudios genéticos serán conservados y custodiados en el Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca y podrán ser compartidos, de forma anónima sin identificadores personales, con otros grupos de investigación con el fin de aumentar el conocimiento sobre las enfermedades genéticas.

DECLARACIONES Y FIRMAS

Declaro mi conformidad con los puntos siguientes:

Con respecto al alcance de la prueba y a la información de los hallazgos:

Deseo que el ADN extraído de mí / la persona bajo mi tutela legal sea analizado mediante técnicas de biología molecular para valorar susceptibilidad heredada al cáncer.

Entiendo que es posible encontrar hallazgos de significado incierto y que existe además la posibilidad de encontrar hallazgos incidentales no relacionados con la enfermedad o el trastorno genético que ha indicado el estudio.

Deseo / No deseo ser informado de los hallazgos incidentales que se puedan detectar y que pudieran tener consecuencias importantes para mi salud o la de mis familiares.

Con relación a la posible utilización de la muestra de ADN

Deseo / No deseo que la muestra de ADN se destruya una vez realizado el estudio.

Autorizo / No autorizo a que la muestra de ADN conservada en el HUVA pueda ser compartida de forma anónima con otros grupos que investiguen sobre la misma enfermedad o trastorno genético

Entiendo que el conocimiento médico avanza con el paso del tiempo y que sería conveniente acudir de nuevo a consulta más adelante para revisar la situación y comprobar si se dispone de nueva información que pudiera modificar la interpretación inicial de los resultados.

1. Firma del/la paciente:

D./D.ª con D.N.I.

He sido informado/a suficientemente de la intervención que se me va a realizar, y me han explicado los riesgos, complicaciones y alternativas posibles; lo he comprendido y he tenido el tiempo suficiente para valorar mi decisión. Por tanto, estoy satisfecho/a con la información recibida. Por ello, doy mi consentimiento para que se realice dicha prueba por el médico responsable y a ser informado/a de los resultados según lo arriba dispuesto. Mi aceptación es voluntaria y puedo retirar este consentimiento cuando lo crea oportuno, solicitándolo por escrito, sin que esta decisión repercuta en mis cuidados posteriores.

Firma del paciente

Fecha:/...../.....

2. Firma de familiar o tutores

El paciente D./Dña. no tiene capacidad para decidir en este momento.

D. /Dª. con D.N.I. y en calidad de he sido informado/a suficientemente de la intervención que se le va a realizar. Por ello, doy expresamente mi consentimiento. Mi aceptación es voluntaria y puedo retirar este consentimiento cuando lo crea oportuno.

Firma del tutor o familiar

Fecha: /...../

3. Relativo al médico que solicita:

Dr./Dra. he informado al paciente y/o al tutor o familiar del objeto y naturaleza del procedimiento que se le va a realizar explicándole los riesgos, complicaciones y alternativas posibles.

Firma del médico

Fecha:/...../.....

4. Relativo a la no aceptación (REVOCACIÓN) del Consentimiento Informado:

D./Dña.....con D.N.I.....

He sido informado de que puedo revocar este documento previamente a la realización de la intervención, por lo que manifiesto que **NO** doy mi Consentimiento para someterme a la realización de la misma, dejando sin efecto mi Consentimiento anterior.

Firma del paciente

Fecha:/...../.....

VII. ANEXOS

Anexo C.1. Variantes patogénicas halladas en el gen *BRCA1* en las poblaciones BRCA y PANEL.

Familias en azul: población BRCA, familias en naranja: población PANEL, OCCR: región asociada al cáncer de ovario, BCCR: región asociada al cáncer de mama.

Gen	Exón/Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	OCCR/ BCCR	Familia	
BRCA1	1	c.68_69delAG	p.Glu23ValfsTer17	rs80357914	BCCR	OL-10	
						OL-52	
						OL-80	
						OL-173	
			c.70_73dup	p.Pro25LeufsTer17	rs397509310	BCCR	OL-225
	4		c.181T>G	p.Cys61Gly	rs28897672	BCCR	OL-147
			c.211A>G	p.Arg71Gly	rs80357382	BCCR	OL-150
	IN 4-5		c.212+1G>A	p.Phe46_Arg71del p.Cys64X	rs80358042	BCCR	OL-172
	10		c.1224_1225insA	p.Val409Serfs	ND	OCCR	OL-11
			c.1651_1652insC	p.Ser551ThrfsTer4	rs886039961	OCCR	OL-145
			c.2921T>A	p.Leu974Ter	rs80356872	OCCR	OL-33
			c.3331_3334delCAAG	p.Gln1111AsnfsTer5	rs80357701	OCCR	OL-19
							OL-67
	c.3583delC	p.His1195IlefsTer15	rs273900710	OCCR	OL-21 OL-91		
	-		Del ex21-24	-	-	BCCR	OL-81

VII. ANEXOS

Anexo C.2. Variantes patogénicas halladas en el gen *BRCA2* en las poblaciones BRCA y PANEL.

Familias en azul: población BRCA, familias en naranja: población PANEL, OCCR: región asociada al cáncer de ovario, BCCR: región asociada al cáncer de mama.

Gen	Exón/ Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	OCCR/ BCCR	Familia
BRCA2	10	c.1310_1313delAAGA	p.Lys437IlefsTer22	rs80359277	BCCR	OL-84
		c.1608dupT	p.Glu537Ter	rs276174811	BCCR	OL-88
						OL-128
						OL-148
	11	c.2808_2811delACAA	p.Ala938ProTer21	rs80359351	OCCR	OL-201
		c.3264dupT	p.Gln1089SerfsTer10	rs80359380	OCCR	OL-05
						OL-36
		c.3680_3681delTG	p.Leu1227GlnfsTer5	rs80359395	OCCR	OL-181
		c.3455T>G	p.Leu1152Ter	rs80358593	OCCR	OL-73
		c.4936_4939del	p.Glu1646GlnfsTer23	rs80359473	OCCR	OL-69
						OL-74
		c.4963delT	p.Tyr1655ThrfsTer15	rs886040557	OCCR	OL-208
		c.4965C>A	p.Tyr1655Ter	rs80358721	OCCR	OL-25
						OL-105
		c.5073dupA	p.Trp1692MetfsTer3	rs80359479	OCCR	OL-82
	c.6024dupG	p.Gln2009AlafsTer9	rs80359554	OCCR	OL-53	
					OL-117	
	c.6486_6489delACAA	p.Lys2162AsnfsTer5	rs80359598	OCCR	OL-117	
	23	c.9026_9030del	p.Tyr3009SerfsTer7	rs80359741	BCCR	OL-85
						OL-218
c.9117G>A		p.Pro3039=	rs28897756	BCCR	OL-113	
						OL-153

VII. ANEXOS

Anexo D. Variantes patogénicas halladas en genes *BRCA1/2* en ambas poblaciones y su fenotipo en función de la respuesta a tratamiento con derivados de platino.

Gen	Exón/Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	Familia	Respuesta a platino
BRCA1	1	c.68_69delAG	p.Glu23ValfsTer17	rs80357914	OL-10	SENS
					OL-52	SENS
					OL-80	RESIST
					OL-173	RESIST
		c.70_73dup	p.Pro25LeufsTer17	rs397509310	OL-225	SENS
	4	c.181T>G	p.Cys61Gly	rs28897672	OL-147	SENS
					c.211A>G	p.Arg71Gly
	IN 4-5	c.212+1G>A	p.Phe46_Arg71del p.Cys64X	rs80358042	OL-172	SENS
	10	c.1224_1225insA	p.Val409Serfs	ND	OL-11	SENS
		c.1651_1652insC	p.Ser551ThrfsTer4	rs886039961	OL-145	SENS
		c.2921T>A	p.Leu974Ter	rs80356872	OL-33	SENS
		c.3331_3334delCAAG	p.Gln1111AsnfsTer5	rs80357701	OL-19	SENS
					OL-67	SENS
		c.3583delC	p.His1195IlefsTer15	rs273900710	OL-21	RESIST
				OL-91	SENS	
-	Del ex21-24	-	-	OL-81	SENS	

VII. ANEXOS

Gen	Exón/ Intrón	HGVS (ADNc)	HGVS (proteína)	refSNP	Familia	Respuesta a platino
BRCA2	10	c.1310_1313delAAGA	p.Lys437IlefsTer22	rs80359277	OL-84	SENS
		c.1608dupT	p.Glu537Ter	rs276174811	OL-88	SENS
					OL-128	SENS
					OL-148	SENS
	11	c.2808_2811delACAA	p.Ala938ProTer21	rs80359351	OL-201	SENS
		c.3264dupT	p.Gln1089SerfsTer10	rs80359380	OL-05	SENS
					OL-36	SENS
		c.3680_3681delTG	p.Leu1227GlnfsTer5	rs80359395	OL-181	SENS
		c.3455T>G	p.Leu1152Ter	rs80358593	OL-73	SENS
		c.4936_4939del	p.Glu1646GlnfsTer23	rs80359473	OL-69	SENS
					OL-74	SENS
		c.4963delT	p.Tyr1655ThrfsTer15	rs886040557	OL-208	SENS
		c.4965C>A	p.Tyr1655Ter	rs80358721	OL-25	SENS
					OL-105	SENS
		c.5073dupA	p.Trp1692MetfsTer3	rs80359479	OL-82	SENS
					OL-169	SENS
	c.6024dupG	p.Gln2009AlafsTer9	rs80359554	OL-53	RESIST	
	c.6486_6489delACAA	p.Lys2162AsnfsTer5	rs80359598	OL-117	SENS	
	23	c.9026_9030del	p.Tyr3009SerfsTer7	rs80359741	OL-85	SENS
					OL-218	SENS
c.9117G>A		p.Pro3039=	rs28897756	OL-113	SENS	
				OL-153	SENS	

VIII. BIBLIOGRAFÍA

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. mayo de 2021;71(3):209-49.
2. Las_cifras_del_Cancer_en_Espana_2023.pdf [Internet]. [citado 10 de septiembre de 2023]. Disponible en: https://seom.org/images/Las_cifras_del_Cancer_en_Espana_2023.pdf
3. bem.2021.41.847.pdf [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://sms.carm.es/ricsmur/bitstream/handle/123456789/5861/bem.2021.41.847.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
4. bem.2014.34.775.pdf [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://sms.carm.es/ricsmur/bitstream/handle/123456789/1601/bem.2014.34.775.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol Med*. febrero de 2017;14(1):9-32.
6. Redondo A, Guerra E, Manso L, Martin-Lorente C, Martinez-Garcia J, Perez-Fidalgo JA, et al. SEOM clinical guideline in ovarian cancer (2020). *Clin Transl Oncol Off Publ Fed Span Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex*. mayo de 2021;23(5):961-8.
7. Walker JL, Powell CB, Chen LM, Carter J, Bae Jump VL, Parker LP, et al. Society of Gynecologic Oncology recommendations for the prevention of ovarian cancer. *Cancer*. 1 de julio de 2015;121(13):2108-20.
8. Meinhold-Heerlein I, Hauptmann S. The heterogeneity of ovarian cancer. *Arch Gynecol Obstet*. febrero de 2014;289(2):237-9.
9. Rostgaard K, Wohlfahrt J, Andersen PK, Hjalgrim H, Frisch M, Westergaard T, et al. Does pregnancy induce the shedding of premalignant ovarian cells? *Epidemiol Camb Mass*. marzo de 2003;14(2):168-73.
10. Whiteman DC, Siskind V, Purdie DM, Green AC. Timing of pregnancy and the risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. enero de 2003;12(1):42-6.
11. Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer, Beral V, Doll R, Hermon C, Peto R, Reeves G. Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls. *Lancet Lond Engl*. 26 de enero de 2008;371(9609):303-14.
12. Li DP, Du C, Zhang ZM, Li GX, Yu ZF, Wang X, et al. Breastfeeding and ovarian cancer risk: a systematic review and meta-analysis of 40 epidemiological studies. *Asian Pac J Cancer Prev APJCP*. 2014;15(12):4829-37.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

13. Kurta ML, Moysich KB, Weissfeld JL, Youk AO, Bunker CH, Edwards RP, et al. Use of fertility drugs and risk of ovarian cancer: results from a U.S.-based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol.* agosto de 2012;21(8):1282-92.
14. Cibula D, Widschwendter M, Májek O, Dusek L. Tubal ligation and the risk of ovarian cancer: review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2011;17(1):55-67.
15. Cibula D, Widschwendter M, Zikan M, Dusek L. Underlying mechanisms of ovarian cancer risk reduction after tubal ligation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* junio de 2011;90(6):559-63.
16. Rodriguez GC, Walmer DK, Cline M, Krigman H, Lessey BA, Whitaker RS, et al. Effect of progestin on the ovarian epithelium of macaques: cancer prevention through apoptosis? *J Soc Gynecol Investig.* 1998;5(5):271-6.
17. Choi JH, Wong AST, Huang HF, Leung PCK. Gonadotropins and ovarian cancer. *Endocr Rev.* junio de 2007;28(4):440-61.
18. Collaborative Group On Epidemiological Studies Of Ovarian Cancer, Beral V, Gaitskell K, Hermon C, Moser K, Reeves G, et al. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant meta-analysis of 52 epidemiological studies. *Lancet Lond Engl.* 9 de mayo de 2015;385(9980):1835-42.
19. McSorley MA, Alberg AJ, Allen DS, Allen NE, Brinton LA, Dorgan JF, et al. C-reactive protein concentrations and subsequent ovarian cancer risk. *Obstet Gynecol.* abril de 2007;109(4):933-41.
20. Clendenen TV, Lundin E, Zeleniuch-Jacquotte A, Koenig KL, Berrino F, Lukanova A, et al. Circulating inflammation markers and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol.* mayo de 2011;20(5):799-810.
21. Lin HW, Tu YY, Lin SY, Su WJ, Lin WL, Lin WZ, et al. Risk of ovarian cancer in women with pelvic inflammatory disease: a population-based study. *Lancet Oncol.* septiembre de 2011;12(9):900-4.
22. Al-Sabbagh M, Lam EWF, Brosens JJ. Mechanisms of endometrial progesterone resistance. *Mol Cell Endocrinol.* 25 de julio de 2012;358(2):208-15.
23. Kondi-Pafiti A, Papakonstantinou E, Iavazzo C, Grigoriadis C, Salakos N, Gregoriou O. Clinicopathological characteristics of ovarian carcinomas associated with endometriosis. *Arch Gynecol Obstet.* febrero de 2012;285(2):479-83.
24. Jarboe EA, Folkins AK, Drapkin R, Ince TA, Agoston ES, Crum CP. Tubal and ovarian pathways to pelvic epithelial cancer: a pathological perspective. *Histopathology.* 2008;53(2):127-38.
25. Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature.* 14 de diciembre de 2006;444(7121):847-53.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

26. Olsen CM, Nagle CM, Whiteman DC, Ness R, Pearce CL, Pike MC, et al. Obesity and risk of ovarian cancer subtypes: evidence from the Ovarian Cancer Association Consortium. *Endocr Relat Cancer*. abril de 2013;20(2):251-62.
27. Tworoger SS, Huang T. Obesity and Ovarian Cancer. *Recent Results Cancer Res Fortschritte Krebsforsch Progres Dans Rech Sur Cancer*. 2016;208:155-76.
28. Stratton JF, Pharoah P, Smith SK, Easton D, Ponder BA. A systematic review and meta-analysis of family history and risk of ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol*. mayo de 1998;105(5):493-9.
29. Pennington KP, Swisher EM. Hereditary ovarian cancer: beyond the usual suspects. *Gynecol Oncol*. febrero de 2012;124(2):347-53.
30. Bast RC, Hennesy B, Mills GB. The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation. *Nat Rev Cancer*. junio de 2009;9(6):415-28.
31. Kurman RJ, Shih IM. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. marzo de 2010;34(3):433-43.
32. Bell D, Berchuck A, Birrer M, Chien J, Cramer DW, Dao F, et al. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. junio de 2011;474(7353):609-15.
33. Vang R, Shih IM, Kurman RJ. Fallopian tube precursors of ovarian low- and high-grade serous neoplasms. *Histopathology*. enero de 2013;62(1):44-58.
34. Heintz APM, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Benedet JL, Creasman WT, et al. Carcinoma of the ovary. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. noviembre de 2006;95 Suppl 1:S161-192.
35. Elattar A, Bryant A, Winter-Roach BA, Hatem M, Naik R. Optimal primary surgical treatment for advanced epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 10 de agosto de 2011;2011(8):CD007565.
36. Zanussi S, Serraino D, Dolcetti R, Berretta M, De Paoli P. Cancer, aging and immune reconstitution. *Anticancer Agents Med Chem*. noviembre de 2013;13(9):1310-24.
37. Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. *Am J Pathol*. septiembre de 2010;177(3):1053-64.
38. Sato E, Olson SH, Ahn J, Bundy B, Nishikawa H, Qian F, et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 20 de diciembre de 2005;102(51):18538-43.
39. Lee M, Chang MY, Yoo H, Lee KE, Chay DB, Cho H, et al. Clinical Significance of CA125 Level after the First Cycle of Chemotherapy on Survival of Patients with Advanced Ovarian Cancer. *Yonsei Med J*. mayo de 2016;57(3):580-7.
40. Zhong Q, Peng HL, Zhao X, Zhang L, Hwang WT. Effects of BRCA1- and BRCA2-related mutations on ovarian and breast cancer survival: a meta-

VIII. BIBLIOGRAFÍA

analysis. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 de enero de 2015;21(1):211-20.

41. Hartmann LC, Lindor NM. The Role of Risk-Reducing Surgery in Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 4 de febrero de 2016;374(5):454-68.

42. Andrews L, Mutch DG. Hereditary Ovarian Cancer and Risk Reduction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* mayo de 2017;41:31-48.

43. Norquist BM, Harrell MI, Brady MF, Walsh T, Lee MK, Gulsuner S, et al. Inherited Mutations in Women With Ovarian Carcinoma. *JAMA Oncol.* abril de 2016;2(4):482-90.

44. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, deFazio A, Emmanuel C, George J, et al. BRCA Mutation Frequency and Patterns of Treatment Response in BRCA Mutation-Positive Women With Ovarian Cancer: A Report From the Australian Ovarian Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 20 de julio de 2012;30(21):2654-63.

45. Toss A, Tomasello C, Razzaboni E, Contu G, Grandi G, Cagnacci A, et al. Hereditary ovarian cancer: not only BRCA 1 and 2 genes. *BioMed Res Int.* 2015;2015:341723.

46. Dietlein F, Thelen L, Reinhardt HC. Cancer-specific defects in DNA repair pathways as targets for personalized therapeutic approaches. *Trends Genet TIG.* agosto de 2014;30(8):326-39.

47. Ko HL, Ren EC. Functional Aspects of PARP1 in DNA Repair and Transcription. *Biomolecules.* 12 de noviembre de 2012;2(4):524-48.

48. Chang HHY, Pannunzio NR, Adachi N, Lieber MR. Non-homologous DNA end joining and alternative pathways to double-strand break repair. *Nat Rev Mol Cell Biol.* agosto de 2017;18(8):495-506.

49. Walsh CS. Two decades beyond BRCA1/2: Homologous recombination, hereditary cancer risk and a target for ovarian cancer therapy. *Gynecol Oncol.* mayo de 2015;137(2):343-50.

50. Blanco A, de la Hoya M, Osorio A, Diez O, Miramar MD, Infante M, et al. Analysis of PALB2 gene in BRCA1/BRCA2 negative Spanish hereditary breast/ovarian cancer families with pancreatic cancer cases. *PloS One.* 2013;8(7):e67538.

51. Desmond A, Kurian AW, Gabree M, Mills MA, Anderson MJ, Kobayashi Y, et al. Clinical Actionability of Multigene Panel Testing for Hereditary Breast and Ovarian Cancer Risk Assessment. *JAMA Oncol.* octubre de 2015;1(7):943-51.

52. Llorca G, Chirivella I, Morales R, Serrano R, Sanchez AB, Teulé A, et al. SEOM clinical guidelines in Hereditary Breast and ovarian cancer. *Clin Transl Oncol Off Publ Fed Span Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex.* diciembre de 2015;17(12):956-61.

53. BRCA1 - Breast cancer type 1 susceptibility protein - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P38398/entry>

VIII. BIBLIOGRAFÍA

54. Wang B. BRCA1 tumor suppressor network: focusing on its tail. *Cell Biosci.* 27 de febrero de 2012;2(1):6.
55. Mylavarapu S, Das A, Roy M. Role of BRCA Mutations in the Modulation of Response to Platinum Therapy. *Front Oncol* [Internet]. 2018 [citado 14 de febrero de 2023];8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2018.00016>
56. Gabaldó Barrios X, Sarabia Meseguer MD, Marín Vera M, Sánchez Bermúdez AI, Macías Cerrolaza JA, Sánchez Henarejos P, et al. Molecular characterization and clinical interpretation of BRCA1/BRCA2 variants in families from Murcia (south-eastern Spain) with hereditary breast and ovarian cancer: clinical-pathological features in BRCA carriers and non-carriers. *Fam Cancer.* octubre de 2017;16(4):477-89.
57. Narod SA, Foulkes WD. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nat Rev Cancer.* septiembre de 2004;4(9):665-76.
58. Couch FJ, Nathanson KL, Offit K. Two decades after BRCA: setting paradigms in personalized cancer care and prevention. *Science.* 28 de marzo de 2014;343(6178):1466-70.
59. Ewald IP, Ribeiro PLI, Palmero EI, Cossio SL, Giugliani R, Ashton-Prolla P. Genomic rearrangements in BRCA1 and BRCA2: A literature review. *Genet Mol Biol.* julio de 2009;32(3):437-46.
60. de la Hoya M, Gutiérrez-Enríquez S, Velasco E, Osorio A, Sanchez de Abajo A, Vega A, et al. Genomic rearrangements at the BRCA1 locus in Spanish families with breast/ovarian cancer. *Clin Chem.* agosto de 2006;52(8):1480-5.
61. Federici G, Soddu S. Variants of uncertain significance in the era of high-throughput genome sequencing: a lesson from breast and ovary cancers. *J Exp Clin Cancer Res.* 4 de marzo de 2020;39(1):46.
62. Rebbeck TR, Mitra N, Wan F, Sinilnikova OM, Healey S, McGuffog L, et al. Association of type and location of BRCA1 and BRCA2 mutations with risk of breast and ovarian cancer. *JAMA.* 7 de abril de 2015;313(13):1347-61.
63. Hollis RL, Churchman M, Gourley C. Distinct implications of different BRCA mutations: efficacy of cytotoxic chemotherapy, PARP inhibition and clinical outcome in ovarian cancer. *OncoTargets Ther.* 2017;10:2539-51.
64. Mavaddat N, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *J Natl Cancer Inst.* 5 de junio de 2013;105(11):812-22.
65. Chen S, Parmigiani G. Meta-Analysis of BRCA1 and BRCA2 Penetrance. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 de abril de 2007;25(11):1329-33.
66. Metcalfe KA, Lynch HT, Ghadirian P, Tung N, Olivetto IA, Foulkes WD, et al. The risk of ovarian cancer after breast cancer in BRCA1 and BRCA2 carriers. *Gynecol Oncol.* enero de 2005;96(1):222-6.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

67. Friebel TM, Domchek SM, Rebbeck TR. Modifiers of cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* junio de 2014;106(6):dju091.
68. Boder E, Sedgwick RP. Ataxia-telangiectasia; a familial syndrome of progressive cerebellar ataxia, oculocutaneous telangiectasia and frequent pulmonary infection. *Pediatrics.* abril de 1958;21(4):526-54.
69. McKinnon PJ. ATM and ataxia telangiectasia. *EMBO Rep.* agosto de 2004;5(8):772-6.
70. Macquere P, Orazio S, Bonnet F, Jones N, Bubien V, Chiron J, et al. *J Hum Genet.* junio de 2022;67(6):339-45.
71. Lilyquist J, LaDuca H, Polley E, Davis BT, Shimelis H, Hu C, et al. Frequency of mutations in a large series of clinically ascertained ovarian cancer cases tested on multi-gene panels compared to reference controls. *Gynecol Oncol.* noviembre de 2017;147(2):375-80.
72. Kurian AW, Hughes E, Handorf EA, Gutin A, Allen B, Hartman AR, et al. Breast and Ovarian Cancer Penetrance Estimates Derived From Germline Multiple-Gene Sequencing Results in Women. *JCO Precis Oncol.* noviembre de 2017;1:1-12.
73. Athanasakis E, Melloni E, Rigolin GM, Agnoletto C, Voltan R, Vozzi D, et al. The p53 transcriptional pathway is preserved in ATMmutated and NOTCH1mutated chronic lymphocytic leukemias. *Oncotarget.* 13 de julio de 2014;5(24):12635-45.
74. Auerbach AD. Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat Res.* 31 de julio de 2009;668(1-2):4-10.
75. Barroso E, Pita G, Arias JI, Menendez P, Zamora P, Blanco M, et al. The Fanconi anemia family of genes and its correlation with breast cancer susceptibility and breast cancer features. *Breast Cancer Res Treat.* diciembre de 2009;118(3):655-60.
76. Kottemann MC, Smogorzewska A. Fanconi anaemia and the repair of Watson and Crick DNA crosslinks. *Nature.* 17 de enero de 2013;493(7432):356-63.
77. Krishnan V, Tay LS, Ito Y. The Fanconi Anemia Pathway of DNA Repair and Human Cancer. En: Chen CC, editor. *InTech*; 2015 [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/advances-in-dna-repair/the-fanconi-anemia-pathway-of-dna-repair-and-human-cancer>
78. Southey MC, Teo ZL, Winship I. PALB2 and breast cancer: ready for clinical translation! *Appl Clin Genet.* 19 de julio de 2013;6:43-52.
79. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pykäs K, Roberts J, et al. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med.* 7 de agosto de 2014;371(6):497-506.
80. Walsh T, Casadei S, Lee MK, Pennil CC, Nord AS, Thornton AM, et al. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal

VIII. BIBLIOGRAFÍA

carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1 de noviembre de 2011;108(44):18032-7.

81. Ramus SJ, Song H, Dicks E, Tyrer JP, Rosenthal AN, Intermaggio MP, et al. Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer. *J Natl Cancer Inst*. noviembre de 2015;107(11):djv214.

82. Yang X, Leslie G, Doroszuk A, Schneider S, Allen J, Decker B, et al. Cancer Risks Associated With Germline PALB2 Pathogenic Variants: An International Study of 524 Families. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 de marzo de 2020;38(7):674-85.

83. Oussalah A, Avogbe PH, Guyot E, Chery C, Guéant-Rodriguez RM, Ganne-Carrié N, et al. BRIP1 coding variants are associated with a high risk of hepatocellular carcinoma occurrence in patients with HCV- or HBV-related liver disease. *Oncotarget*. 17 de agosto de 2016;8(38):62842-57.

84. Brosh RM, Cantor SB. Molecular and cellular functions of the FANCD1 DNA helicase defective in cancer and in Fanconi anemia. *Front Genet* [Internet]. 2014 [citado 14 de febrero de 2023];5. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2014.00372>

85. Weber-Lassalle N, Hauke J, Ramser J, Richters L, Groß E, Blümcke B, et al. BRIP1 loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer. *Breast Cancer Res BCR*. 24 de enero de 2018;20(1):7.

86. Loveday C, Turnbull C, Ruark E, Xicola RMM, Ramsay E, Hughes D, et al. Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet*. 26 de abril de 2012;44(5):475-6; author reply 476.

87. Song H, Dicks E, Ramus SJ, Tyrer JP, Intermaggio MP, Hayward J, et al. Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 de septiembre de 2015;33(26):2901-7.

88. Osorio A, Endt D, Fernández F, Eirich K, de la Hoya M, Schmutzler R, et al. Predominance of pathogenic missense variants in the RAD51C gene occurring in breast and ovarian cancer families. *Hum Mol Genet*. 1 de julio de 2012;21(13):2889-98.

89. Gutiérrez-Enríquez S, Bonache S, de Garibay GR, Osorio A, Santamariña M, Ramón y Cajal T, et al. About 1% of the breast and ovarian Spanish families testing negative for BRCA1 and BRCA2 are carriers of RAD51D pathogenic variants. *Int J Cancer*. 1 de mayo de 2014;134(9):2088-97.

90. Sánchez-Bermúdez AI, Sarabia-Meseguer MD, García-Aliaga Á, Marín-Vera M, Macías-Cerrolaza JA, Henaréjos PS, et al. Mutational analysis of RAD51C and RAD51D genes in hereditary breast and ovarian cancer families from Murcia (southeastern Spain). *Eur J Med Genet*. 1 de junio de 2018;61(6):355-61.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

91. Bewtra C, Watson P, Conway T, Read-Hippee C, Lynch HT. Hereditary ovarian cancer: a clinicopathological study. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol*. julio de 1992;11(3):180-7.
92. Malander S, Rambech E, Kristoffersson U, Halvarsson B, Ridderheim M, Borg A, et al. The contribution of the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome to the development of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. mayo de 2006;101(2):238-43.
93. Dominguez-Valentin M, Sampson JR, Seppälä TT, Ten Broeke SW, Plazzer JP, Nakken S, et al. Cancer risks by gene, age, and gender in 6350 carriers of pathogenic mismatch repair variants: findings from the Prospective Lynch Syndrome Database. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. enero de 2020;22(1):15-25.
94. Møller P, Seppälä TT, Bernstein I, Holinski-Feder E, Sala P, Gareth Evans D, et al. Cancer risk and survival in path_MMR carriers by gene and gender up to 75 years of age: a report from the Prospective Lynch Syndrome Database. *Gut*. julio de 2018;67(7):1306-16.
95. Li FP, Fraumeni JF, Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfus MG, Tucker MA, et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res*. 15 de septiembre de 1988;48(18):5358-62.
96. Evans DGR, Birch JM, Ramsden RT, Sharif S, Baser ME. Malignant transformation and new primary tumours after therapeutic radiation for benign disease: substantial risks in certain tumour prone syndromes. *J Med Genet*. abril de 2006;43(4):289-94.
97. Sorrell AD, Espenschied CR, Culver JO, Weitzel JN. Tumor protein p53 (TP53) testing and Li-Fraumeni syndrome : current status of clinical applications and future directions. *Mol Diagn Ther*. febrero de 2013;17(1):31-47.
98. Spigelman AD, Murday V, Phillips RK. Cancer and the Peutz-Jeghers syndrome. *Gut*. noviembre de 1989;30(11):1588-90.
99. Amos CI, Keitheri-Cheteri MB, Sabripour M, Wei C, McGarrity TJ, Seldin MF, et al. Genotype-phenotype correlations in Peutz-Jeghers syndrome. *J Med Genet*. mayo de 2004;41(5):327-33.
100. 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*. 8 de enero de 1998;391(6663):184-7.
101. Sanchez-Cespedes M, Parrella P, Esteller M, Nomoto S, Trink B, Engles JM, et al. Inactivation of LKB1/STK11 is a common event in adenocarcinomas of the lung. *Cancer Res*. 1 de julio de 2002;62(13):3659-62.
102. Mehenni H, Lin-Marq N, Buchet-Poyau K, Reymond A, Collart MA, Picard D, et al. LKB1 interacts with and phosphorylates PTEN: a functional link between two proteins involved in cancer predisposing syndromes. *Hum Mol Genet*. 1 de agosto de 2005;14(15):2209-19.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

103. den Dunnen JT, Dagleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat.* junio de 2016;37(6):564-9.
104. Smith SD, Kawash JK, Grigoriev A. Lightning-fast genome variant detection with GROM. *GigaScience.* 1 de octubre de 2017;6(10):1-7.
105. Lindor NM, Goldgar DE, Tavtigian SV, Plon SE, Couch FJ. BRCA1/2 Sequence Variants of Uncertain Significance: A Primer for Providers to Assist in Discussions and in Medical Management. *The Oncologist.* mayo de 2013;18(5):518-24.
106. Thompson BA, Spurdle AB, Plazzer JP, Greenblatt MS, Akagi K, Al-Mulla F, et al. Application of a 5-tiered scheme for standardized classification of 2,360 unique mismatch repair gene variants in the InSiGHT locus-specific database. *Nat Genet.* febrero de 2014;46(2):107-15.
107. Bonache S, Esteban I, Moles-Fernández A, Tenés A, Duran-Lozano L, Montalban G, et al. Multigene panel testing beyond BRCA1/2 in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings. *J Cancer Res Clin Oncol.* diciembre de 2018;144(12):2495-513.
108. Castillo-Guardiola V, Rosado-Jiménez L, Sarabia-Meseguer MD, Marín-Vera M, Macías-Cerrolaza JA, García-Hernández R, et al. Next step in molecular genetics of hereditary breast/ovarian cancer: Multigene panel testing in clinical actionably genes and prioritization algorithms in the study of variants of uncertain significance. *Eur J Med Genet.* 1 de abril de 2022;65(4):104468.
109. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* mayo de 2015;17(5):405-24.
110. Ellard S, Baple E, Berry I, Forrester N, Turnbull C, Owens M, et al. ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification 2019. En 2019 [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/ACGS-Best-Practice-Guidelines-for-Variant-2019-Ellard-Baple/86fa75f316823ef358a804fe1e45a98a85351bf9>
111. Ioannidis NM, Rothstein JH, Pejaver V, Middha S, McDonnell SK, Baheti S, et al. REVEL: An Ensemble Method for Predicting the Pathogenicity of Rare Missense Variants. *Am J Hum Genet.* 6 de octubre de 2016;99(4):877-85.
112. Feliubadaló L, Moles-Fernández A, Santamariña-Pena M, Sánchez AT, López-Novo A, Porras LM, et al. A Collaborative Effort to Define Classification Criteria for ATM Variants in Hereditary Cancer Patients. *Clin Chem.* 1 de marzo de 2021;67(3):518-33.
113. Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods.* abril de 2014;11(4):361-2.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

114. Sim NL, Kumar P, Hu J, Henikoff S, Schneider G, Ng PC. SIFT web server: predicting effects of amino acid substitutions on proteins. *Nucleic Acids Res.* julio de 2012;40(Web Server issue):W452-457.
115. Cooper GM, Stone EA, Asimenos G, NISC Comparative Sequencing Program, Green ED, Batzoglou S, et al. Distribution and intensity of constraint in mammalian genomic sequence. *Genome Res.* julio de 2005;15(7):901-13.
116. Pollard KS, Hubisz MJ, Rosenbloom KR, Siepel A. Detection of nonneutral substitution rates on mammalian phylogenies. *Genome Res.* enero de 2010;20(1):110-21.
117. Siepel A, Bejerano G, Pedersen JS, Hinrichs AS, Hou M, Rosenbloom K, et al. Evolutionarily conserved elements in vertebrate, insect, worm, and yeast genomes. *Genome Res.* agosto de 2005;15(8):1034-50.
118. Garber M, Guttman M, Clamp M, Zody MC, Friedman N, Xie X. Identifying novel constrained elements by exploiting biased substitution patterns. *Bioinformatics.* 15 de junio de 2009;25(12):i54-62.
119. Jian X, Boerwinkle E, Liu X. In silico prediction of splice-altering single nucleotide variants in the human genome. *Nucleic Acids Res.* 16 de diciembre de 2014;42(22):13534-44.
120. Pennington KP, Walsh T, Harrell MI, Lee MK, Pennil CC, Rendi MH, et al. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 de febrero de 2014;20(3):764-75.
121. Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H, et al. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol.* enero de 2012;21(1):134-47.
122. Casey MJ, Bewtra C, Lynch HT, Snyder C, Stacy M, Watson P. Phenotypic heterogeneity of hereditary gynecologic cancers: a report from the Creighton hereditary cancer registry. *Fam Cancer.* diciembre de 2013;12(4):719-40.
123. Norquist BM, Brady MF, Harrell MI, Walsh T, Lee MK, Gulsuner S, et al. Mutations in Homologous Recombination Genes and Outcomes in Ovarian Carcinoma Patients in GOG 218: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 de febrero de 2018;24(4):777-83.
124. Boyd J, Sonoda Y, Federici MG, Bogomolny F, Rhei E, Maresco DL, et al. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA.* 3 de mayo de 2000;283(17):2260-5.
125. Gourley C, Michie CO, Roxburgh P, Yap TA, Harden S, Paul J, et al. Increased incidence of visceral metastases in scottish patients with BRCA1/2-

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- defective ovarian cancer: an extension of the ovarian BRCAness phenotype. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 de mayo de 2010;28(15):2505-11.
126. Coleman RL, Monk BJ, Sood AK, Herzog TJ. Latest research and treatment of advanced-stage epithelial ovarian cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. abril de 2013;10(4):211-24.
127. Gordon AN, Fleagle JT, Guthrie D, Parkin DE, Gore ME, Lacave AJ. Recurrent epithelial ovarian carcinoma: a randomized phase III study of pegylated liposomal doxorubicin versus topotecan. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 15 de julio de 2001;19(14):3312-22.
128. Pectasides D, Pectasides E, Papaxoinis G, Psyrri A, Pliarchopoulou K, Koumarianou A, et al. Carboplatin/gemcitabine alternating with carboplatin/pegylated liposomal doxorubicin and carboplatin/cyclophosphamide in platinum-refractory/resistant paclitaxel - pretreated ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. julio de 2010;118(1):52-7.
129. Aghajanian C, Goff B, Nycum LR, Wang YV, Husain A, Blank SV. Final overall survival and safety analysis of OCEANS, a phase 3 trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. octubre de 2015;139(1):10-6.
130. Bolton KL, Chenevix-Trench G, Goh C, Sadetzki S, Ramus SJ, Karlan BY, et al. Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer. *JAMA*. 25 de enero de 2012;307(4):382-90.
131. 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*. 12 de octubre de 2011;306(14):1557-65.
132. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med*. 12 de abril de 2012;366(15):1382-92.
133. Liu JF, Barry WT, Birrer M, Lee JM, Buckanovich RJ, Fleming GF, et al. Combination cediranib and olaparib versus olaparib alone for women with recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 study. *Lancet Oncol*. octubre de 2014;15(11):1207-14.
134. Brody LC. Treating cancer by targeting a weakness. *N Engl J Med*. 1 de septiembre de 2005;353(9):949-50.
135. Sousa FG, Matuo R, Soares DG, Escargueil AE, Henriques JAP, Larsen AK, et al. PARPs and the DNA damage response. *Carcinogenesis*. 1 de agosto de 2012;33(8):1433-40.
136. Scott CL, Swisher EM, Kaufmann SH. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors: recent advances and future development. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 de abril de 2015;33(12):1397-406.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

137. Li M, Yu X. Function of BRCA1 in the DNA damage response is mediated by ADP-ribosylation. *Cancer Cell*. 13 de mayo de 2013;23(5):693-704.
138. Patel AG, Sarkaria JN, Kaufmann SH. Nonhomologous end joining drives poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor lethality in homologous recombination-deficient cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 22 de febrero de 2011;108(8):3406-11.
139. Konstantinopoulos PA, Ceccaldi R, Shapiro GI, D'Andrea AD. Homologous Recombination Deficiency: Exploiting the Fundamental Vulnerability of Ovarian Cancer. *Cancer Discov*. noviembre de 2015;5(11):1137-54.
140. lynparza-epar-medicine-overview_en.pdf [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/lynparza-epar-medicine-overview_en.pdf
141. FICHA TECNICA LYNPARZA 150 MG COMPRIMIDOS RECUBIERTOS CON PELICULA [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/114959004/FT_114959004.html#4-1-indicaciones-terap-uticas
142. rubraca-epar-medicine-overview_es.pdf [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/rubraca-epar-medicine-overview_es.pdf
143. FICHA TECNICA RUBRACA 300 MG COMPRIMIDOS RECUBIERTOS CON PELICULA [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1171250003/FT_1171250003.html
144. zejula-epar-medicine-overview_es.pdf [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/zejula-epar-medicine-overview_es.pdf
145. FICHA TECNICA ZEJULA 100 MG CAPSULAS DURAS [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1171235001/FT_1171235001.html
146. Garcia H. Informe de Posicionamiento Terapéutico de olaparib (Lynparza®) en cáncer de ovario.
147. Informe de Posicionamiento Terapéutico de olaparib (Lynparza®) en combinación con bevacizumab, en el tratamiento de mantenimiento para el cáncer de ovario epitelial de alto grado avanzado, de trompa de Falopio o peritoneal primario, con deficiencia en la recombinación homóloga (HRD), tras haber completado una primera línea de quimioterapia basada en platino, en combinación con bevacizumab.
148. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios [Internet]. 2022 [citado 14 de febrero de 2023]. Informe de Posicionamiento Terapéutico

VIII. BIBLIOGRAFÍA

de Zejula® (niraparib) en tratamiento de mantenimiento en monoterapia de pacientes adultas con cáncer de ovario epitelial de alto grado avanzado (estadios FIGO III y IV), de trompa de Falopio o peritoneal primario, que están en respuesta (completa o parcial) tras haber completado una primera línea de quimioterapia basada en platino. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/informa/informes-de-posicionamiento-terapeutico/informe-de-posicionamiento-terapeutico-de-zejula-niraparib-en-tratamiento-de-mantenimiento-en-monoterapia-de-pacientes-adultas-con-cancer-de-ovario-epitelial-de-alto-grado-avanzado-estadios-f/>

149. Informe de Posicionamiento Terapéutico de rucaparib (Rubraca®) en cáncer de ovario.

150. DiSilvestro P, Banerjee S, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A, et al. Overall Survival With Maintenance Olaparib at a 7-Year Follow-Up in Patients With Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer and a BRCA Mutation: The SOLO1/GOG 3004 Trial. *J Clin Oncol*. 20 de enero de 2023;41(3):609-17.

151. Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, GebSKI V, Penson RT, Oza AM, et al. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 1 de septiembre de 2017;18(9):1274-84.

152. Hodgson DR, Dougherty BA, Lai Z, Fielding A, Grinsted L, Spencer S, et al. Candidate biomarkers of PARP inhibitor sensitivity in ovarian cancer beyond the BRCA genes. *Br J Cancer*. noviembre de 2018;119(11):1401-9.

153. Poveda AM, Davidson R, Blakeley C, Milner A. Olaparib maintenance monotherapy in platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer without germline BRCA mutations: OPINION Phase IIIb study design. *Future Oncol*. noviembre de 2019;15(32):3651-63.

154. Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, Pérol D, González-Martín A, Berger R, et al. Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 19 de diciembre de 2019;381(25):2416-28.

155. Clamp AR, Lorusso D, Oza AM, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A, et al. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma: the effects of progression-free interval and prior therapies on efficacy and safety in the randomized phase III trial ARIEL3. *Int J Gynecol Cancer [Internet]*. 1 de julio de 2021 [citado 14 de febrero de 2023];31(7). Disponible en: <https://ijgc.bmj.com/content/31/7/949>

156. González-Martín A, Pothuri B, Vergote I, DePont Christensen R, Graybill W, Mirza MR, et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 19 de diciembre de 2019;381(25):2391-402.

157. del Campo JM, Matulonis UA, Malander S, Provencher D, Mahner S, Follana P, et al. Niraparib Maintenance Therapy in Patients With Recurrent Ovarian Cancer After a Partial Response to the Last Platinum-Based

Chemotherapy in the ENGOT-OV16/NOVA Trial. *J Clin Oncol*. 10 de noviembre de 2019;37(32):2968-73.

158. Iodice S, Barile M, Rotmensz N, Feroce I, Bonanni B, Radice P, et al. Oral contraceptive use and breast or ovarian cancer risk in BRCA1/2 carriers: a meta-analysis. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. agosto de 2010;46(12):2275-84.

159. Menon U, Ryan A, Kalsi J, Gentry-Maharaj A, Dawney A, Habib M, et al. Risk Algorithm Using Serial Biomarker Measurements Doubles the Number of Screen-Detected Cancers Compared With a Single-Threshold Rule in the United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 de junio de 2015;33(18):2062-71.

160. Skates SJ. Ovarian cancer screening: development of the risk of ovarian cancer algorithm (ROCA) and ROCA screening trials. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc*. mayo de 2012;22 Suppl 1(Suppl 1):S24-26.

161. Daly MB, Pilarski R, Berry M, Buys SS, Farmer M, Friedman S, et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. enero de 2017;15(1):9-20.

162. Paluch-Shimon S, Cardoso F, Sessa C, Balmana J, Cardoso MJ, Gilbert F, et al. Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention and screening. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. septiembre de 2016;27(suppl 5):v103-10.

163. Marchetti C, De Felice F, Palaia I, Perniola G, Musella A, Musio D, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy: a meta-analysis on impact on ovarian cancer risk and all cause mortality in BRCA 1 and BRCA 2 mutation carriers. *BMC Womens Health*. 12 de diciembre de 2014;14:150.

164. Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst*. 21 de enero de 2009;101(2):80-7.

165. Finch APM, Lubinski J, Møller P, Singer CF, Karlan B, Senter L, et al. Impact of oophorectomy on cancer incidence and mortality in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 de mayo de 2014;32(15):1547-53.

166. Friedlander M, Trimble E, Tinker A, Alberts D, Avall-Lundqvist E, Brady M, et al. Clinical trials in recurrent ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc*. mayo de 2011;21(4):771-5.

167. Palmirotta R, Silvestris E, D'Oronzo S, Cardascia A, Silvestris F. Ovarian cancer: Novel molecular aspects for clinical assessment. *Crit Rev Oncol Hematol*. septiembre de 2017;117:12-29.

168. Rosado Jiménez L. Estudio de variantes genéticas recurrentes y priorización de variantes de significado clínico desconocido asociadas al síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario en familias de la Región de

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Murcia. Proy Investig [Internet]. 7 de diciembre de 2022 [citado 14 de febrero de 2023]; Disponible en: <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/126213>
169. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. diciembre de 1977;74(12):5463-7.
170. National Center for Biotechnology Information [Internet]. [citado 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
171. Cunningham F, Allen JE, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Amode MR, Armean IM, et al. Ensembl 2022. *Nucleic Acids Res*. 17 de noviembre de 2021;50(D1):D988-95.
172. Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*. 18 de junio de 2012;13:134.
173. Untergasser A, Nijveen H, Rao X, Bisseling T, Geurts R, Leunissen JAM. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Res*. julio de 2007;35(Web Server issue):W71-74.
174. Ruiz de Sabando A, Urrutia Lafuente E, García-Amigot F, Alonso Sánchez A, Morales Garofalo L, Moreno S, et al. Genetic and clinical characterization of BRCA-associated hereditary breast and ovarian cancer in Navarra (Spain). *BMC Cancer*. 27 de noviembre de 2019;19(1):1145.
175. Sagi M, Eilat A, Ben Avi L, Goldberg Y, Bercovich D, Hamburger T, et al. Two BRCA1/2 founder mutations in Jews of Sephardic origin. *Fam Cancer*. marzo de 2011;10(1):59-63.
176. Machado PM, Brandão RD, Cavaco BM, Eugénio J, Bento S, Nave M, et al. Screening for a BRCA2 rearrangement in high-risk breast/ovarian cancer families: evidence for a founder effect and analysis of the associated phenotypes. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 de mayo de 2007;25(15):2027-34.
177. Mucaki EJ, Caminsky NG, Perri AM, Lu R, Laederach A, Halvorsen M, et al. A unified analytic framework for prioritization of non-coding variants of uncertain significance in heritable breast and ovarian cancer. *BMC Med Genomics*. 11 de abril de 2016;9:19.
178. Caminsky NG, Mucaki EJ, Perri AM, Lu R, Knoll JHM, Rogan PK. Prioritizing Variants in Complete Hereditary Breast and Ovarian Cancer Genes in Patients Lacking Known BRCA Mutations. *Hum Mutat*. julio de 2016;37(7):640-52.
179. Morales A, Hershberger RE. Variants of Uncertain Significance: Should We Revisit How They Are Evaluated and Disclosed? *Circ Genomic Precis Med*. junio de 2018;11(6):e002169.
180. Mersch J, Brown N, Pirzadeh-Miller S, Mundt E, Cox HC, Brown K, et al. Prevalence of Variant Reclassification Following Hereditary Cancer Genetic Testing. *JAMA*. 25 de septiembre de 2018;320(12):1266-74.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

181. Mahecha D, Nuñez H, Lattig MC, Duitama J. Machine learning models for accurate prioritization of variants of uncertain significance. *Hum Mutat.* abril de 2022;43(4):449-60.
182. Stella S, Vitale SR, Martorana F, Massimino M, Pavone G, Lanzafame K, et al. Mutational Analysis of BRCA1 and BRCA2 Genes in Breast Cancer Patients from Eastern Sicily. *Cancer Manag Res.* 5 de abril de 2022;14:1341-52.
183. González-Santiago S, Ramón Y Cajal T, Aguirre E, Alés-Martínez JE, Andrés R, Balmaña J, et al. SEOM clinical guidelines in hereditary breast and ovarian cancer (2019). *Clin Transl Oncol Off Publ Fed Span Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex.* febrero de 2020;22(2):193-200.
184. Rebbeck TR, Friebel TM, Friedman E, Hamann U, Huo D, Kwong A, et al. Mutational spectrum in a worldwide study of 29,700 families with BRCA1 or BRCA2 mutations. *Hum Mutat.* mayo de 2018;39(5):593-620.
185. Pilar Sánchez Henarejo. Impacto pronóstico de las mutaciones de BRCA1 y BRCA2 en el cáncer de ovario hereditario. *Proy Investig [Internet].* 23 de octubre de 2018; Disponible en: <http://hdl.handle.net/10201/62399>
186. Walsh T, Casadei S, Coats KH, Swisher E, Stray SM, Higgins J, et al. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA.* 22 de marzo de 2006;295(12):1379-88.
187. Sluiter MD, van Rensburg EJ. Large genomic rearrangements of the BRCA1 and BRCA2 genes: review of the literature and report of a novel BRCA1 mutation. *Breast Cancer Res Treat.* enero de 2011;125(2):325-49.
188. de Juan Jiménez I, García Casado Z, Palanca Suela S, Esteban Cardeñosa E, López Guerrero JA, Segura Huerta Á, et al. Novel and recurrent BRCA1/BRCA2 mutations in early onset and familial breast and ovarian cancer detected in the Program of Genetic Counseling in Cancer of Valencian Community (eastern Spain). Relationship of family phenotypes with mutation prevalence. *Fam Cancer.* diciembre de 2013;12(4):767-77.
189. Castillo Guardiola V. Aportación de la secuenciación masiva de nueva generación en el diagnóstico del síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario mediante el uso de un panel de genes. *Proy Investig [Internet].* 17 de julio de 2019 [citado 24 de julio de 2023]; Disponible en: <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/73883>
190. Ransburgh DJR, Chiba N, Ishioka C, Toland AE, Parvin JD. Identification of breast tumor mutations in BRCA1 that abolish its function in homologous DNA recombination. *Cancer Res.* 1 de febrero de 2010;70(3):988-95.
191. Janavičius R. Founder BRCA1/2 mutations in the Europe: implications for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control. *EPMA J.* septiembre de 2010;1(3):397-412.
192. Santos C, Peixoto A, Rocha P, Vega A, Soares MJ, Cerveira N, et al. Haplotype and quantitative transcript analyses of Portuguese breast/ovarian

cancer families with the BRCA1 R71G founder mutation of Galician origin. *Fam Cancer*. 2009;8(3):203-8.

193. Vega A, Campos B, Bressac-De-Paillerets B, Bond PM, Janin N, Douglas FS, et al. The R71G BRCA1 is a founder Spanish mutation and leads to aberrant splicing of the transcript. *Hum Mutat*. junio de 2001;17(6):520-1.

194. Yang Y, Zhang G, Hu C, Luo W, Jiang H, Liu S, et al. The germline mutational landscape of genitourinary cancers and its indication for prognosis and risk. *BMC Urol*. 30 de noviembre de 2022;22(1):196.

195. Pathak SJ, Mueller JL, Okamoto K, Das B, Hertecant J, Greenhalgh L, et al. EPCAM mutation update: Variants associated with congenital tufting enteropathy and Lynch syndrome. *Hum Mutat*. febrero de 2019;40(2):142-61.

196. Li N, Zethoven M, McInerney S, Healey E, DeSilva D, Devereux L, et al. Contribution of large genomic rearrangements in PALB2 to familial breast cancer: implications for genetic testing. *J Med Genet*. febrero de 2023;60(2):112-8.

197. Orellana P, López-Köstner F, Heine C, Suazo C, Pinto E, Church J, et al. Large deletions and splicing-site mutations in the STK11 gene in Peutz-Jeghers Chilean families: Deletions and mutations in Peutz-Jeghers Chilean families. *Clin Genet*. abril de 2013;83(4):365-9.

198. Liu J, Cristea MC, Frankel P, Neuhausen SL, Steele L, Engelstaedter V, et al. Clinical characteristics and outcomes of BRCA-associated ovarian cancer (OC): genotype and survival. *Cancer Genet*. enero de 2012;205(1-2):34-41.

199. Pal T, Permeth-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*. 15 de diciembre de 2005;104(12):2807-16.

200. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DEC, Rosen B, Bradley L, Fan I, et al. Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada. *J Natl Cancer Inst*. 6 de diciembre de 2006;98(23):1694-706.

201. O'Mahony DG, Ramus SJ, Southey MC, Meagher NS, Hadjisavvas A, John EM, et al. Ovarian cancer pathology characteristics as predictors of variant pathogenicity in BRCA1 and BRCA2. *Br J Cancer*. 29 de junio de 2023;128(12):2283-94.

202. Shao D, Cheng S, Guo F, Zhu C, Yuan Y, Hu K, et al. Prevalence of hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) predisposition gene mutations among 882 HBOC high-risk Chinese individuals. *Cancer Sci*. febrero de 2020;111(2):647-57.

203. Lerner-Ellis J, Mighton C, Lazaro C, Watkins N, Di Gioacchino V, Wong A, et al. Correction to: Multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer in the province of Ontario. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1 de agosto de 2021;147(8):2487-2487.

204. Kotsopoulos J, Hathaway CA, Narod SA, Teras LR, Patel AV, Hu C, et al. Germline mutations in 12 genes and risk of ovarian cancer in three

population-based cohorts. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. 26 de julio de 2023;EPI-23-0041.

205. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Kwan E, 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*. marzo de 2001;68(3):700-10.

206. Hearle N, Schumacher V, Menko FH, Olschwang S, Boardman LA, Gille JJP, et al. Frequency and spectrum of cancers in the Peutz-Jeghers syndrome. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 de mayo de 2006;12(10):3209-15.

207. Giardiello FM, Brensinger JD, Tersmette AC, Goodman SN, Petersen GM, Booker SV, et al. Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. *Gastroenterology*. diciembre de 2000;119(6):1447-53.

208. Colon Cancer, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology in: *Journal of the National Comprehensive Cancer Network Volume 19 Issue 3 (2021)* [Internet]. [citado 4 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://jnccn.org/view/journals/jnccn/19/3/article-p329.xml>

209. Helder-Woolderink JM, Blok EA, Vasen HFA, Hollema H, Mourits MJ, De Bock GH. Ovarian cancer in Lynch syndrome; a systematic review. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. marzo de 2016;55:65-73.

210. Singer CF, Balmaña J, Bürki N, Delalogue S, Filieri ME, Gerdes AM, et al. Genetic counselling and testing of susceptibility genes for therapeutic decision-making in breast cancer-an European consensus statement and expert recommendations. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. enero de 2019;106:54-60.

211. Castillo Guardiola V, Sarabia Meseguer A, Rosado Jiménez L, Marín M, Macías Cerrolaza JA, Cuevas Tortosa E, et al. Utilidad de los algoritmos de priorización de variantes con significado clínico desconocido en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario. *Rev Med Lab*. 2021;2(1):21-9.

212. Freimund AE, Beach JA, Christie EL, Bowtell DDL. Mechanisms of Drug Resistance in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Hematol Oncol Clin North Am*. diciembre de 2018;32(6):983-96.

213. Patch AM, Christie EL, Etemadmoghadam D, Garsed DW, George J, Fereday S, et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature*. mayo de 2015;521(7553):489-94.

214. Norquist B, Wurz KA, Pennil CC, Garcia R, Gross J, Sakai W, et al. Secondary Somatic Mutations Restoring BRCA1/2 Predict Chemotherapy Resistance in Hereditary Ovarian Carcinomas. *J Clin Oncol*. 1 de agosto de 2011;29(22):3008-15.

215. Wu T, Dai Y. Tumor microenvironment and therapeutic response. *Cancer Lett*. 28 de febrero de 2017;387:61-8.

216. Tan DSP, Rothermundt C, Thomas K, Bancroft E, Eeles R, Shanley S, et al. «BRCAness» syndrome in ovarian cancer: a case-control study describing

VIII. BIBLIOGRAFÍA

the clinical features and outcome of patients with epithelial ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 de diciembre de 2008;26(34):5530-6.

217. McCabe N, Turner NC, Lord CJ, Kluzek K, Bialkowska A, Swift S, et al. Deficiency in the repair of DNA damage by homologous recombination and sensitivity to poly(ADP-ribose) polymerase inhibition. *Cancer Res*. 15 de agosto de 2006;66(16):8109-15.

