



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Impacto Pronóstico de las Mutaciones de
BRCA1 Y BRCA2 en el Cáncer de Ovario
Hereditario**

D^a. Pilar Sánchez Henarejos

2018

DIRECTOR:

Dr. D. José Luís Alonso Romero

Jefe de Servicio de Oncología Médica. Hospital C.U. Virgen de la Arrixaca

Profesor asociado del Área Medicina. Universidad de Murcia



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D. Jose Luis Alonso Romero, profesor asociado de Universidad del Área de Oncología en el Departamento de Medicina Interna, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Impacto pronóstico de las mutaciones de BRCA1 y BRCA2 en el cáncer de ovario hereditario", realizada por D. Pilar Sánchez Henarejos, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 1 de junio de 2018

Mod:T-20

A mis padres.

A Víctor.

A mis hijos Víctor, María y Helena.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a la ayuda de varias personas

Al Dr. Jose Luis Alonso, director de esta tesis, por su apoyo constante, su perseverancia, sus consejos y su amistad.

A la Unidad de Consejo Genético del Hospital Morales Meseguer, en especial al Dr. Jose Antonio Macías, por su colaboración en la recogida de datos.

A Encarna Cuevas, enfermera de la Unidad de Consejo Genético del Hospital Virgen de la Arrixaca por su ayuda a la hora de recopilar información y su buena disposición.

A Guadalupe Ruiz, estadística de la Fundación para la Investigación Sanitaria por su ayuda y consejos a la hora de realizar el análisis estadístico.

A la Dra. Amparo Sarabia Meseguer por su disponibilidad y colaboración en todo momento para resolver mis dudas.

A todos los miembros del Servicio de Oncología Médica del Hospital Virgen de la Arrixaca, por sus consejos, apoyo y compañía en momentos duros. Ir a trabajar cada mañana con ilusión es posible gracias a vosotros.

A mi vieja amiga Nuria, por estar dispuesta a ayudar en todo momento.

A mi familia, en especial a mis padres por enseñarme que el trabajo y el esfuerzo siempre merecen la pena. A mis hermanas María y Ana, por ser un pilar fundamental en mi vida. A mis cuñados y sobrinos, los que están y los que vienen.

A mis amigos. Por fortuna, sois muchos para nombraros a todos, gracias por estar ahí para lo que haga falta.

Y sobre todo a Pato, por su apoyo incondicional y su paciencia. Juegas todos los días con la luz del Universo.

RESUMEN

Introducción:

Se estima que entre un 10-15% de los carcinomas epiteliales de ovario aparecen en mujeres con susceptibilidad genética. El 80% de los casos se asocian a mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2. El resto se deben a mutaciones en genes mismatch repair (MMR), genes implicados en la vía de la recombinación homóloga y TP53. Las características clínico-patológicas del cáncer de ovario varían en función de la mutación genética subyacente. En lo que respecta al pronóstico, los carcinomas asociados a mutaciones en BRCA1 y BRCA2 parecen presentar un curso clínico más favorable con mayores tasas de supervivencia, aunque los datos no son homogéneos.

Objetivos:

Comparar la supervivencia global (SG), supervivencia libre de progresión (SLP) e intervalo libre de platino (ILP) de las pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA1/BRCA2 respecto a un grupo de pacientes diagnosticadas de carcinoma esporádico.

Material y Métodos:

Hemos realizado un estudio de cohortes retrospectivo que incluyó a todas las pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 valoradas entre Enero de 2008 y Enero de 2016 en las Unidades de Consejo Genético de la Región de Murcia. La evolución de esta cohorte se comparó con la de otra formada por pacientes con carcinoma de ovario sin criterios de estudio genético. También hemos evaluado la repercusión sobre el pronóstico de las diferentes categorías resultantes del estudio genético (pacientes portadoras de mutaciones en BRCA, portadoras de mutaciones en genes MMR, pacientes con estudio genético no informativo).

Resultados:

Las pacientes portadoras de mutaciones germinales en BRCA1 y BRCA2 presentan mejor pronóstico en términos de SLP y SG con respecto a las pacientes con carcinoma

de ovario esporádico. En el análisis multivariante las únicas variables que influyeron tanto sobre la SLP como sobre la SG fueron la presencia de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 y la sensibilidad a platino. La alteración de los mecanismos implicados en la recombinación homóloga que presentan las células deficientes en BRCA1 y BRCA2 explicaría por qué estos carcinomas son más sensibles al tratamiento con sales de platino y ello se traduciría en una supervivencia más prolongada. El pronóstico de las pacientes con criterios de síndrome hereditario que presentaron un test no informativo fue similar en términos de SLP y SG al de pacientes portadoras. Estas pacientes además presentaron ILP significativamente más prolongados que las pacientes con carcinomas esporádicos, lo que sugiere que podrían presentar alteraciones somáticas o germinales en otros genes relacionados con la vía de la recombinación homóloga.

Conclusiones:

Los carcinomas de ovario asociados a mutaciones en BRCA1 y BRCA2 tienen una supervivencia significativamente más prolongada que los carcinomas esporádicos. El diagnóstico genético de las pacientes con carcinoma de ovario podría ayudar a predecir la evolución y seleccionar la estrategia de tratamiento más adecuada.

ABSTRACT

Introduction:

Genetic mutations are estimated to cause 10-15% of epithelial ovarian cancers. As many as 80% of cases of epithelial ovarian cancer are associated with mutations in the genes BRCA1 and BRCA2. The remaining 20% are caused by mutations in mismatch repair (MMR) genes, other genes involved in homologous recombination and TP53. The clinical characteristics of ovarian cancer are related to the underlying genetic mutation. Prognosis of ovarian cancers associated to BRCA 1 or BRCA2 mutations is supposed to be more favorable, although data are not homogeneous.

Objectives:

Assessing overall survival (OS), progression-free survival (PFS) and platinum-free interval (PFI) in ovarian cancer patients with pathogenic mutations in BRCA1/2, as compared to patients with sporadic cancer.

Materials and Methods:

A retrospective cohort study was performed. The sample was composed of all ovarian cancer patients with mutations in BRCA1/BRCA2 examined in the Genetic Counseling Units of Murcia, Spain, between January 2008 and January 2016. The evolution of this cohort was compared with that of patients with ovarian cancer not meeting the indications for a genetic test. Based on genetic test results, patients were classified as "carriers of BRCA mutations", "carriers of MMR mutations", and "patients with uninformative test results". Then, we investigated the potential relationship between these mutations and prognosis.

Results:

Carriers of germline mutations in BRCA1/2 had a more favorable prognosis in terms of OS and PFS, as compared to patients with sporadic cancer. Multivariate analysis revealed that mutations in BRCA1/2 and platinum sensitivity were the only factors with significant effects on both OS and PFS. The alterations in homologous recombination

mechanisms exhibited by BRCA1/BRCA2-mutated cells may explain BRCA1/2-mutation carriers' higher sensitivity to platinum-based chemotherapy, which results in higher survival rates. The prognosis of patients who met criteria of hereditary ovarian cancer syndrome with uninformative test results was similar to that of BRCA-mutation carriers in terms of OS and PFS. In addition, PFI was significantly higher in these patients, as compared to that of patients with sporadic cancer. This suggests that these patients might carry somatic or germline mutations in genes other than BRCA1/2 involved in the homologous recombination pathway.

Conclusions:

Survival was significantly higher in ovarian cancer patients with BRCA1/2 mutations, compared to patients with sporadic ovarian cancer. Diagnosis of ovarian cancer based on genetic criteria may have prognostic value and could guide the choice of the best treatment for each patient.

INDICE DE CONTENIDOS:

ABREVIATURAS.....	XXIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	XXV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XXVII
I. INTRODUCCIÓN	1
1. Clasificación patogénica del cáncer de ovario epitelial.	3
2. Epidemiología y factores de riesgo del cáncer de ovario.	4
2.1. Historia reproductiva	6
2.1.1. Número de gestaciones	6
2.1.2. Anticonceptivos hormonales orales (ACHO)	7
2.1.3. Lactancia	8
2.2. Factores hormonales	8
2.2.1. Gonadotropinas	8
2.2.2. Progestágenos	9
2.2.3. Estrógenos	9
2.3. Inflamación pélvica	10
2.3.1. Endometriosis	10
2.3.2. Talco	11
2.3.3. Enfermedad inflamatoria pélvica (EIP)	11
2.4. Obesidad	11
2.5. Dieta	12
2.6. Ejercicio físico	12
2.7. Tabaco	12
2.8. Historia familiar	13
3. Factores pronósticos del cáncer de ovario.	13
3.1. Factores pronósticos en estadios precoces	14
3.2. Factores pronósticos en estadios avanzados	15
4. Cáncer de ovario hereditario.	16
4.1. Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (SCMOH) asociado a BRCA1 y BRCA2	18
4.1.1. La recombinación homóloga	18
4.1.2. Estructura y función de BRCA1	22
4.1.3. Estructura y función de BRCA2	23
4.1.4. Tipos de mutaciones en BRCA1 y BRCA2	24
4.1.5. Penetrancia de las mutaciones de BRCA1 y BRCA2	26
4.2. Genes de la recombinación homóloga asociados al cáncer de ovario	28
4.2.1. Genes relacionados con la vía de la Anemia de Fanconi	28
4.2.1.1. PALB2	30
4.2.1.2. BRIP1	31
4.2.1.3. RAD51C y RAD51D	31
4.2.2. Otros genes implicados en el desarrollo de cáncer de ovario	32
4.2.2.1. CHEK2	33
4.2.2.2. BARD1	33
4.2.2.3. Complejo MRE11	34
4.3. Fenotipo del cáncer de ovario asociado a alteraciones en la RH	34
4.4. Tratamiento del cáncer de ovario asociado a alteraciones en la RH	35
4.4.1. Quimioterapia convencional	35
4.4.2. Inhibidores de Poli (ADP- ribosa) polimerasa (PARP)	37

4.4.2.1. Mecanismo de acción de los inhibidores de PARP	37
4.4.2.2. Inhibidores de PARP en el tratamiento de cáncer de ovario	40
4.5. Síndrome de Lynch	42
4.5.1. Mecanismo de reparación de errores de emparejamiento de ADN	43
4.5.2. Tipos y penetrancia de las mutaciones	46
4.5.3. Características clínico-patológicas del cáncer de ovario asociado a síndrome de Lynch	47
4.5.4. Tratamiento de cáncer de ovario asociado al síndrome de Lynch	48
4.5.4.1. Quimioterapia convencional	48
4.5.4.2. Terapias dirigidas	48
4.6. Síndrome de Li Fraumeni	51
4.7. Implicaciones en el pronóstico del cáncer de ovario hereditario	53
4.7.1. Pronóstico del cáncer de ovario asociado a BRCA1 y BRCA2	53
4.7.2. Pronóstico del cáncer de ovario asociado al síndrome de Lynch	54
5. El consejo genético en Oncología.	55
6. Tipos de variantes genéticas.	58
7. Estrategias para disminuir el riesgo de cáncer de ovario.	62
7.1. Quimioprevención	62
7.2. Screening del cáncer de ovario	63
7.3. Cirugía profiláctica	65
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.	70
1. Justificación del Estudio.	71
2. Hipótesis de Trabajo.	72
3. Objetivos.	72
3.1. Objetivo principal	72
3.2. Objetivos secundarios	72
III. MATERIAL Y MÉTODOS.	75
1. Diseño del Estudio.	77
2. Población y Periodo de Estudio.	77
2.1. Cohorte de pacientes valoradas en las UCG	77
2.1.1. Criterios de inclusión	77
2.1.2. Criterios de exclusión	81
2.2. Selección de la cohorte diagnosticada de carcinoma de ovario esporádico	81
3. Fuentes de Datos.	82
4. Variables Evaluadas.	83
4.1. Variables Principales	83
4.2. Variables Secundarias	84
5. Recogida de Datos.	87
6. Estudio Genético.	87
6.1. Estudio de IMS e IHQ de proteínas reparadoras en biopsia tumoral	88
6.1.1. Análisis de inestabilidad de microsatélites	88
6.1.2. Expresión de proteínas reparadoras mediante IHQ	89
6.2. Estudio de mutaciones germinales	89

6.2.1 Fase preanalítica	90
6.2.2. Fase analítica	90
6.2.3. Fase post-analítica	93
7. Análisis Estadístico.	94
7. 1. Análisis descriptivo	94
7.2. Análisis inferencial	94
7.3. Análisis de supervivencia	95
8. Consideraciones Éticas.	95
IV. RESULTADOS.	97
1. Análisis descriptivo de las características clínico-patológicas de las pacientes valoradas en las UCG.	99
1.1. Características clínicas	99
1.2. Enfermedad tumoral	100
1.2.1. Estadio al diagnóstico	100
1.2.2. Histología tumoral	100
1.3. Diagnóstico de otras neoplasias	102
2. Análisis descriptivo de las variantes génicas detectadas en las pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario con criterios de estudio genético.	103
2.1. Variantes en genes BRCA	104
2.1.1. Mutaciones patogénicas de BRCA1	105
2.1.2. Mutaciones patogénicas en BRCA2	108
2.1.3. Mutaciones de significado clínico incierto de BRCA1	110
2.1.4. Mutaciones de significado clínico incierto de BRCA2	111
2.2. Variantes detectadas den genes MMR	112
2.3. Variantes detectadas en RAD51C	114
2.4. Variantes detectadas en RAD51D	115
3. Análisis bivariente, comparativo de las características clínico-patológicas en función del resultado del estudio genético.	116
3.1. Edad al diagnóstico	116
3.2. Histología tumoral	118
3.3. Grado histológico	120
3.4. Estadio al diagnóstico	121
3.5. Diagnóstico de otras neoplasias	123
4. Análisis de supervivencia comparativo entre grupo BRCA+ y grupo control. . .	124
4.1. Características basales de las pacientes	125
4.2. Seguimiento	126
4.3. Análisis Temporal Univariante	126
4.3.1. Intervalo libre de platino	126
4.3.2. Supervivencia libre de progresión	128
4.3.3. Supervivencia global	129
4.3.4. Análisis de supervivencia comparativo entre portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2	130
4.3.5. Análisis temporal univariante con respecto a otras variables clínicas	130
4.3.5.1. Supervivencia libre de progresión	130
4.3.5.2. Supervivencia global	132
4.4. Análisis temporal multivariante	133
4.4.1. Supervivencia libre de progresión	133
4.4.2. Supervivencia global	135

5. Análisis de supervivencia según el resultado del estudio genético.	137
5.1. Análisis de supervivencia comparativo entre la cohorte de pacientes con criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer y la cohorte control	138
5.1.1. Intervalo libre de platino	138
5.1.2. Supervivencia libre de progresión	140
5.1.3. Supervivencia global	141
5.2. Análisis de supervivencia comparativo entre los diferentes subgrupos según el resultado del estudio genético	142
5.2.1. Intervalo libre de platino	142
5.2.2. Supervivencia libre de progresión	144
5.2.3. Supervivencia global	146
5.3. Análisis de supervivencia comparativo entre las pacientes portadoras de mutación patogénica, pacientes de alto riesgo y grupo control	147
5.3.1. Intervalo libre de platino	147
5.3.2. Supervivencia libre de progresión	149
5.3.3. Supervivencia global	150
5.4. Análisis de supervivencia univariante en función de las características clínico-patológicas	151
5.4.1. Supervivencia libre de progresión	151
5.4.2. Supervivencia global	152
5.5. Análisis temporal multivariante	154
5.5.1. Supervivencia libre de progresión	154
5.5.2. Supervivencia global	157
V. DISCUSIÓN.	161
1. Análisis descriptivo de las características de nuestras pacientes.	165
2. Análisis descriptivo de las variantes génicas encontradas en nuestra población.	168
2.1. Mutaciones en genes BRCA1 y BRCA2	169
2.2. Mutaciones en genes MMR	172
2.3. Mutaciones en RAD51C y RAD51D	173
3. Características clínico-patológicas en función de resultado de estudio genético.	174
4. Análisis de supervivencia comparativo entre grupo BRCA+ y grupo control. . .	177
4.1. Respuesta al tratamiento	177
4.2. Análisis de supervivencia	179
4.2.1. Factores pronósticos encontrados en nuestro estudio	180
4.2.1.1. Variables clínicas	181
4.2.1.2. Variables relacionadas con el tratamiento	182
4.2.1.3. Variables relacionadas con la biología tumoral	184
4.2.2. Pronóstico de las mutaciones en BRCA1 y BRCA2	186
5. Análisis de supervivencia según el resultado del estudio genético.	187
6. Limitaciones del estudio.	190
VI. CONCLUSIONES.	193
VII. ANEXOS.	197
I. Escala ECOG de valoración del estado funcional.	199
II. Estadaje tumoral FIGO 2014.	200

III. Estadaje quirúrgico del cáncer de ovario.	201
IV. Cuaderno de recogida de datos.	202
V. Consentimiento informado para la realización del estudio genético.	203
VI. Evaluación por el Comité de Ética de HCUVA.	206
VIII. BIBLIOGRAFÍA.	209

ABREVIATURAS

ACHO	Anticonceptivos hormonales orales
ACMG	<i>American College of Medical Genetic</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AF	Anemia de Fanconi
BCCR	<i>Breast Cancer Cluster Region</i>
BER	Reparación por escisión de bases (<i>base excision repair</i>)
CEO	Carcinoma epitelial de ovario
CRD	Cuaderno de recogida de datos
DSBs	Roturas de doble cadena (<i>double-strand breaks</i>)
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EIP	Enfermedad inflamatoria pélvica
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIGO	Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia
HCUVA	Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
HGVS	<i>Human Genome Variation Society</i>
HR	<i>Hazard ratio</i>
HUMM	Hospital Universitario Morales Meseguer
IC	Intervalo de confianza
ICLs	<i>Interstrand crossed links</i>
IHQ	Inmunohistoquímica
ILP	Intervalo libre de platino
IMS	Inestabilidad de microsatélites
LRG	Grandes reordenamientos (<i>large rearrangement</i>)
MLPA	<i>Multiplex Ligation Probe Amplification</i>
MMR	Reparación de errores de emparejamiento (<i>mismatch repair</i>)
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NER	Reparación por escisión de nucleótidos (<i>nucleotide excision repair</i>)
NHC	Número de historia clínica
NHEJ	Unión de extremos no homólogos (<i>non homologous end joining</i>)
OCCR	<i>Ovarian Cancer Cluster Region</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
PARP	Poli (ADP-ribosa) polimerasa
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RD	Reparación directa
RH	Recombinación homóloga
ROCA	Algoritmo de riesgo de cáncer de ovario (<i>risk of ovarian cancer algorithm</i>)
RR	Riesgo relativo
SCMOH	Síndrome de Cáncer de mama y ovario hereditario
SG	Supervivencia global
SLP	Supervivencia libre de progresión
SOBP	Salpingo-ooforectomía bilateral profiláctica
THS	Terapia hormonal sustitutiva
TR	Tasa de respuesta
UCG	Unidades de consejo genético
VUS	Variantes de significado clínico desconocido (<i>variants of uncertain significance</i>)

ÍNDICE DE TABLAS

I. INTRODUCCIÓN

Tabla I.1. Características moleculares e histológicas de los carcinomas de ovario.	4
Tabla I.2. Vías de reparación de ADN en humanos.	19
Tabla I.3. Estudios fase III recientes con inhibidores de PARP.	42
Tabla I.4. Criterios de Chompret revisados para el estudio genético de TP53.	52
Tabla I.5. Principales bases de datos de consulta de variantes génicas.	60

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Tabla III.1. Criterios de selección de pacientes para estudio genético de BRCA1 y BRCA2 de SEOM.	79
Tabla III.2. Criterios de selección para el análisis de RAD51C.	79
Tabla III.3. Criterios de selección para el análisis de RAD51D.	79
Tabla III.4. Criterios de Amsterdam II.	80
Tabla III.5. Criterios de Bethesda.	80
Tabla III.6. Criterios de progresión tumoral propuestos por GCIG.	88
Tabla III.7. Panel de marcadores microsatélites.	88

IV. RESULTADOS

Tabla IV.1. Distribución de pacientes según grupo de edad.	99
Tabla IV.2. Distribución de las pacientes según el estadio tumoral al diagnóstico.	100
Tabla IV.3. Localización de otras neoplasias.	102
Tabla IV.4. Localización de las variantes génicas detectadas en las pacientes.	103
Tabla IV.5. Mutaciones patogénicas en BRCA1.	105
Tabla IV.6. Características clínicas de las pacientes con mutación patogénica de BRCA1.	106
Tabla IV.7. Características clínicas de pacientes portadoras de mutación patogénica en BRCA2.	109
Tabla IV.8. Mutaciones patogénicas en BRCA2.	110
Tabla IV.9. Mutaciones de significado clínico desconocido en BRCA1.	111
Tabla IV.10. Mutaciones de significado clínico incierto BRCA2.	112
Tabla IV.11. Características clínicas de pacientes diagnosticadas de síndrome de Lynch.	113
Tabla IV.12. Mutaciones patogénicas en MSH2 y MSH6.	113

Tabla IV.13. Estadísticos para la edad al diagnóstico en las diferentes categorías.	117
Tabla IV.14. Estadísticos para la edad en las portadoras de mutación en BRCA.	118
Tabla IV.15. Distribución de la histología tumoral en las diferentes categorías.	119
Tabla IV.16. Distribución del grado histológico en las diferentes categorías.	120
Tabla IV.17. Distribución del estadio tumoral al diagnóstico en las diferentes categorías.	122
Tabla IV.18. Distribución del diagnóstico de otras neoplasias en las diferentes categorías.	123
Tabla IV.19. Características basales de la cohorte BRCA+ y la cohorte control.	125
Tabla IV.20. Estadísticos descriptivos del ILP en ambas cohortes.	127
Tabla IV.21. Estadísticos descriptivos de la SLP en ambas cohortes.	128
Tabla IV.22. Estadísticos descriptivos de la SG en ambas cohortes.	129
Tabla IV.23. Análisis univariante de SLP de las variables clínico-patológicas.	131
Tabla IV.24. Análisis univariante de SG de las variables clínico-patológicas.	132
Tabla IV.25. Resultados del análisis multivariante de SLP.	134
Tabla IV.26. Resultados del análisis multivariante de SG.	136
Tabla IV.27. Estadísticos descriptivos del ILP en las cohortes UCG y control.	139
Tabla IV.28. Estadísticos descriptivos de la SLP en las cohortes UCG y control.	140
Tabla IV.29. Estadísticos descriptivos de la SG en las cohortes UCG y control.	141
Tabla IV.30. Estadísticos descriptivos del ILP en las cohortes según resultado genético.	143
Tabla IV.31. Estadísticos descriptivos de la SLP en las cohortes según resultado genético.	145
Tabla IV.32. Estadísticos descriptivos de la SG en las cohortes según resultado genético.	146
Tabla IV.33. Estadísticos descriptivos del ILP en las cohortes portadoras de mutación alto riesgo-control.	148
Tabla IV.34. Estadísticos descriptivos de la SLP en las cohortes portadoras de mutación patogénica, alto riesgo y control.	149
Tabla IV.35. Estadísticos descriptivos de la SG en las cohortes portadoras de mutación alto riesgo-control.	150
Tabla IV.36. Análisis univariante de la SLP según las diferentes variables clínico-patológicas.	151
Tabla IV.37. Análisis univariante de la SG según las diferentes variables clínico-patológicas.	153
Tabla IV.38. Análisis multivariante para la SLP.	155
Tabla IV.39. Análisis multivariante para la SG.	158

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.	5
Figura I.2. Tasa de incidencia del cáncer de ovario por grupo de edad Región de Murcia. . . .	6
Figura I.3. Arquitectura genética del riesgo de cáncer.	17
Figura I.4. Genes implicados en el cáncer de ovario hereditario y su prevalencia.	18
Figura I.5. Fases del proceso de la recombinación homóloga.	21
Figura I.6. Estructura de la proteína BRCA1 y proteínas con las que interacciona.	22
Figura I.7. BRCA1 actúa como núcleo central interconectando diferentes vías celulares. . . .	23
Figura I.8. Estructura de la proteína BRCA2 y principales proteínas con las que interacciona. .	24
Figura I.9. Estructura de BRCA1 y BRCA2 y localización de las regiones OCCR y BCCR.	25
Figura I.10. Riesgo acumulado de cáncer de ovario en mujeres portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2.	27
Figura I.11. Vía de la Anemia de Fanconi.	29
Figura I.12. Esquema de la vía de la Anemia de Fanconi-BRCA.	30
Figura I.13. Mediana de edad al diagnóstico de cáncer de ovario en portadoras de mutaciones en BRCA1, BRCA2 o no portadoras en las principales series publicadas.	35
Figura I.14. Mecanismos de letalidad sintética entre inhibidores de PARP1 y alteración en la RH.	39
Figura I.15. Mecanismo de reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR)	44
Figura I.16. Mecanismo de señalización de PD-1 y PD- L1 e inhibición de PD-1 en los tumores con deficiencia en el sistema MMR.	50

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Figura III.1. Esquema de la secuenciación Sanger.	92
Figura III.2. Fases del proceso MLPA (<i>Multiplex Ligation Probe Amplification</i>)	93

IV. RESULTADOS

Figura IV.1. Distribución de pacientes según grupo de edad.	99
---	----

Figura IV.2. Distribución de las pacientes según el estadio tumoral al diagnóstico.	100
Figura IV.3. Tipo histológico al diagnóstico.	101
Figura IV.4. Variantes génicas detectadas en las pacientes.	103
Figura IV.5. A) Tipos de mutación patogénica en los genes BRCA1 y BRCA2.	104
B) Tipos de VUS en los genes BRCA1 y BRCA2.	104
Figura IV.6. Edad al diagnóstico en las diferentes categorías.	117
Figura IV.7. Edad al diagnóstico en portadoras de mutación en BRCA.	118
Figura IV.8. Diagrama de barras para la histología tumoral según categoría.	119
Figura IV.9. Diagrama de barras para el grado histológico por categoría.	121
Figura IV.10. Diagrama de barras para el estadio al diagnóstico en las diferentes categorías. .	122
Figura IV.11. Diagrama de barras para la presencia de otras neoplasias en las diferentes cohortes.	124
Figura IV.12. Sensibilidad a platino en cada cohorte.	126
Figura IV.13. Curva de Kaplan-Meier para el ILP (meses) en las cohortes BRCA+ y control. . . .	127
Figura IV. 14. Curva de Kaplan-Meier para la SLP (meses) en las cohortes BRCA+ y control. . .	128
Figura IV.15. Curva de Kaplan-Meier para la SG (meses) en las cohortes BRCA+ y control. . . .	129
Figura IV.16. Curvas de SLP y SG en portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2.	130
Figura IV.17. Curvas de SLP para las distintas variables significativas en el análisis multivariante.	135
Figura IV.18. Curvas de SG para las distintas variables significativas en el análisis multivariante.	137
Figura IV.19. Sensibilidad a platino en las cohortes UCG y control.	138
Figura IV.20. Curva de Kaplan-Meier para el ILP (meses) en las cohortes UCG y control.	139
Figura IV.21. Curva de Kaplan-Meier para la SLP(meses) en las cohortes UCG y control.	140
Figura IV.22. Curva de Kaplan-Meier para la SG (meses) en las cohortes UCG y control.	141
Figura IV.23. Sensibilidad a platino en las diferentes cohortes según el resultado del estudio genético.	143
Figura IV.24. Curvas Kaplan-Meier para el ILP en las cohortes según resultado genético.	144
Figura IV.25. Curvas Kaplan-Meier para la SLP en las cohortes según resultado genético. . . .	145
Figura IV.26. Curvas Kaplan-Meier para la SG en las cohortes según resultado genético. . . .	146
Figura IV.27. Sensibilidad a platino en las cohortes Portadoras de mutación patogénica alto riesgo y control.	147

Figura IV.28. Curvas Kaplan-Meier para el ILP en las cohortes portadoras de mutación alto riesgo-control.	148
Figura IV.29. Curvas Kaplan-Meier para la SLP en las cohortes portadoras de mutación alto riesgo-control.	149
Figura IV.30. Curvas Kaplan-Meier para la SG en las cohortes portadoras de mutación alto riesgo-control.	150
Figura IV.31. Curvas de SLP para las diferentes variables significativas en el análisis multivariante.	156
Figura IV.32. Curvas de SG para las diferentes variables significativas en el análisis multivariante.	157

I. Introducción

I. Introducción

1. Clasificación patogénica del cáncer de ovario epitelial

El 90% de las neoplasias ováricas derivan de las células epiteliales, mientras que el 10% restante derivan de células del estroma ovárico y cordones sexuales y del epitelio germinal. En este trabajo nos referiremos en lo sucesivo al carcinoma de ovario epitelial (CEO).

El término cáncer de ovario es una entidad que agrupa tumores con origen en el ovario, trompa de Falopio y peritoneo que se caracterizan por presentar idéntico comportamiento clínico y biológico. Tradicionalmente el CEO se ha clasificado según el subtipo histológico. Debido a los avances en la última década en el conocimiento de los mecanismos moleculares y genéticos de la carcinogénesis en ovario, en la actualidad sabemos que el CEO consta a su vez de varias entidades, que difieren en sus características clinicopatológicas, moleculares y el tipo de lesiones precursoras. (1, 2) (**tabla 1**).

La nueva clasificación del cáncer de ovario agrupa a estos tumores en dos categorías. El cáncer de ovario tipo I incluye carcinomas serosos de bajo grado, carcinomas endometrioides de bajo grado, carcinomas de células claras, carcinomas mucinosos y tumores de Brenner. Este subgrupo tiene un comportamiento más indolente (a excepción de los tumores de células claras), se diagnostican en estadios precoces y se caracterizan por tener una relativa estabilidad genética, sin mutaciones en p53 (2). Las características moleculares de estos tumores difieren según el subtipo histológico. Los carcinomas serosos de bajo grado presentan mutaciones en KRAS, BRAF, ERBB2 y PI3K. Los carcinomas endometrioides de bajo grado se asocian a defectos en la vía de reparación de errores de emparejamiento (*mismatch repair*, MMR), y mutaciones en PTEN, CTNNB1 (que codifica bcatenina) y ARID1A. Los carcinomas de células claras se asocian a mutaciones en ARID1A, PI3K y PTEN (3). Los tumores tipo I provienen de la correspondiente neoplasia benigna que evoluciona a tumor borderline y finalmente a carcinoma. Tanto los carcinomas endometrioides como los de células claras se relacionan con la presencia de endometriosis.

I. Introducción

El cáncer de ovario tipo II incluye los carcinomas serosos de alto grado, endometrioides de alto grado, carcinomas indiferenciados y carcinosarcomas. Constituyen el 75% de los carcinomas de ovario y se caracterizan por tener un curso agresivo y diagnosticarse en estadios avanzados. Son genéticamente más inestables que los tipo I y en el 95% de los casos presentan mutaciones de p53. Aproximadamente un 50% de estos tumores presentan deficiencia en los mecanismos de recombinación homóloga (RH), incluyendo mutaciones germinales en BRCA1 y BRCA2 (4, 5). La mayoría de los carcinomas serosos de alto grado se originan en las fimbrias de las trompas de Falopio (carcinoma intraepitelial de trompa) y de allí metastatizan al ovario y cavidad peritoneal (5, 6).

Tipo	Histología	Lesión precursora	Características moleculares
I	Carcinoma seroso de bajo grado	Carcinoma seroso Borderline	Mutaciones KRAS/ BRAF >60%
I	Carcinoma endometriode de bajo grado	Endometriosis, hiperplasia endometrial atípica	Mutaciones en CTNNB1, PTEN y PI3K. Inestabilidad microsatélites.
I	Carcinoma mucinoso	Carcinoma mucinoso borderline/ Metástasis de carcinoma intestinal	Mutaciones KRAS >50%
I	Carcinoma de células claras	Endometriosis	Mutaciones PI3K, PTEN
II	Carcinoma seroso de alto grado	Carcinoma intraepitelial de trompa	Mutaciones en p53>80%. Disfunción BRCA
II	Carcinoma endometriode de alto grado	Endometriosis.	Mutaciones p53, disfunción BRCA, Mutaciones PI3K

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

2. Epidemiología y factores de riesgo del cáncer de ovario

El cáncer de ovario fue el séptimo cáncer más frecuente en mujeres a nivel mundial en 2012, con 239000 nuevos casos (7). Es el segundo tumor ginecológico más frecuente en países desarrollados con una incidencia de 9,4 casos/100000. En países en vías de desarrollo ocupa el tercer puesto en frecuencia en los tumores ginecológicos, por detrás del carcinoma de cérvix (que es el más frecuente) y el de cuerpo uterino, con una incidencia de 5 casos /100000 mujeres. En 2012 se diagnosticaron en Europa 65538

nuevos casos y fallecieron 42704 pacientes, siendo la tasa de incidencia mayor en los países del norte y este de Europa. La incidencia aumenta progresivamente con la edad. Entre los 40 y 44 años la tasa de incidencia es de 8,8 casos/100000 mujeres y en mayores de 75 años es de 36,7 casos/1000000 mujeres (8).

En España en 2015 se diagnosticaron 3228 casos nuevos, siendo el quinto cáncer más frecuente en mujeres, al igual que en el resto de Europa. La tasa de incidencia ajustada a la población estándar europea fue de 10,7 casos/100000 mujeres. La incidencia de esta neoplasia ha descendido un 9% desde el período 1993-1997, en que se situaba en 11,9/100000 (9). La supervivencia relativa estandarizada por edad en España a 5 años en las pacientes diagnosticadas durante el periodo 2000-2007 fue de 36,8% similar a la del conjunto de Europa (37,6%)(10).

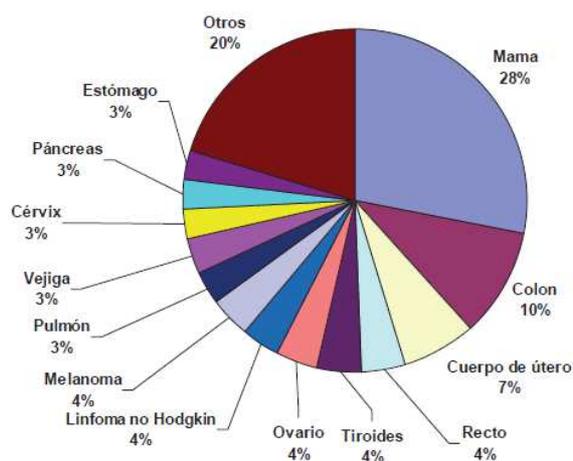


Figura I.1. Distribución de frecuencias de cáncer en la mujer por tipo de tumor en la Región de Murcia. Período 2008 -2009 (11).

En la Región de Murcia, en el período 2008-2009 fue el cuarto tumor más frecuente en mujeres, lo que supone un 4% del total de tumores malignos diagnosticados con una tasa bruta de 13,4 casos/100.000 habitantes (**Figura I.1**) (11). En los últimos años la incidencia ha aumentado progresivamente, pasando de 8,5 casos/100000 en el período 1983-1987 a 11,2/100000 en el período 2003-2007. Esta tendencia ascendente podría explicarse por una disminución en el número de hijos, y se ha observado de forma similar en los países del sur de Europa. También se observa un

I. Introducción

aumento en la incidencia en función de la edad, con tasas que pasan de 20 a 35 casos/100000 en mujeres de entre 50-64 años y mayores de 65 años respectivamente (**Figura I.2**) (12).

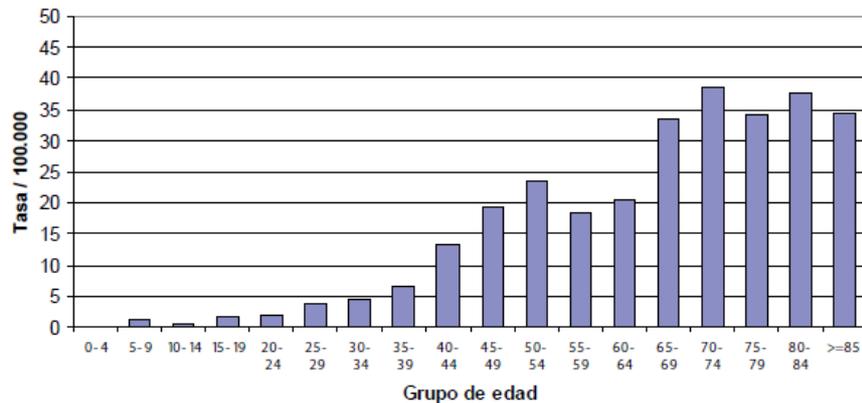


Figura I.2. Tasa de incidencia del cáncer de ovario por grupo de edad Región de Murcia. Período 2003-2007 (12).

El diagnóstico del CEO se lleva a cabo en la mayoría de los casos en estadios avanzados, por lo que los cambios histológicos iniciales asociados a la carcinogénesis ovárica epitelial no están bien caracterizados. Asimismo, también carecemos de un marcador serológico específico que nos permita identificar a aquellas mujeres con mayor riesgo de desarrollar cáncer de ovario. Por todo ello, en la actualidad, son los factores epidemiológicos los que nos permiten identificar a mujeres en riesgo (13). A continuación se detallan los factores de riesgo más relevantes.

2.1. Historia reproductiva

2.1.1. Número de gestaciones

Diversos estudios de casos y controles muestran que la gestación disminuye el riesgo de desarrollar CEO (14). Se estima que un embarazo disminuye hasta un tercio la probabilidad de desarrollar CEO y la reducción del riesgo se incrementa con cada nueva gestación. El efecto permanece durante una o dos décadas y posteriormente va disminuyendo. Los embarazos a mayor edad parecen ser más protectores que los que

suceden a edades más jóvenes. De hecho, una gestación con más de 35 años disminuye el doble el riesgo con respecto a una gestación con menos de 25 años (15). Por ello se ha sugerido que el embarazo podría tener un mecanismo protector independiente de sus efectos en la ovulación, eliminando las lesiones premalignas o las células dañadas (16).

Por otro lado, se ha demostrado que la infertilidad duplica el riesgo relativo (RR) de padecer CEO (17). El uso de drogas para el tratamiento de la infertilidad es una terapia cada vez más extendida y en diversos estudios epidemiológicos se ha relacionado con un incremento de riesgo de desarrollar CEO (18, 19). Al interpretar estos estudios, hay que tener en cuenta que tanto el embarazo como la infertilidad ejercen como factores de confusión. En los dos estudios de casos y controles más recientes (20, 21), no se ha hallado incremento de riesgo asociado con el tratamiento para la infertilidad. Sólo el subgrupo de mujeres que no consigue quedar gestante tras el tratamiento presenta un riesgo incrementado de forma significativa (20).

La ligadura de trompas se asocia a una disminución significativa del riesgo de CEO de un 30%, y este efecto protector permanece hasta 10-15 años después de llevarla a cabo (22). Entre los posibles mecanismos que justifican esta disminución de riesgo se encuentran la alteración de la circulación ovárica tras el procedimiento, que conlleva una supresión de la producción hormonal, un efecto barrera frente a carcinógenos ascendentes y el impedimento que supone la ligadura tubárica para el ascenso de células endometriales o del extremo proximal de la trompa, que podrían ser el origen del carcinoma en algunos casos (23).

2.1.2. Anticonceptivos hormonales orales (ACHO)

Múltiples estudios de casos y controles muestran que el uso de ACHO tiene un efecto protector frente al CEO. Tomar ACHO durante tres años o más conlleva una disminución de riesgo del 30-50% (24). Este efecto se mantiene hasta 10 o 20 años tras finalizar el consumo de ACHO, de forma similar a como ocurre con el embarazo, lo que sugiere un mecanismo biológico subyacente similar.

I. Introducción

2.1.3. Lactancia

La lactancia parece tener un efecto protector, si bien los resultados de los estudios publicados no son uniformes (25, 26). Un reciente metanálisis que incluye cuarenta estudios epidemiológicos publicados hasta la fecha (27), muestra una reducción del 30% del riesgo de desarrollar CEO asociado a la lactancia con respecto a las mujeres que no dan de mamar. También describe una relación lineal entre la magnitud de la reducción de riesgo y la duración de la lactancia.

2.2. Factores hormonales

El epitelio de la superficie ovárica es un tejido fuertemente influenciado por el microambiente hormonal. Presenta receptores para la mayoría de hormonas esteroideas, incluyendo estrógenos, progestágenos, retinoides, vitamina D y andrógenos, así como para gonadotropinas y otras sustancias no hormonales como prostaglandinas. Es por medio de la interacción con estos receptores, que las hormonas sexuales ejercen su efecto sobre el epitelio ovárico, pudiendo influir en el proceso de carcinogénesis.

2.2.1. Gonadotropinas

Una de las teorías clásicas de la carcinogénesis ovárica, propone que unos niveles elevados de gonadotropinas circulantes estimularían el epitelio ovárico, promoviendo así la transformación neoplásica del mismo (28). Los datos que apoyan esta teoría son contradictorios. Explicaría por qué el embarazo o el uso de ACHO, situaciones en las que existe un bajo nivel de gonadotropinas, se asocian a un riesgo menor de desarrollar CEO. Sin embargo, no explicaría por qué la terapia hormonal sustitutiva (THS), que también se asocia a niveles disminuidos de gonadotropinas, conlleva un mayor riesgo. Si bien se han encontrado receptores para las gonadotropinas en neoplasias ováricas, no se ha podido evidenciar que exista relación entre los niveles circulantes de gonadotropinas y el cáncer (29).

2.2.2. Progestágenos

Ensayos con animales han puesto de manifiesto que los progestágenos tienen un efecto pro-apoptótico sobre el epitelio ovárico, con lo que actuarían como reductores de riesgo de desarrollar cáncer (30, 31). Ello explicaría el efecto protector de los ACHO y el embarazo mediante un doble mecanismo: impidiendo la ovulación y activando la vía de la apoptosis en el epitelio ovárico, eliminando, de esta forma, las células dañadas genéticamente. Entre los datos publicados que avalan este mecanismo protector de los progestágenos figuran:

-Los ACHO que en su formulación presentan progestágenos más potentes confieren mayor protección frente al cáncer de ovario que las formulaciones con progestágenos más débiles (32).

-Las mujeres que han consumido acetato de medroxiprogesterona como anticonceptivo presentan una reducción de riesgo de hasta el 60%, a pesar de que la inhibición de la ovulación no es tan fiable con esta formulación (33).

-En estudios epidemiológicos se ha observado una mayor protección de las gestación gemelar con respecto a la gestación simple, probablemente debido a unos niveles de progestágenos mayores (15).

-Las gestaciones por encima de los 35 años, se asocian a una disminución de riesgo mayor que las que suceden a una edad más joven. El embarazo actuaría eliminando aquellas células premalignas que acumulan defectos genéticos (15, 16).

2.2.3. Estrógenos

Los datos disponibles acerca del impacto que tienen los estrógenos en el desarrollo de CEO provienen de estudios epidemiológicos que evalúan el uso de ACHO y THS en la menopausia.

I. Introducción

Recientemente, un metanálisis de datos individuales de 52 estudios epidemiológicos (34), establece que la THS incrementa el riesgo de CEO de forma significativa. El riesgo es mayor durante el tratamiento con THS (RR 1,43, IC 95% 1,31–1,56; $p < 0.0001$) y va disminuyendo conforme pasa el tiempo tras la interrupción del mismo, aunque en los primeros diez años continúa siendo considerable. No hay diferencia de riesgo entre las formulaciones con estrógenos y las combinaciones con gestágenos ni si la terapia se inició a los 50 años o más tarde. Con respecto al tipo histológico, sólo hubo incremento significativo de los tumores endometrioides (RR 1,42, IC95% 1,20–1,67; $p < 0.0001$) y serosos (RR 1,53, IC 95% 1,40–1,66; $p < 0.0001$).

2.3. Inflamación pélvica

El epitelio ovárico y de las trompas de Falopio están expuestos de forma crónica a un ambiente pro-inflamatorio relacionado con la ovulación y el ciclo menstrual. Citoquinas pro-inflamatorias que están presentes en el fluido ovulatorio y menstrual, se encuentran elevadas también en el carcinoma de ovario. En estudios recientes se ha demostrado que existe una asociación entre los niveles de proteína C reactiva e interleukinas y el riesgo de desarrollar cáncer de ovario (35, 36). El consumo de ACHO que como ya se ha explicado posee un efecto protector, produce una serie de efectos que disminuyen el microambiente pro-inflamatorio a nivel del tracto genital, ya que inhiben la ovulación, disminuyen el riesgo de enfermedad inflamatoria pélvica y revierten la endometriosis (37). El CEO se ha relacionado con estados pro-inflamatorios como la exposición a talco, en la enfermedad inflamatoria pélvica y la endometriosis.

2.3.1. Endometriosis

La endometriosis se ha relacionado con el riesgo de desarrollar CEO con una odds ratio de 2 aproximadamente (38). Aunque el mecanismo subyacente no está claramente establecido, se cree que la inflamación crónica que produce da lugar a la transformación neoplásica de los implantes endometriósicos. Además la endometriosis se asocia a un estado de relativa resistencia a la progesterona, lo que impediría el papel protector de esta hormona (39, 40). Los subtipos histológicos que con mayor frecuencia

se asocian a la endometriosis son el carcinoma de células claras y el carcinoma endometriode (41).

2.3.2. Talco

Diversos estudios de casos y controles muestran que existe una clara asociación entre el uso de polvos de talco y el cáncer de ovario, con un incremento de riesgo del 33%. El talco migraría por el tracto genital hasta el ovario y la cavidad peritoneal, donde actuaría como carcinógeno (42, 43). Sin embargo, hasta la fecha sólo hay publicados dos estudios prospectivos. Uno de ellos evidencia un incremento de riesgo débil del subtipo seroso (44), mientras que el más reciente no encuentra asociación significativa (45).

2.3.3. Enfermedad inflamatoria pélvica (EIP)

La EIP sucede principalmente como consecuencia de enfermedades de transmisión sexual y se caracteriza por un proceso inflamatorio que afecta a útero, trompas y ovarios. En estudios epidemiológicos de casos y controles, se sugiere que existe un incremento de riesgo en aquellas mujeres que han padecido EIP con un RR que oscila entre 1,92-2,46, aumentando conforme aumenta el número de episodios inflamatorios (46). Existe un incremento del riesgo en las mujeres que presentan EIP a edades más jóvenes y que además son estériles.

2.4. Obesidad

La obesidad conlleva un incremento en la secreción adrenal de andrógenos, y un aumento en la conversión de éstos en estrógenos endógenos. Es un factor de riesgo claro para el desarrollo de ciertos tumores en mujeres postmenopáusicas, como el cáncer de mama y el cáncer de endometrio (47). En el caso del CEO, esta relación es menos clara. Si bien parece existir asociación, la magnitud del efecto es moderada (OR 1,3; IC 95% 1,1-1,5) (48). Un análisis de datos procedentes de 12 estudios de cohortes publicado en 2008, concluye que la obesidad supone un factor de riesgo únicamente en mujeres premenopáusicas (49). Un metanálisis reciente encuentra un incremento de riesgo

I. Introducción

únicamente en las mujeres que no han seguido THS (50). En éstas, un incremento en el índice de masa corporal de $5\text{kg}/\text{m}^2$ se asocia a un aumento de riesgo de desarrollar cáncer de ovario del 10%. En cuanto al subtipo histológico, se ha descrito asociación entre obesidad y carcinomas invasivos de histología no serosa y carcinomas serosos de bajo grado, pero no parece haber relación con los serosos de alto grado (51).

2.5. Dieta

Numerosos trabajos han intentado identificar alimentos que puedan influir en el riesgo de desarrollar CEO, aunque hasta ahora los resultados no son concluyentes y no se ha identificado ningún macro o micronutriente que claramente influya en su desarrollo (13).

La influencia del consumo de alcohol también ha sido objeto de diversos estudios epidemiológicos. Un metanálisis que incluye los datos de 13 estudios prospectivos concluye que el alcohol no se asocia a un incremento del riesgo de padecer CEO (52).

2.6. Ejercicio físico

Hasta la fecha se han publicado 24 estudios epidemiológicos que intentan esclarecer el papel del ejercicio físico en el riesgo de desarrollar CEO con resultados poco consistentes (53). Si bien los estudios de casos y controles sugieren una disminución de entre el 30 y el 60% asociado a la práctica de ejercicio físico leve-moderado, entre los estudios de cohortes no se ha hallado una relación clara entre ambos. En la actualidad no existe evidencia científica que muestre una relación causal entre el CEO y la práctica de ejercicio.

2.7. Tabaco

Múltiples trabajos sugieren que el tabaco incrementa el riesgo de CEO (54-56). La asociación más fuerte parece ser con los carcinomas mucinosos de ovario, mientras que con otros tipos histológicos la relación no está clara. En un ensayo reciente que

incluye los datos de 21 estudios de casos y controles (57), se evidencia asociación entre el consumo actual de tabaco con los carcinomas mucinosos borderline e invasivos, mientras que las exfumadoras presentan un riesgo incrementado de desarrollar tumores serosos borderline. Para estos subtipos se observó una clara asociación dosis-respuesta. No se ha observado una relación convincente con los subtipos endometriode y seroso invasivo.

2.8. Historia familiar

Uno de los factores de riesgo más significativos y mejor estudiados es la presencia de historia familiar de cáncer de ovario, particularmente en familiares de primer grado (58). El riesgo de desarrollar CEO en familiares de primer y segundo grado de una mujer afectada se incrementa 3,6 y 2,9 veces respectivamente, con respecto a mujeres sin historia familiar (59). La presencia familiar de otros tipos de cáncer también se ha asociado a un incremento del riesgo de cáncer de ovario. En concreto, la presencia de cáncer de mama, colon y próstata en familiares de primer grado aumenta de forma significativa el riesgo de cáncer de ovario no mucinoso (60). Esta agregación familiar se relaciona en muchos casos con la presencia de mutaciones germinales patogénicas hereditarias en genes asociados a diferentes tipos de cáncer. En el caso del CEO, se estima que aproximadamente un 15-20% de los casos son de origen familiar, la mayoría de ellos vinculados a mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2. Otros genes involucrados son los responsables del síndrome de Lynch y los relacionados con la vía de la RH (61).

3. Factores pronósticos del cáncer de ovario.

Al igual que en otras neoplasias, en el CEO se han identificado diferentes factores pronósticos que predicen su evolución y nos permiten definir la mejor estrategia de tratamiento para cada paciente. El principal factor pronóstico es el estadio quirúrgico de la FIGO al diagnóstico. La probabilidad de supervivencia a los 5 años se sitúa por encima del 80% en pacientes con estadio I, en un 65-70% para el estadio II,

I. Introducción

desciende hasta el 30-45% en el estadio III y estaría por debajo del 20% para el estadio IV (62).

3.1. Factores pronósticos en estadios precoces

A pesar del buen pronóstico general de los estadios tempranos, el riesgo de recaída varía entre un 15 y un 40% según las series, de ahí la importancia de identificar aquellas pacientes de mayor riesgo que podrían beneficiarse de tratamiento adyuvante a la cirugía (63-65).

El **grado histológico** es probablemente el principal factor pronóstico en estadios I-II FIGO (66, 67). En el estudio con mayor número de pacientes, más de 1500, los tumores pobremente diferenciados se asociaron a un mayor riesgo de recaída con respecto a los moderadamente diferenciados y los bien diferenciados (HR 3,39; IC95% 1,68-5,85, y HR 8.89; IC 95% 4,96-15,9, respectivamente) (67).

La **ruptura de la cápsula ovárica** es un factor pronóstico tanto si se produce antes de la cirugía (HR 2,65; IC 95% 1,53-4,56), como durante la cirugía (1,64; IC 95% 1,07-2,51) (67).

El **subestadio FIGO** también se relaciona con el pronóstico, de forma que la probabilidad de sufrir una recaída aumenta de forma progresiva en los estadios IB, IC y IIA con respecto al estadio IA (64, 67, 68).

Diferentes trabajos han señalado el papel de **la edad** como factor pronóstico (64, 67, 68). Un incremento en la edad se relaciona de forma constante con una peor supervivencia. Una menor edad se asocia a una respuesta inmune más potente capaz de actuar frente a las células tumorales, limitando así su potencial para metastatizar (69, 70).

Entre otros factores asociados a un peor pronóstico se encuentran la histología de células claras, la presencia de adherencias, una citología positiva para células tumorales y un nivel elevado de Ca 125 prequirúrgico (Ca125 >30 U/ml) (66, 68, 71).

3.2. Factores pronósticos en estadios avanzados

Los principales factores pronósticos en estadios avanzados son el estadio FIGO al diagnóstico y el volumen de enfermedad residual tras cirugía.

El **estadio tumoral** está directamente relacionado con la supervivencia global (SG) a 5 años. Esta varía entre el 67% en el estadio IIB y el 18% en el estadio IV (62).

La **enfermedad residual tras la cirugía** es el principal factor de riesgo modificable del cáncer de ovario avanzado. La presencia de residuo macroscópico >10 mm tras el acto quirúrgico se asocia a una disminución significativa de la supervivencia libre de progresión (SLP) y SG con respecto a la citorreducción sin residuo macroscópico (HR de 2,03; IC 95% 1,81, 2,27 para la SLP y 2,12; IC 95% 1,85-2,43 para la SG, $p < 0,0001$) (72). Por tanto, el objetivo del tratamiento quirúrgico, además de realizar un correcto estadiaje debe ser conseguir una citorreducción completa sin residuo tumoral macroscópico (73).

Tanto el **grado histológico** alto como el **subtipo histológico** no seroso (carcinomas de células claras, mucinoso e indiferenciado) se han asociado a mayor riesgo de recaída y peor supervivencia a 5 años (72, 74, 75). En la última clasificación de la FIGO de 2014, se ha eliminado el sistema continuo de gradación histológica en los carcinomas serosos (grados 1-3), y se ha sustituido por un sistema binario (alto y bajo grado), más acorde con la nueva clasificación molecular. En este nuevo sistema, en los carcinomas considerados moderadamente diferenciados se debe realizar una tinción inmunohistoquímica (IHQ) de p53. Si es negativa se reclasifica como bajo grado y si es positiva se clasifica como alto grado (76).

La **edad** es un importante factor pronóstico tanto en términos de SLP como de SG. La SG a los 5 años se sitúa por debajo del 50% en pacientes mayores de 60 años, y desciende al 33% con más de 70 años (62).

La **situación basal** medida mediante la escala ECOG (**anexo I**), es un factor pronóstico independiente de SG. Las pacientes que parten de una buena situación

I. Introducción

funcional al diagnóstico, toleran mejor todas las modalidades de tratamiento, tanto cirugía como quimioterapia (74, 77).

Los **niveles de Ca125** tras el tratamiento con quimioterapia se relacionan con la respuesta al tratamiento y la supervivencia. Un trabajo reciente señala que niveles de Ca125 ≤ 35 U/mL tras el primer ciclo de quimioterapia y la normalización de los niveles de Ca 125 durante los tres primeros ciclos de tratamiento son factores pronósticos independientes tanto de SLP como de SG (78).

En las últimas décadas se ha profundizado en el conocimiento de las vías moleculares implicadas en los fenómenos de proliferación celular, diseminación, apoptosis y quimiorresistencia. Ello ha permitido estudiar el papel de distintos **marcadores moleculares** en el pronóstico y la respuesta al tratamiento del cáncer de ovario. La dificultad de uso, así como la inconsistencia de resultados no ha permitido introducirlos en la práctica clínica habitual. Los más estudiados han sido p53, EGFR y Her2 neu. Un metanálisis establece que la positividad de estos marcadores mediante técnicas IHQ se relaciona sólo de forma modesta con la supervivencia (79). Por otro lado, cada vez cobra más importancia la relación existente entre el sistema inmunológico y la carcinogénesis. En este ámbito se ha descrito que la presencia de infiltrados de linfocitos T CD4 y CD8 peritumorales se relaciona con una mayor supervivencia (80).

La presencia de **mutaciones germinales en BRCA1 y BRCA2** se ha relacionado en diversos trabajos con un mejor pronóstico tanto en SLP como en SG, probablemente en relación con una mayor sensibilidad a quimioterapia basada en platino (81).

4. Cáncer de ovario hereditario

Al igual que ocurre con el cáncer de mama, la arquitectura genética subyacente al cáncer de ovario hereditario se suele dividir en tres componentes principales:

variantes génicas muy raras en la población general pero asociadas a un riesgo muy elevado de desarrollar cáncer, variantes génicas comunes en la población asociadas a incrementos muy modestos en el riesgo y variantes genéticas relativamente raras de riesgo intermedio (**Figura I.3.**).

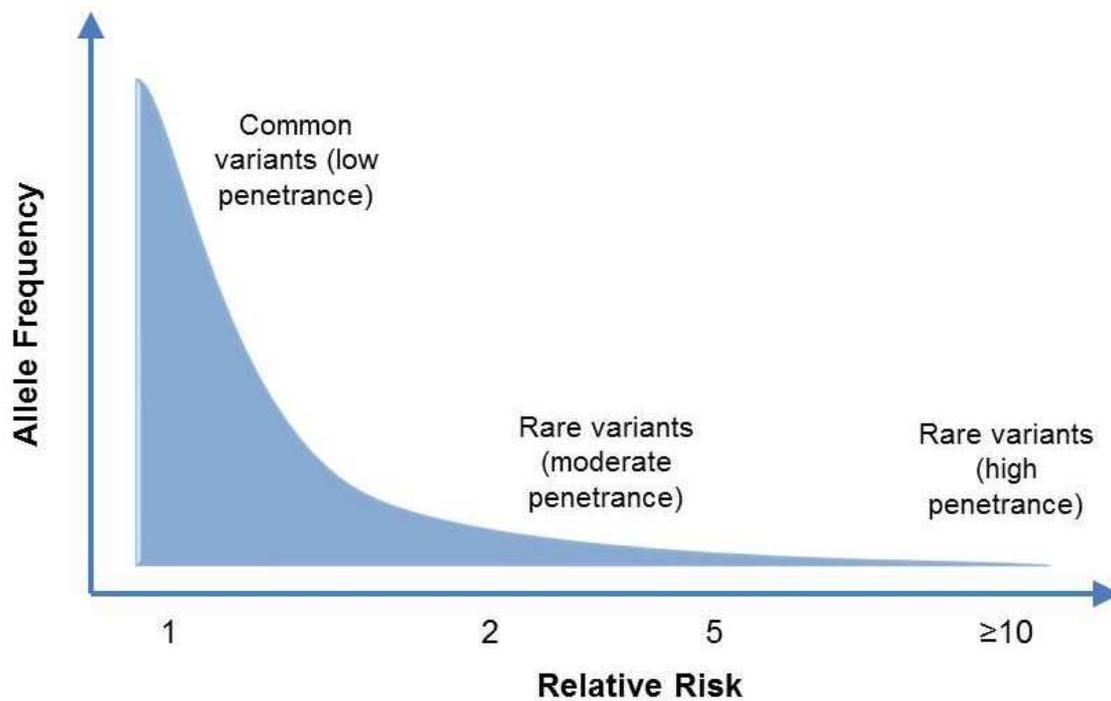


Figura I.3. Arquitectura genética del riesgo de cáncer. El gráfico representa la existencia de variantes genéticas muy frecuentes asociadas a un riesgo relativo bajo de cáncer (como polimorfismos de nucleótidos aislados), variantes de riesgo intermedio y variantes asociadas a un elevado riesgo relativo, muy infrecuentes en la población, como las mutaciones en BRCA1, BRCA2 o las responsables del síndrome de Lynch. Tomado de Andrews et al. 2017 (82).

Se estima que cerca del 20% de mujeres diagnosticadas de CEO son portadoras de mutaciones germinales patogénicas (83). Las mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 son responsables de aproximadamente un 15% de los casos mientras que en el 0,5-2% se encuentran alteraciones en genes relacionados con el síndrome de Lynch (84, 85). En los últimos años se ha descrito que mutaciones en genes implicados en la vía de la RH, considerados hasta la fecha genes de predisposición al cáncer de mama, también confieren un mayor riesgo de desarrollar cáncer de ovario. (**Figura I.4.**).

I. Introducción

A continuación describimos los principales síndromes hereditarios de predisposición al cáncer de ovario.

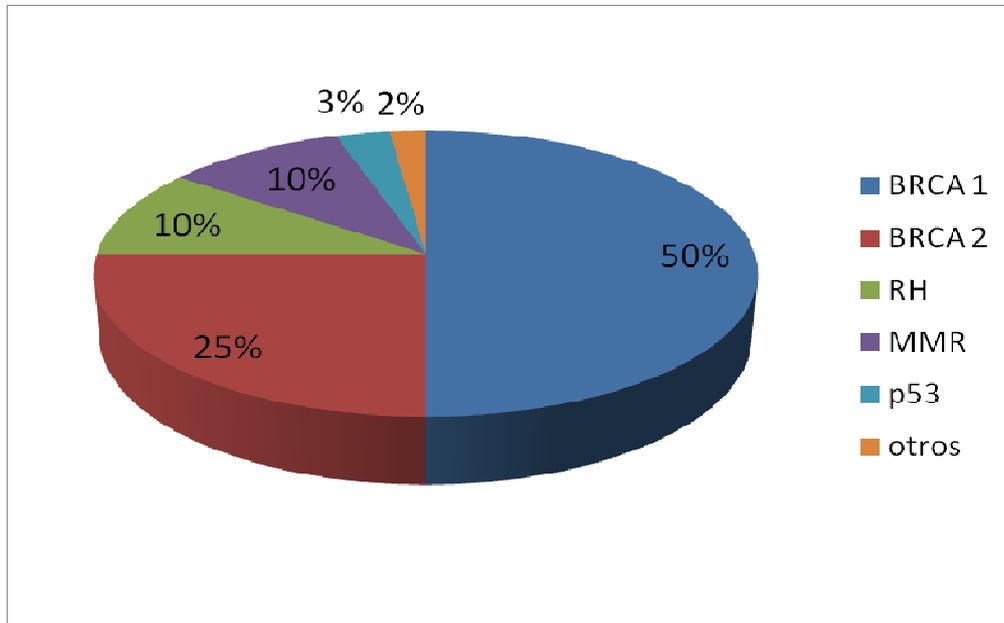


Figura I.4. Genes implicados en el cáncer de ovario hereditario y su prevalencia.

Tomado de Toss et al. 2015(86)

4.1. Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (SCMOH) asociado a BRCA1 y BRCA2.

Las mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 explican entre un 65-85% de los casos de cáncer de ovario hereditario. Estos genes siguen un modelo de herencia autosómico dominante de alta penetrancia, e intervienen en el proceso de RH.

4.1.1. La recombinación homóloga

El reconocimiento y subsiguiente reparación del daño en el ADN es esencial para el normal funcionamiento celular y el mantenimiento de la estabilidad genómica. En humanos, los defectos heredados o adquiridos en los mecanismos de reparación de ADN dan lugar a un riesgo incrementado de desarrollar cáncer a lo largo de la vida. Hasta la fecha se han descrito más de 450 genes implicados en la identificación y

reparación del daño al ADN, y estos se agrupan, según su función, en seis vías distintas (87) (**Tabla I.2.**).

Tipo de daño en ADN	Agente causante	Vía de reparación
Rotura enlace fosfodiéster Alquilación de bases	Agentes alquilantes	Reparación directa (RD)
Uniones intracadena	Radiación ultravioleta Hidrocarburos policíclicos	Reparación por escisión de nucleótidos NER <i>(nucleotide excision repair)</i>
Oxidación y alquilación de bases Rotura de cadena sencilla	Radicales libres de oxígeno Agentes alquilantes Radiación ionizante	Reparación por escisión de bases BER <i>(base excision repair)</i>
Rotura de doble cadena	Radiación ionizante Quimioterapia	Recombinación homóloga RH Unión de extremos de ADN no homólogos NHEJ <i>(non homologous end joining)</i>
Errores de emparejamiento (inserciones/delecciones, errores base-base)	Errores en el proceso de replicación	Vía de reparación de los errores de emparejamiento, MMR <i>(mismatch repair)</i>

Tabla I.2. Vías de reparación de ADN en humanos

Las roturas de doble cadena (DSBs, *double-strand breaks*) son la forma más letal de lesión en el ADN y aparecen con una frecuencia elevada. Pueden generarse por radiaciones ionizantes, quimioterapia (inhibidores de la topoisomerasa y agentes radiomiméticos), así como por la detención y colapso de la horquilla de replicación. Una única DSB puede ser suficiente para activar la apoptosis y una reparación errónea de la misma puede iniciar un proceso de carcinogénesis. Por ello los mecanismos de reparación de las DSBs son cruciales para la supervivencia celular, la proliferación y la estabilidad genómica.

Existen dos mecanismos de reparación de las DSBs: la RH y la unión de extremos no homólogos (NHEJ, *non homologous end joining*). La RH es un sistema de alta fidelidad que utiliza la cromátida hermana intacta como molde para la reparación y predomina en la fase S tardía y G2 del ciclo celular. La NHEJ por el contrario es un sistema menos fiable, propenso a errores, ya que liga los extremos de ADN sin

I. Introducción

necesidad de un molde homólogo. Se cree que está activa durante todo el ciclo celular, predominando en las fases G0/G1.

El proceso de RH consta de cinco pasos principales (**Figura I.5.**):

1) **Reconocimiento de la DSB:** Las proteínas quinasas ATM y ATR reconocen la DSB y fosforilan las proteínas CHEK2, P53, BRCA1 y H2AX, necesarias para poner en marcha el proceso. BRCA1, asistido por BARD1 y BRIP1 actúa como mediador que organiza y dirige el resto de proteínas hasta el lugar de la reparación.

2) **Preparación de los extremos 3':** El complejo MRN, formado por MRE11, RAD50 y NSB1, con actividad exonucleasa 5'-3', procesa los extremos de ADN roto, extrayendo los extremos 5', hasta producir dos extremos 3' en forma de ADN monocatenario (DNAss, *DNA single strand*). Estos extremos se unen a la proteína de replicación A (RPA).

3) **Reclutamiento de RAD51:** BRCA2 mediante su unión con PALB2 recluta a RAD51 hacia el extremo 3' del complejo DNAss-RPA, asistido por RAD51B, RAD51C y RAD51D. La unión de RAD51 con el extremo DNAss-RPA forma una estructura llamada nucleofilamento.

4) **Invasión de cadena de ADN homóloga.** Una vez se ha formado el nucleofilamento tiene lugar la reacción central de la RH: la invasión de la cromátida homóloga que sirve como molde.

5) **Síntesis de ADN y reparación:** Una vez el nucleofilamento ha invadido el dúplex homólogo, se lleva a cabo la síntesis de ADN mediante la ADN polimerasa. Posteriormente las ligasas y helicasas finalizan el proceso, con el resultado de dos moléculas de doble cadena de ADN intactas.

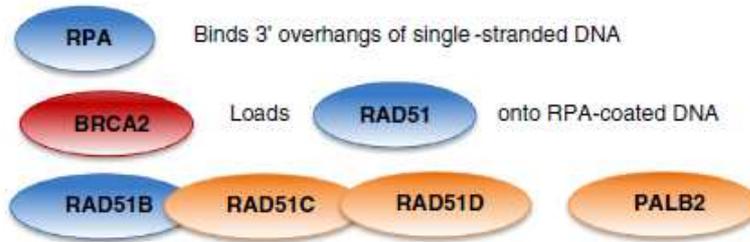
A. Double-strand DNA break – recognition and assembly of repair proteins



B. End Resection



C. RAD51 loading



D. Strand Invasion – RAD51 nucleoprotein filament invades homologous DNA



E. DNA Synthesis and Repair

Figura I.5. Fases del proceso 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 de la proteína RPA al fragmento 3' de cadena sencilla. Reclutamiento de RAD51 por BRCA2, asistido por PALB2. **D:** Invasión de la cromátida homóloga de ADN por el nucleofilamento-RAD51. **E:** Síntesis y reparación de ADN. Tomado de Walsh, 2015 (88).

Son varios los genes implicados en la RH que se han relacionado con el cáncer de mama y ovario. En concreto, hasta un 50% de los carcinomas de ovario serosos de alto grado muestran alteraciones germinales o somáticas en genes implicados en la vía

I. Introducción

de la RH (5). Las mutaciones germinales en BRCA1 y BRCA2 son las alteraciones más frecuentes, presentes en un 15% de los CEO.

4.1.2. Estructura y función de BRCA1

BRCA1 es un gen de gran tamaño localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21). Consta de 24 exones, de los cuales dos no se traducen, y se transcribe en numerosos tejidos, entre ellos la mama y el ovario (**Figura I.6.**).

La proteína BRCA1 contiene en su extremo amino-terminal un dominio RING de unión al cinc muy conservado filogenéticamente. Esta región se une a la proteína BARD1 (*BRCA1 associated ring domain 1*), formando un heterodímero con propiedades E3 ubiquitina ligasa. En su extremo carboxílico terminal posee dos copias repetidas en tándem del dominio BRCT (*BRCA C terminus*), con capacidad de unión a fosfopéptidos como la ADN helicasa BACH1 (esencial para el funcionamiento correcto 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, contiene el 65% de aminoácidos de la proteína. En ella se encuentran dos señales de localización nuclear (NLS) y un grupo SQ (serina/glutamina), que son lugares preferentes de fosforilación mediada por ATM. Esta región interacciona con diferentes proteínas importantes en diversos procesos celulares como RAD50, RAD51, Rb y C-MYC (89).

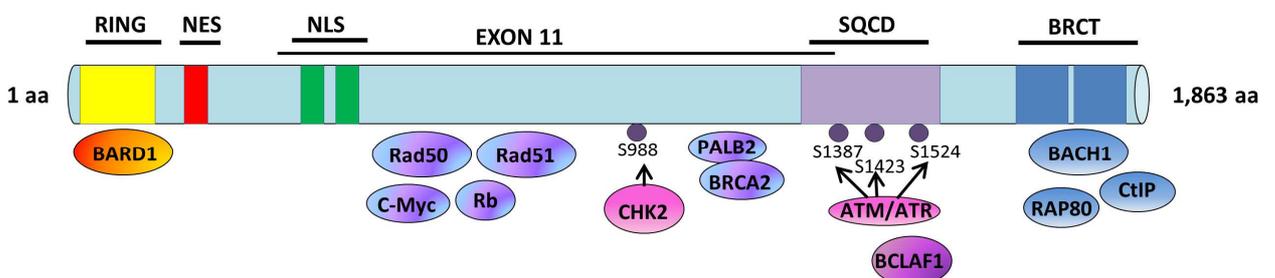


Figura I.6. Estructura de la proteína BRCA1 y proteínas con las que interacciona. Tomado de Orr et al, 2015. (89)

BRCA1 actúa como una proteína central que coordina diversas vías celulares para mantener la estabilidad genómica. Esta labor la lleva a cabo por medio de su intervención directa en el proceso de RH, además de participar en la regulación del ciclo celular, de la transcripción, la remodelación de la cromatina y ubiquitinación de proteínas (90) (**Figura I.7.**).

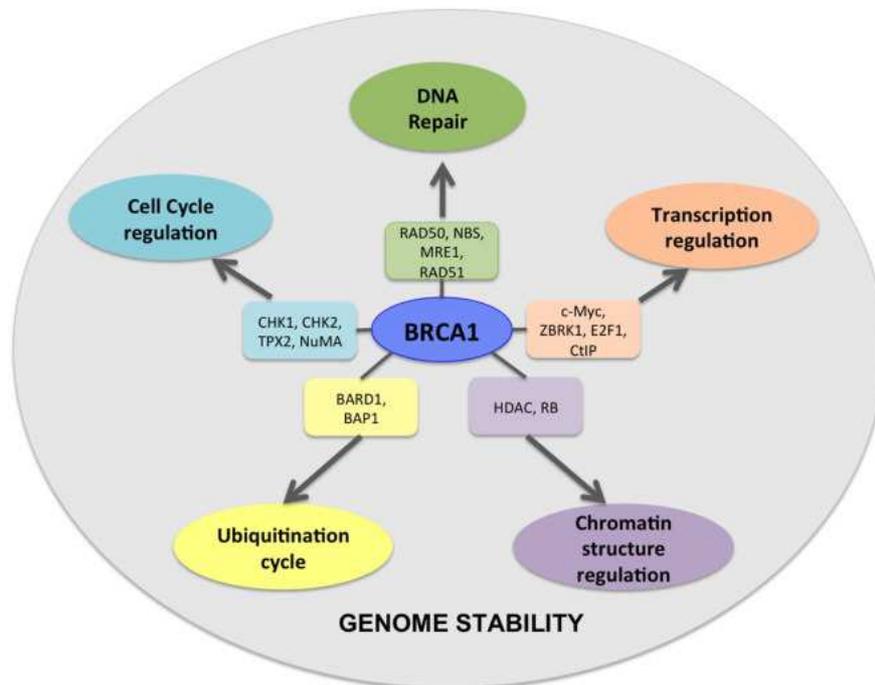


Figura I.7. BRCA1 actúa como núcleo central interconectando diferentes vías celulares. Mediante su interacción con numerosas proteínas mediadoras en estas vías, contribuye a mantener la estabilidad celular y genómica. Tomado de Mylavarapu et al, 2018 (91).

4.1.3. Estructura y función de BRCA2

El gen BRCA2 se localiza en el cromosoma 13 (13q12), consta de 27 exones, el primero de los cuales no se traduce (**Figura I.8.**).

La proteína BRCA2 contiene en su extremo amino terminal un dominio RING que interacciona con PALB2, una zona central que contiene ocho copias de una secuencia de 70 aminoácidos, conocidas como repeticiones BRC, que intervienen en la interacción con la proteína RAD51 y un extremo carboxílico terminal que alberga una

I. Introducción

región DBD (*DNA binding domain*) con capacidad de unión al ADN monocatenario (ssDNA) y ADN bicatenario (dsDNA, *double-strand DNA*). En el extremo carboxílico terminal se encuentran además, dos señales de localización nuclear así como una segunda región de unión a RAD51(89).

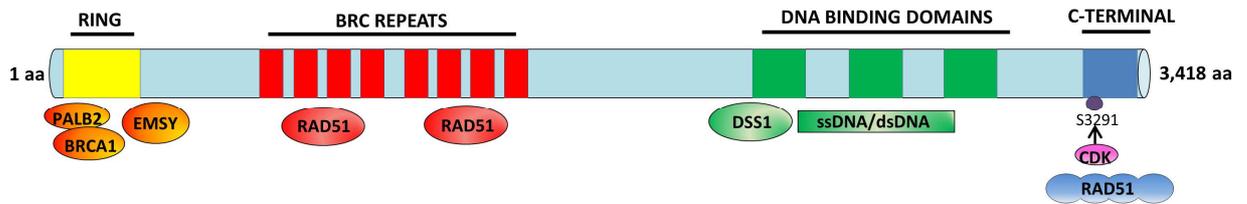


Figura I.8. Estructura de la proteína BRCA2 y principales proteínas con las que interacciona. Tomado de Orr et al, 2015 (89).

BRCA2 juega un papel fundamental en el proceso de RH. Se encarga de transportar RAD51 a los focos de lesión de ADN en el núcleo, ya que esta proteína carece de señales propias de localización nuclear.

4.1.4. Tipos de mutaciones en BRCA1 y BRCA2

Se han identificado más de dos mil mutaciones distintas a lo largo de la secuencia de los genes BRCA1 y BRCA2. De éstas, la mayoría dan lugar a codones de parada prematuros y por tanto a proteínas truncadas disfuncionales. En la mayor parte de las ocasiones el codón de parada se produce bien por pequeñas inserciones o deleciones que provocan un cambio en el marco de lectura (mutaciones *frameshift*), o bien por sustituciones de bases (mutaciones *nonsense*). El resto de mutaciones patogénicas corresponden a variantes localizadas en los lugares de corte y empalme de exones que alteran el proceso de eliminación de intrones (*splicing*) o grandes reordenamientos (LRG *large rearrangement*). Los LRG son más frecuentes en BRCA 1 que en BRCA2 (14% vs 2,6%), aunque la prevalencia de éstos varía en las diferentes poblaciones (92, 93). Aproximadamente un 30% de las variantes se deben a sustituciones de bases que originan un codón que codifica otro aminoácido diferente (mutaciones *missense*). Este tipo de mutaciones requiere estudios de funcionalidad de la proteína para poder averiguar si son patogénicas. Mientras éstos no se llevan a cabo, la

mayoría de ellas son consideradas variantes de significado desconocido (VUS, *variants of uncertain significance*). La proporción de VUS en BRCA1/2 en Europa se sitúa en torno al 15-20%, aunque este porcentaje disminuye en poblaciones bien caracterizadas (94).

La localización de la mutación genética se ha asociado con diferencias en el riesgo de desarrollar cáncer de mama y 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, denominadas BCCR y OCCR (*Breast Cancer Cluster Region* y *Ovarian Cancer Cluster Region*). Las mutaciones localizadas en la porción central del exón 11 tanto en BRCA1 como en BRCA2 se asocian a un aumento relativo en el riesgo de cáncer de ovario con respecto al cáncer de mama. En BRCA2 esta zona coincide con la repetición de los dominios BRC. En este gen recientemente se ha descrito además, una segunda OCCR situada en el extremo 3' del exón 11. Al menos tres regiones BCCR se han descrito en BRCA1 y BRCA2 situadas en las regiones extremas de ambos genes (**Figura I.9.**) (95).

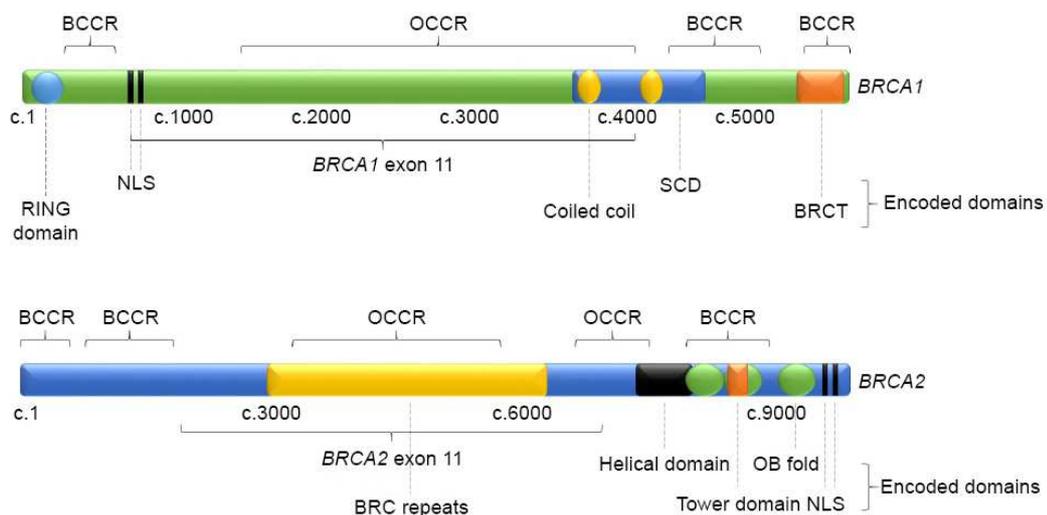


Figura I.9. Estructura de BRCA1 y BRCA2 y localización de las regiones OCCR y BCCR (OCCR: Ovarian Cancer Cluster Region; BCCR: Breast Cancer Cluster Region). Tomado de Hollis et al, 2017. (96)

I. Introducción

En la población general, se estima que 1 de cada 300 u 800 individuos es portador de una mutación en BRCA1 o BRCA2, aunque la frecuencia exacta varía en las diferentes poblaciones (97). Las mutaciones fundadoras son aquellas que ocurren de forma reiterada en una determinada población. Aparecen cuando una comunidad concreta ha estado genéticamente aislada por motivos geográficos o religiosos durante varias generaciones. Tras generaciones sucesivas con un cierto grado de endogamia, aumentan su presencia en la población, pasando a ser altamente recurrentes o incluso características de un grupo étnico particular y asociadas a zonas geográficas más o menos definidas. Un ejemplo de mutaciones fundadoras está presente en los judíos de origen ashkenazi (del este de Europa). Aproximadamente un 2% de los individuos de esta población son portadores de una de las tres variantes en BRCA: c.68_69delAG y 5266dupC en BRCA1 y c.5946delT en BRCA2 (98).

En la población española, las variantes patogénicas recurrentes suponen un 30-40% de todas las mutaciones identificadas, siendo las más frecuentes c.68_69delAG (relacionada con la presencia histórica de judíos en la península Ibérica), c.124delA y c.211A>G en BRCA1, así como c.2808_2811del y c.9026_9030delATCAT en BRCA2 (99).

4.1.5. Penetrancia de las mutaciones de BRCA1 y BRCA2

Las portadoras de mutaciones en BRCA1/2 tienen un riesgo acumulado de cáncer de mama a los 70 años del 57% (IC 95% 47-66) para BRCA1 y del 49% (IC 95% 40-57%) para BRCA2. El riesgo acumulado para cáncer de ovario es de 40% (IC 95% 35-46) para BRCA1 y 18% (IC 95% 13-23) para BRCA2 (100, 101). La edad media de presentación del cáncer de ovario se sitúa en 50 años para portadoras de mutación BRCA1 y 60 años para BRCA2 (102).

El riesgo de CEO en portadoras de mutación en BRCA1/BRCA2 es del 3% a los 40 años pero se incrementa hasta el 10% a los 50 años (101) (**Figura I.10.**). En mujeres diagnosticadas de cáncer de mama el riesgo de desarrollar cáncer de ovario a los 10 años es del 12,7% en portadoras de BRCA1 y de 6,8% en portadoras de mutaciones en

BRCA2 (103). Las variaciones en la penetrancia se deben a la presencia de modificadores de riesgo que pueden ser de tipo endógeno o ambiental (factores reproductivos, estilo de vida) y genético (presencia de polimorfismos de bajo riesgo y genes modificadores de riesgo) (104).

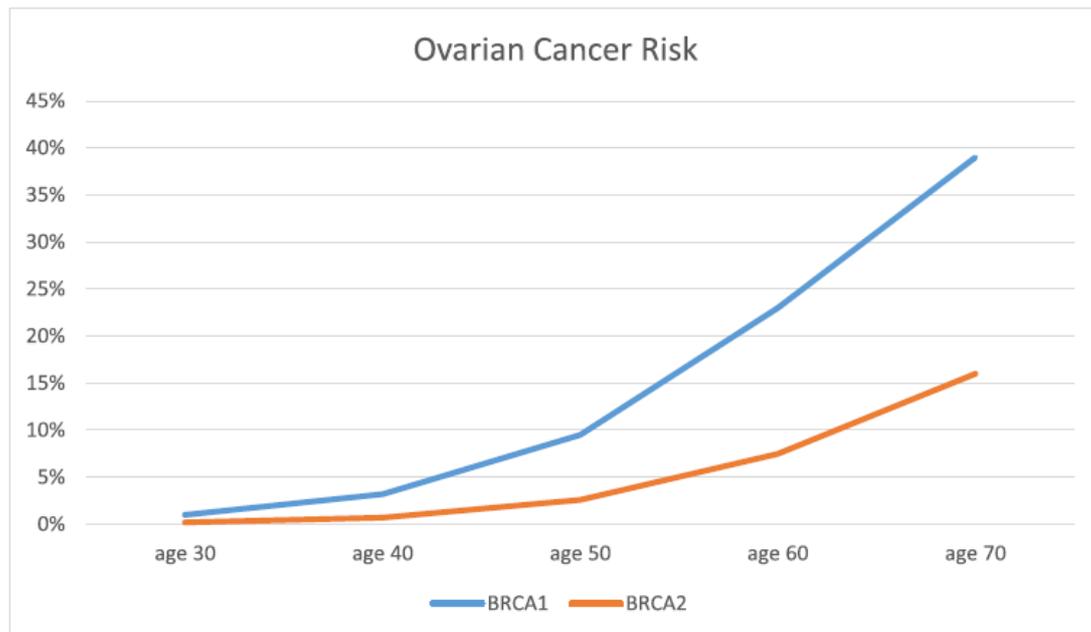


Figura I.10. Riesgo acumulado de cáncer de ovario en mujeres portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2. Tomado de Chen et al, 2017(101)

La presencia de mutaciones en genes BRCA1/2 también se ha asociado a un incremento de riesgo de padecer otras neoplasias. El riesgo acumulado a los 70 años de cáncer de mama en el varón es de 1,2% para BRCA1 y de un 7% para BRCA2 (105). Mutaciones en BRCA1 se asocian a un mayor riesgo relativo de cáncer de páncreas (RR 2,3), cáncer de cuerpo uterino (RR 2,6) y cervix (RR 3,7) (106). Las mutaciones en BRCA2 se asocian a un incremento del riesgo relativo de cáncer de próstata (RR 4,6), que se puede presentar a edades más jóvenes que en la población general, cáncer de páncreas (RR 3,5), vesícula biliar y vías biliares (RR 5), gástrico (RR 2,6) y melanoma (RR 2,6) (107).

4.2. Genes de la recombinación homóloga asociados al cáncer de ovario

Existe un grupo de familias no portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 que presentan un fenotipo compatible con SCMOH. El conocimiento de las vías de reparación de ADN, en concreto de la RH y la vía de la anemia de Fanconi (AF), ha permitido identificar una serie de genes que confieren un incremento de riesgo de desarrollar CEO. Aunque la frecuencia real de las mutaciones germinales en estos genes se desconoce, los últimos trabajos estiman que pueden estar asociadas a un 7% de los casos (83, 85).

A continuación se describen los principales genes relacionados con un aumento de riesgo en el CEO.

4.2.1. Genes relacionados con la vía de la Anemia de Fanconi

La AF es una enfermedad de herencia autosómico recesiva, que se caracteriza por inestabilidad cromosómica, aplasia medular, malformaciones congénitas, elevada susceptibilidad para el desarrollo de neoplasias sólidas y hematológicas e hipersensibilidad a agentes que producen enlaces cruzados de ADN (ICLs; *interstrand crossed links*) como el cisplatino y otros alquilantes (108). Se han descrito 16 genes implicados en el desarrollo de la AF. Las proteínas codificadas por estos genes intervienen en un sistema de reparación de ADN que incluye la vía de la RH.

La vía de la AF se activa cuando la horquilla de replicación de ADN se detiene al encontrar un ICL en la fase S del ciclo celular. El evento central de esta vía es la monoubiquitización de dos proteínas, FANCD2 y FANCI, mediada por el “*Fanconi Anemia core complex*” formado por la unión de 8 subunidades, con actividad ubiquitina ligasa. Posteriormente FANCD2 recluta las nucleasas que producen una ruptura de la cadena de ADN a cada lado del ICL. Por último intervienen las enzimas de la vía de la RH que proceden a la reparación de la doble cadena de ADN (**Figura I.11.**) (109).

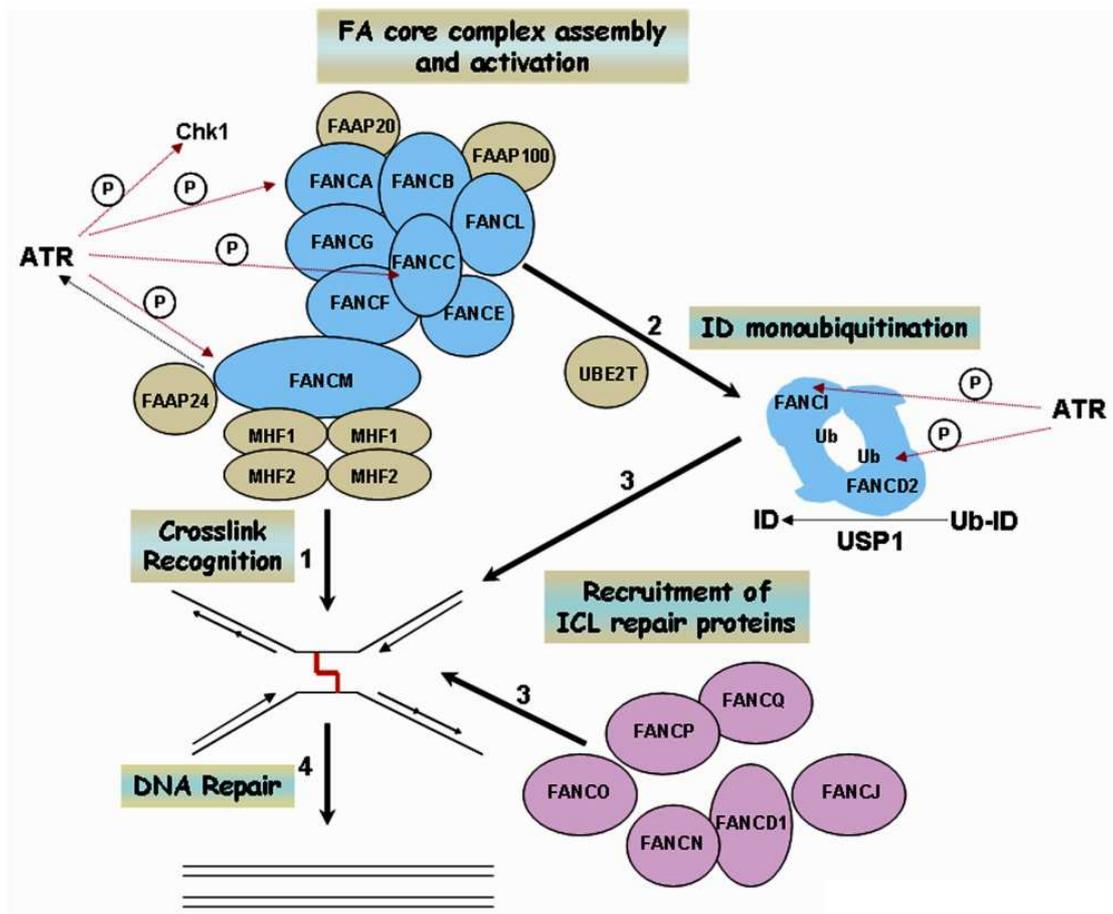


Figura I.11. Vía de la Anemia de Fanconi. En azul las proteínas que forman el FA core complex. En rosa las proteínas que forman parte de la vía de la RH. **1.** Reconocimiento del ICL. **2.** Se produce la monoubiquitización de FANCI and FANCD2 por el FA core complex. **3.** Reclutamiento de las proteínas que repararán el ICL. **4.** Reparación de ADN mediante la RH. Tomado de Krishnan et al. 2015 (110)

Desde el descubrimiento de que uno de los genes implicados en la AF, FANCD1, es el gen de susceptibilidad al cáncer de mama y ovario BRCA2, son varios los genes adicionales de la vía AF-BRCA que se han relacionado con un incremento del riesgo de padecer cáncer de mama (**Figura I.12.**) (111, 112). Aunque inicialmente se pensaba que estos genes sólo contribuían al desarrollo de cáncer de mama, trabajos más recientes han demostrado que también se asocian al cáncer de ovario (83, 85). A continuación se describen los principales genes de la vía AF-BRCA relacionados con el CEO.

I. Introducción

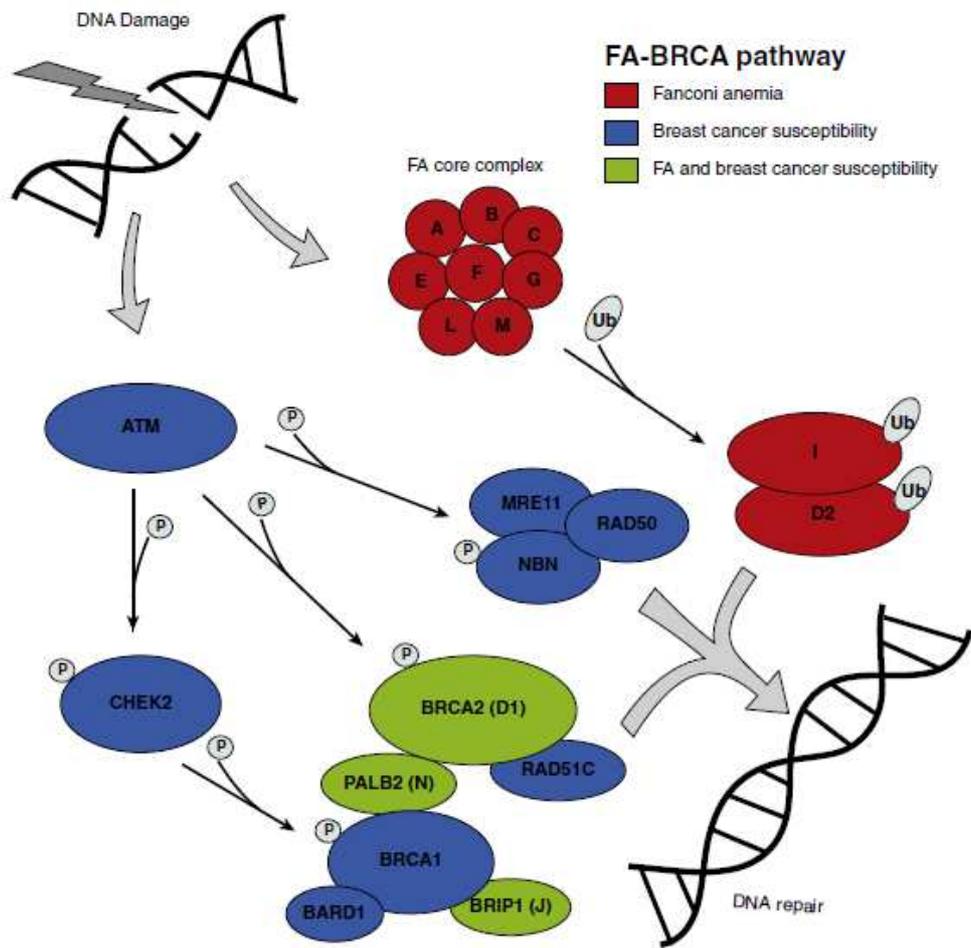


Figura I.12. Esquema de la vía de la Anemia de Fanconi-BRCA. En azul los genes relacionados con un aumento del riesgo de cáncer de mama. Tomado de Pennington et al. 2012 (61).

4.2.1.1. PALB2

PALB2 (*P*artner and *L*ocalizer of *BRCA2*) es un gen de la vía de la AF (*FANCN*), con capacidad de unión tanto a BRCA1 como a BRCA2, implicado en el proceso de RH. Su principal función es la de estabilizar BRCA2 en el núcleo permitiendo así el reclutamiento de RAD51 (113). Inicialmente se describieron mutaciones en este gen en familias con fenotipo similar al de portadoras en mutaciones de BRCA2, con presencia de cáncer de mama, ovario y páncreas (114, 115). Estudios recientes han estimado que mutaciones en este gen se asocian a un riesgo entre 8 y 9 veces mayor de desarrollar cáncer de mama con respecto a la población general. Este incremento de riesgo es más marcado en mujeres jóvenes con <40 años y va

disminuyendo conforme aumenta la edad. También se ha asociado a un riesgo hasta 8 veces mayor de desarrollar cáncer de mama en el varón (116).

En cuanto a su papel en el cáncer de ovario, pequeños estudios en población diagnosticada de CEO, estiman una frecuencia alrededor del 2% de portadoras de mutaciones en PALB2 (85, 117, 118). Un estudio reciente de casos y controles confirma que existe una asociación significativa entre la presencia de mutaciones en PALB2 y el cáncer de ovario, con un incremento de riesgo de entre 4 y 5 veces con respecto a la población control (OR: 4,4; $p < 0,001$) (83).

4.2.1.2. BRIP1

BRIP1 (*BRCA Interacting Protein 1*) codifica una ADN helicasa que interacciona con el dominio BRCT del gen BRCA1 y es fundamental en el proceso de RH (119). Mutaciones bialélicas de BRIP 1 producen AF (*FANCF*).

La asociación de BRIP1 con el cáncer de ovario, fue descrita tras el hallazgo de una mutación frameshift que producía una proteína truncada, en mujeres islandesas diagnosticadas de CEO. Además de asociarse a un mayor riesgo de CEO (OR: 8,13), la presencia de esta mutación suponía una disminución de la esperanza de vida de 3,6 años. En población española se describió otra mutación frameshift asociada tanto a un incremento de riesgo de cáncer de ovario (OR: 25), como de cáncer de mama (OR: 12) (120). Estudios posteriores de casos y controles, han confirmado que mutaciones en BRIP1 confieren un riesgo moderado de cáncer de ovario (OR: 3.41, $p < 0,001$) (57, 118). Se estima que un 1,4% de las mujeres diagnosticadas de CEO podrían ser portadoras de mutaciones en este gen, lo que lo situaría en tercer lugar en frecuencia tras los genes BRCA1 y BRCA2 (83).

4.2.1.3. RAD51C y RAD51D

Ambos pertenecen a la familia de genes RAD51-like, que codifica cinco proteínas en mamíferos (RAD51B, RAD51C, RAD51D, XRCC2 y XRCC3). Estas enzimas tienen actividad recombinasa y juegan un papel fundamental en la RH,

I. Introducción

permitiendo la formación del nucleofilamento, que invadirá la cromátida homóloga de ADN (121). Mutaciones bialélicas en RAD51C dan lugar a un fenotipo AF-like (122).

RAD51C fue estudiado como posible gen de susceptibilidad al cáncer de mama y ovario en población alemana y finlandesa de alto riesgo sin mutación en BRCA1/BRCA2 (123, 124). Se aisló mutación patogénica en el 1,3% de las pacientes, todas ellas pertenecientes a familias con antecedentes de cáncer de mama y ovario. No se aislaron mutaciones en familias con historia exclusiva de cáncer de mama (124). Estudios de casos y controles han confirmado su asociación con el cáncer de ovario y estiman una frecuencia de mutaciones en este gen en el 0,34% de las pacientes diagnosticadas, con una odds ratio de 5,2 (IC95%, 1,1 - 24; $p = 0,035$) (125).

De forma similar, RAD51D fue secuenciado en 911 familias de alto riesgo negativas para mutaciones en BRCA1/BRCA2 y se identificaron mutaciones patogénicas en el 0,9% de los casos, todos ellos pertenecientes a familias con historia de cáncer de mama y ovario, y ninguna con historia exclusiva de cáncer de mama (126). Además, la prevalencia de mutaciones era mayor cuanto mayor era el número de casos de cáncer de ovario en la familia: el 1,7% en familias con dos o más casos y el 5,1% en familias con tres o más. Un estudio de casos y controles que incluye más de 3000 mujeres diagnosticadas de CEO, estima una prevalencia de portadoras de mutación en RAD51D del 0,35% entre los casos, con una odds ratio de 12 (IC95% 1,5-90; $p=0,019$) (125).

Con respecto a su papel en el cáncer de mama, los estudios más recientes no han encontrado una relación significativa entre la presencia de mutaciones en estos genes y el cáncer de mama, por lo que en la actualidad no hay evidencia suficiente para considerar a RAD51C y RAD51D genes de susceptibilidad al cáncer de mama (126, 127).

4.2.2. Otros genes implicados en el desarrollo de cáncer de ovario

El avance en las técnicas de secuenciación masiva en los últimos años ha permitido el análisis de varios genes de posible susceptibilidad al CEO. Se trata de

genes que intervienen en el proceso de RH, y por tanto, una mutación en los mismos podría dar lugar al inicio del proceso de carcinogénesis. Es importante reseñar que aún no se dispone de evidencia sólida que confirme su asociación (83, 85, 118). Entre los genes posiblemente implicados se encuentran:

4.2.2.1. CHEK2

La proteína CHEK2 es una quinasa que se activa cuando se produce un daño en el ADN, y detiene el ciclo celular evitando que la célula entre en mitosis. Mutaciones en este gen se han asociado con un riesgo moderado de cáncer de mama y próstata, así como de otros tumores, como el cáncer renal y de colon (128). Se ha descrito la asociación de ciertas variantes missense (*CHEK2* I157T) en población polaca con la presencia de cistoadenomas de ovario, tumores borderline e invasivos de bajo grado (129). Sin embargo, no se ha podido demostrar que exista una asociación significativa entre mutaciones de este gen y CEO de alto grado (129-131).

4.2.2.2. BARD1

El gen BARD1 (*BRCA1 associated RING domain 1*) codifica una proteína que forma un heterodímero con BRCA1 mediante la unión de sus dominios RING. Las mutaciones en BRCA1 que impiden su unión con BARD1 se asocian a un riesgo incrementado de desarrollar cáncer (132). Un estudio en población polaca con historia de cáncer de mama-ovario familiar no portadora de mutaciones en BRCA1/BRCA2, detectó tres mutaciones patogénicas en BARD1 que podrían estar implicadas en el desarrollo de cáncer (133). Otros trabajos han relacionado la presencia de mutaciones en BARD1 con el 0,5% de los casos de cáncer de mama triple negativo (134). Con respecto al cáncer de ovario, en un estudio reciente de casos y controles, las mutaciones BARD1 se asociaron de forma significativa al CEO con una OR 4.2 (IC95% 1,4-12,5; p=0.02) (83). Sin embargo otro estudio similar que incluyó más de 6000 pacientes no evidenció relación significativa (118).

4.2.2.3. Complejo MRE11

El complejo MRE11 está formado por las proteínas MRE11, NBS1 y RAD50, y se encarga de localizar el daño en el ADN previo al inicio de la reparación del mismo mediante la RH. Se ha descrito la presencia de mutaciones en RAD50 en familias con historia de cáncer de mama-ovario (135). Los estudios de casos y controles realizados hasta la fecha no han demostrado asociación significativa entre la presencia de mutaciones en estos genes y el cáncer de ovario (83, 118).

4.3. Fenotipo del cáncer de ovario asociado a alteraciones en la RH

El CEO asociado a alteraciones en la vía de la RH se caracteriza por presentar un fenotipo concreto. Aunque los principales datos al respecto provienen de estudios de mujeres portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2, la presencia de mutaciones germinales en otros genes implicados en la RH se asocia a unas características clínico-patológicas similares (117).

La presencia de mutaciones en BRCA1/BRCA2 se asocia a un grado histológico alto, un estadio avanzado al diagnóstico (estadio III, IV FIGO) e histología serosa hasta en el 70% de los casos, aunque también están presentes otras histologías de alto grado incluyendo carcinomas endometrioides, de células claras, carcinosarcomas y carcinomas indiferenciados. Los carcinomas mucinosos y borderline suponen menos del 1% de los casos (84, 136-138).

Existen pocos datos referentes a las características histológicas de los carcinomas de ovario asociados a mutaciones en genes implicados en el proceso de RH. Sin embargo, parece que a diferencia de las mutaciones de BRCA1 y BRCA2, que se asocian principalmente con carcinomas serosos de alto grado, pueden presentarse en cualquier subtipo histológico, a excepción de los carcinomas serosos de bajo grado (139).

La edad de diagnóstico de cáncer de ovario suele estar entre la quinta y la sexta década de la vida a diferencia de los tumores esporádicos, en los que se sitúa alrededor

de los 63 años. Además es menor en portadoras de mutaciones en BRCA1 que en portadoras de mutaciones en BRCA2 (54 vs 62 años) (102) (**Figura I.13.**).

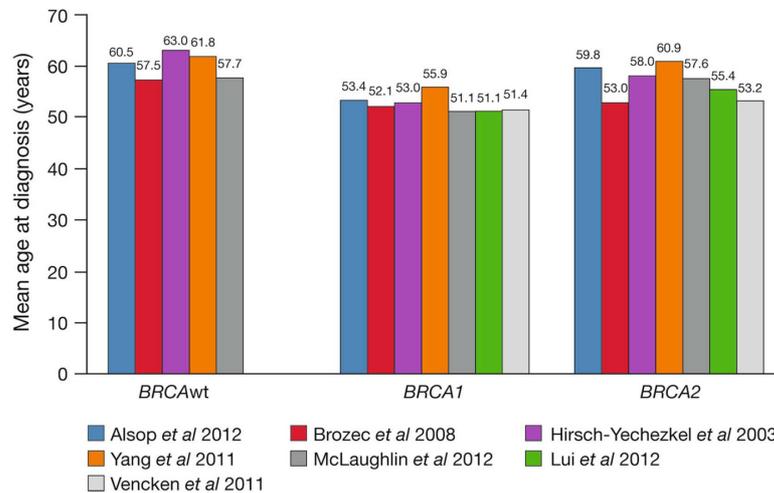


Figura I.13. Mediana de edad al diagnóstico de cáncer de ovario en portadoras de mutaciones en BRCA1, BRCA2 o no portadoras (BRCA wild type, BRCAwt) en las principales series publicadas. Tomado de Weiderpass 2015(140).

Finalmente, con respecto a los tipos de recidiva, los tumores asociados a mutaciones en BRCA1/BRCA2 son más propensos a desarrollar metástasis viscerales (parénquima hepático, pulmón, glándulas suprarrenales y metástasis cerebrales), y este efecto parece más pronunciado en mujeres portadoras de mutaciones germinales en BRCA1 (141).

4.4. Tratamiento del cáncer de ovario asociado a alteraciones en la RH

4.4.1. Quimioterapia convencional

Los CEO con deficiencia en la vía de la RH muestran una mayor sensibilidad a determinados agentes quimioterápicos. Las sales de platino tienen un papel fundamental en el manejo del CEO y forman parte de la primera línea de tratamiento desde hace más de tres décadas (142). Además, el manejo de las recaídas se basa en la clasificación de las mismas en función del intervalo libre de platino (ILP), es decir, el tiempo hasta la progresión de la enfermedad medido desde la última dosis de platino recibida. Esto

I. Introducción

permite estratificarlas en dos grupos que difieren en el manejo terapéutico: recidivas platino sensibles (ILP ≥ 6 meses) y recidivas platino resistentes (ILP < 6 meses). El ILP se correlaciona tanto con la SLP como con la SG, la respuesta a líneas sucesivas (tanto con platinos como con otros tipos de quimioterapia) y el éxito de la cirugía citorreductora, por lo que ayuda a seleccionar el tratamiento más adecuado en cada caso (143).

Las pacientes que presentan enfermedad platino resistente obtienen una tasa de repuestas (TR) a sucesivas líneas del 10-20% con una mediana de SG de 9 meses, mientras que las que tienen recidivas platino sensibles obtienen una TR entre el 25-70% con medianas de SG entre 12 y 24 meses (144-146).

Los compuestos derivados del platino inducen la formación de ICLs en el ADN, lo que resulta letal para las células que tienen un sistema de RH alterado. Los tumores asociados a mutaciones en BRCA1/BRCA2 se caracterizan por presentar mayores tasas de respuestas a platinos e ILP más prolongados (147, 148). En estos casos el re-tratamiento con platinos tras la recaída consigue respuestas incluso en aquellos casos de recidivas dentro de los 6 meses tras finalizar el tratamiento de primera línea (84). La correlación entre el ILP y la alteración en la vía de la RH es tan marcada, que en los ensayos clínicos de inhibidores de Poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP), se ha utilizado el ILP > 6 meses como indicador de una posible deficiencia en la vía de la RH (149, 150).

Los fármacos citotóxicos que inducen rupturas de doble cadena de ADN también han demostrado tener actividad en aquellos tumores asociados a déficit en la RH. Entre estos agentes se encuentran los inhibidores de la topoisomerasa II, como la doxorrubicina, que en su forma liposomal pegilada obtiene mayor TR y SG en portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 que en mujeres no portadoras (151).

4.4.2. Inhibidores de PARP

4.4.2.1. Mecanismo de acción de los inhibidores de PARP

Los fármacos inhibidores de PARP actúan mediante un mecanismo de letalidad sintética en tumores con alteraciones en la vía de la RH (152). La letalidad sintética es un concepto que se basa en que la pérdida de función de dos o más genes o vías moleculares intracelulares en las células tumorales conlleva la muerte celular, mientras que la deficiencia de una sola vía o gen permite la supervivencia de la misma.

Dentro de la familia PARP se han descrito hasta 17 enzimas distintas en mamíferos, que contienen secuencias homólogas en sus dominios activos. Sólo tres (PARP1, PARP2 y PARP3) juegan un papel destacado en la reparación de ADN (153). A pesar de la intensa investigación acerca de la biología de las PARP, el motivo exacto por el cual su inactividad conduce a la muerte celular en tumores deficientes en la vía de la RH, no se conoce con exactitud. Se han descrito cuatro mecanismos que podrían explicar el proceso de letalidad sintética en estos casos (**Figura I.14.**) (154):

- Inhibición del mecanismo de reparación por excisión de bases (BER). La inhibición de la actividad de la enzima PARP1, esencial en el proceso de BER, conduce a la persistencia de roturas simples de ADN y la subsiguiente formación de roturas de doble cadena, que permanecerían sin reparar si existe alteración de la vía de la RH, dando lugar a la muerte celular.
- Atrapamiento de PARP1 en el ADN dañado. Cuando la enzima PARP1 se une a la cadena de ADN dañado, se inicia el reclutamiento de otras proteínas implicadas en el proceso de reparación y simultáneamente, disminuye la afinidad de PARP1 por el ADN, lo que permite su disociación para que intervengan el resto de enzimas implicadas. Cuando PARP1 es inactivada, ésta permanece unida al ADN impidiendo que se active el mecanismo de reparación. La sinergia que existe entre inhibidores de PARP y agentes que dañan el ADN

como temozolamida y topotecan podría explicarse por este mecanismo (155). La citotoxicidad de los inhibidores de PARP en células con sistema deficiente de RH también podría estar mediada por este mecanismo (156).

- Alteración del reclutamiento de BRCA1. El reclutamiento de BRCA1 a los lugares donde se localiza el daño al ADN se realiza mediante la proteína BARD1. La formación de este complejo BRCA1-BARD1 precisa de ADP-ribosilación, que es llevada a cabo por PARP1 (157). La alteración de este mecanismo es crítico para iniciar el proceso de reparación de ADN, especialmente si los procesos alternativos de reclutamiento de BRCA1 están alterados, cosa que ocurre en tumores con ciertas mutaciones de BRCA1.

- 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 el mecanismo NHEJ, propenso a errores. La inhibición de PARP en células con alteración en la vía de la RH, activaría este mecanismo de reparación de ADN, que da lugar a inestabilidad genómica y en última instancia a la muerte celular (158).

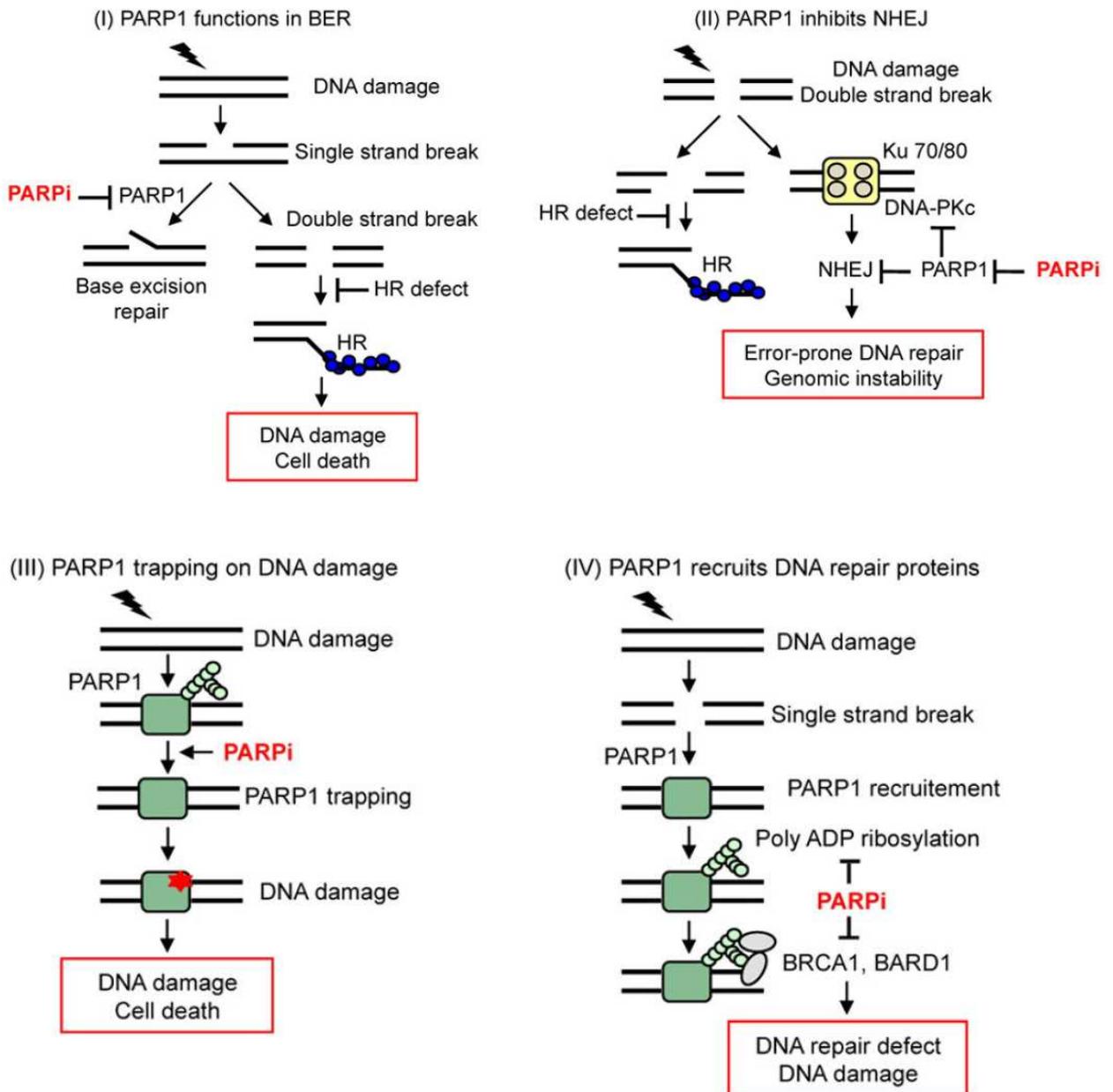


Figura I.14. Mecanismos de letalidad sintética entre inhibidores de PARP1 y alteración en la RH. La inhibición de la actividad de PARP1 en los procesos de BER (I) y NHEJ (II) es citotóxica en presencia de déficit en la RH. (III) Los inhibidores de PARP inducen el atrapamiento de PARP1 en las lesiones 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 et al. 2015 (159).

4.4.2.2. Inhibidores de PARP en el tratamiento de cáncer de ovario

Los inhibidores de PARP entre los que se encuentran olaparib, rucaparib, veliparib y niraparib, han sido estudiados de forma extensa en el tratamiento de la recaída del cáncer de ovario seroso de alto grado, particularmente en el subgrupo de tumores platino-sensibles (160). El iniparib, que en un principio formaba parte de este grupo de fármacos, no se considera en la actualidad un inhibidor de PARP, puesto que carece de esta actividad in vitro (161). Todos los anteriores inhiben la actividad de PARP1 y PARP2 y difieren en la capacidad para atrapar estas enzimas en las roturas simples de ADN.

Un ensayo fase II de olaparib en monoterapia, demostró que producía una tasa de respuesta (TR) del 34%, con una duración media de respuesta de 7,9 meses en CEO en progresión a varias líneas de tratamiento en portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2, principalmente en tumores platino sensibles (162). Un estudio posterior que comparó el tratamiento de mantenimiento con olaparib versus placebo tras obtener respuesta a platinos en cáncer de ovario en recaída platino sensible, obtuvo una SLP de 8,4 meses versus 4,8 meses (HR 0,35; $p < 0,001$) (149). Un análisis previsto en el diseño de este estudio demostró que el mayor beneficio lo presentaban mujeres portadoras de mutaciones germinales o somáticas en BRCA1/BRCA2 que alcanzaron una SLP de 11,2 meses frente a 4,3 meses en las no mutadas (HR 0,18; $p < 0,001$). Estos datos llevaron a la aprobación en Europa de olaparib para el tratamiento de mantenimiento del CEO en recaída platino sensible en respuesta a terapia con platinos y como tratamiento de cuarta línea en monoterapia por la US Food and Drug Administration (FDA), ambas indicaciones en presencia de mutaciones de BRCA1/BRCA2.

Es importante reseñar que las pacientes no portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 también obtuvieron beneficio del tratamiento de mantenimiento con olaparib (HR 0,53; IC 95% 0,33-0,84; $p < 0,001$) (163). Una proporción de pacientes (40% en la cohorte de portadoras de mutación de BRCA1/BRCA2 y un 20% de la cohorte no portadora) presentó una duración prolongada del beneficio con olaparib, sin

presentar progresión tumoral hasta 3 años tras la aleatorización. De hecho, olaparib prolongó de forma significativa el tiempo hasta el inicio de una nueva línea de tratamiento tanto en portadoras de mutación en BRCA1/BRCA2 (HR 0,44; $p < 0,001$) como en no portadoras (HR 0,64; $p < 0,034$). Una vez que se desarrolla resistencia al olaparib, los tumores de ovario continúan siendo sensibles a terapia con platinos, con una TR del 40% (164). El hecho de que los inhibidores de PARP hayan demostrado actividad en ausencia de mutaciones en BRCA1/BRCA2, podría explicarse por la presencia de alteraciones germinales o somáticas presentes en otros genes que desembocan en una deficiencia de la vía de la RH.

Se ha estudiado la combinación de inhibidores de PARP con otras drogas con las que podrían mostrar sinergia, bien porque inducen ruptura de la cadena de ADN (platinos, inhibidores de la topoisomerasa) o bien porque producen una alteración de los mecanismos de reparación de ADN (antiangiogénicos e inhibidores de la vía de PI3K/AKT) (150, 165, 166).

El resto de inhibidores de PARP, rucaparib, niraparib y veliparib también han demostrado tener actividad frente al cáncer de ovario. Son varios los ensayos fase III con estos fármacos que estudian su papel como terapia de mantenimiento, a la vez que intentan caracterizar los casos en los que existe respuesta mediante el desarrollo de biomarcadores específicos (**Tabla I.3.**).

Recientemente han sido publicados los resultados de dos ensayos fase III con terapia de mantenimiento con inhibidores de PARP en pacientes con CEO en recaída platino sensible que han recibido al menos dos líneas de tratamiento. En el ensayo ARIEL 3, que incluyó tanto a pacientes portadoras como no portadoras de mutación en BRCA1/BRCA2, el rucaparib se asoció a una SLP significativamente más larga que el placebo en el conjunto de la población (10,8 vs 5,4 meses; HR 0,36; $p < 0,0001$). El beneficio fue mayor en el subgrupo de pacientes que presentaban mutación en BRCA1/2 o marcadores de déficit en la RH, con SLP 16,6 vs 5,4 meses (HR 0,23; $p < 0,0001$) y 13,6 vs 5,4 meses (HR 0,36; $p < 0,0001$) respectivamente (167). En el ensayo SOLO2/ENGOT-Ov21, con población portadora de mutación en

I. Introducción

BRCA1/BRCA2, el olaparib en mantenimiento se asoció a un aumento significativo de la SLP (19,1 vs 5,5 meses; HR:0,3; $p < 0.0001$) (168). Estos resultados confirman el papel de la terapia de mantenimiento con inhibidores de PARP en población BRCA mutada en recaída platino sensible, que hoy por hoy debe ser considerada estándar.

Inhibidor de PARP	Ensayo	Primera línea / recaída	Población incluida
Olaparib	SOLO1; GOG3004	Primera línea	FIGO IIIC-IV Seroso/endomet alto grado Mutación BRCA+* RP o RC a platinos
Veliparib	GOG 3005	Primera línea	Seroso/endomet alto grado BRCA+/-
Olaparib	SOLO2; ENGOT-OV21	Recaída	Seroso/endomet alto grado Mutación BRCA+* Platinos sensibles RP o RC a última línea platino
Rucaparib	ARIEL3	Recaída	Seroso/endomet alto grado Mutación BRCA+/- Platinos sensibles RP o RC a última línea platino
Niraparib	ENGOT-OV16; NOVA; US Oncology	Recaída	Seroso alto grado Platino sensible RC o RP a última línea de platino BRCA+/-

Tabla I.3. Estudios fase III recientes con inhibidores de PARP. *Se incluyen mutaciones somáticas y germinales de BRCA1/BRCA2.

4.5. 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 las mutaciones en BRCA1 y BRCA2, responsable de un 10-15% de los casos hereditarios y de un 0,4-1% de los CEO en general (83, 169, 170). Este síndrome, de herencia autosómica dominante, está causado por una mutación patogénica en los genes MMR: MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, y se asocia a un mayor riesgo de desarrollar carcinoma colorrectal y otros tumores, como carcinoma de endometrio, ovario, estómago, intestino delgado, tracto hepatobiliar, tracto urinario superior, cerebro y piel.

4.5.1. Mecanismo de reparación de errores de emparejamiento de ADN

El sistema MMR juega un importante papel en el mantenimiento de la estabilidad genómica. Se encarga de reconocer errores de emparejamiento de bases y pequeñas inserciones/deleciones que se producen durante la replicación y corregirlos, evitando que estos se perpetúen durante la proliferación celular.

Este mecanismo requiere la función coordinada de siete proteínas (MLH1, MLH3, PMS1 y PMS2, MSH2, MSH3 y MSH6) que actúan en tres pasos: reconocimiento del error, escisión y síntesis.

En el primer paso intervienen dos heterodímeros (MutS α y MutS β) encargados de reconocer los errores de emparejamiento de bases. MutS α (MSH2/MSH6) reconoce errores de una sola base y pequeños fragmentos (de una o dos bases) de inserción/delección, mientras que MutS β (MSH2/MSH3) reconoce fragmentos de mayor tamaño. Tras la fase de reconocimiento, el complejo MutL α (MLH1/PMS2) interacciona con el complejo MutS correspondiente, activando la función endonucleasa de PMS2, que escinde el fragmento de ADN que debe ser reparado. En el último paso intervienen las ADN-polimerasas Pol δ /Pol ϵ y la ADN-ligasa1, que completan la síntesis de la cadena de ADN (171) (**Figura I.15.**).

PMS1 y MLH3 también dimerizan con MLH1, pero su papel en la reparación de ADN está menos claro (172).

Los individuos con síndrome de Lynch presentan una mutación germinal en uno de los alelos de un gen MMR, mientras que el segundo alelo es inactivado por mutación somática, por hipermetilación del promotor o una combinación de ambos. Puede ocurrir que ambos alelos presenten una mutación germinal, lo que da lugar al síndrome de deficiencia constitutiva en MMR, que se caracteriza por aparición de cáncer en la infancia en tracto gastrointestinal, sistema nervioso central, neoplasias hematológicas y alteraciones cutáneas. La inactivación de ambos alelos da lugar al acúmulo acelerado de errores de emparejamiento de bases, que ocurren principalmente en las secuencias

I. Introducción

microsatélite. Éstas son fragmentos cortos repetitivos de ADN (entre una y seis pares de bases) distribuidos a lo largo del genoma que son particularmente susceptibles a acumular errores durante la replicación. La longitud de estas secuencias es constante en las células de un mismo individuo. Cuando existe deficiencia del sistema MMR, en el tejido tumoral aparecen pequeñas inserciones/deleciones en las secuencias microsatélite en comparación con el tejido idéntico normal, lo que se conoce como Inestabilidad de Microsatélites (IMS). La presencia de IMS en secuencias que codifican genes relacionados con la génesis tumoral, conduce a la inactivación de las correspondientes proteínas, activando el proceso de carcinogénesis. Hasta la fecha, se han descrito mutaciones en genes relacionados con los procesos de apoptosis, regulación de la transcripción, control del ciclo celular y con la regulación de la inmunidad celular en tumores (173).

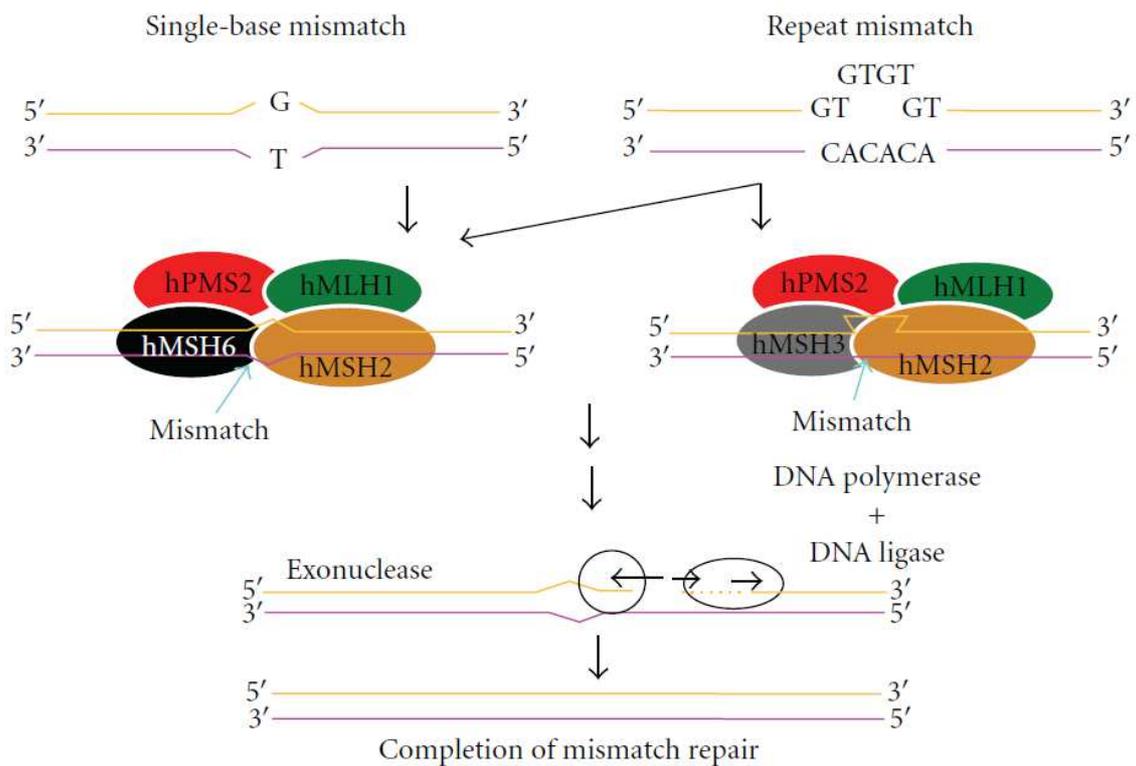


Figura I.15. Mecanismo de reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR).

Tomado de Masuda et al, 2011 (174).

Aproximadamente el 90% de los tumores colorrectales asociados al síndrome de Lynch presentan IMS, el 75% de los adenocarcinomas de endometrio y cerca del 100% de los carcinomas de ovario. También aparece hasta en el 15% de los tumores colorrectales esporádicos, la mayor parte debido a la hipermetilación del promotor de MLH1, que causa su inactivación epigenética. Aunque los datos al respecto son escasos, la hipermetilación del promotor de MLH1 también parece ser frecuente en el cáncer de ovario, donde se han descrito frecuencias entre el 10-50%, la mayor parte de ellas en tumores que exhiben IMS (175).

Diversas series han estimado que entre el 12-20% de los carcinomas de ovario presentan IMS, bien sea por mutaciones somáticas o germinales (176). Sin embargo, trabajos más recientes señalan que está presente en >60% de los carcinomas de ovario y más de la mitad del epitelio ovárico, lo que sugiere que podría estar relacionado con el proceso ovulatorio normal (177). Por este motivo la IMS está perdiendo valor como método de screening del síndrome de Lynch .

Otra forma de poner de manifiesto una deficiencia en el sistema MMR es mediante técnicas de IHQ, utilizando anticuerpos contra las proteínas MMR (178). De esta forma se puede mostrar la pérdida de expresión proteica del gen responsable en la mayoría de los casos, con una sensibilidad del 90%.

Es frecuente que la inactivación de MLH1 en las biopsias de adenocarcinoma de colon y endometrio se deba a hipermetilación del promotor de dicho gen y no a una mutación en la línea germinal, pero este hecho puede constituir el *second hit* que causa la inactivación en homocigosis del gen, y la causa de que se desarrolle cáncer en algunos individuos con mutaciones germinales de MLH1. Por tanto, no se puede descartar por completo el síndrome de Lynch ante la presencia de metilación del promotor de MLH1 en un individuo con carga familiar.

En la mayoría de estudios publicados, parece existir una aceptable correlación entre la pérdida de expresión mediante IHQ de proteína MMR y la presencia de IMS,

aunque no es infrecuente encontrar discrepancias en función de la técnica utilizada de IHQ, y la frecuencia de mutaciones germinales en MMR de la población (179-181).

4.5.2. Tipos y penetrancia de las mutaciones

Clásicamente se ha atribuido el 80% de los casos de síndrome de Lynch a mutaciones en los genes MLH1 y MSH2, el 7-10% a mutaciones en MSH6 y menos del 5% a mutaciones en PMS2, aunque hay que tener en cuenta que estas estimaciones partían de la presencia de una historia clínica sugestiva de carcinoma colorrectal hereditario, lo que puede suponer un sesgo (182). Deleciones en el gen EPCAM, situado aguas arriba del gen MSH2 dan lugar al silenciamiento de dicho gen y son responsables del 1% de los casos de síndrome de Lynch (183). Con la utilización cada vez más extensa de los paneles de genes, esta proporción está cambiando debido a un aumento en la frecuencia de mutaciones en MSH6 y PMS2, que podrían ser responsables del 13-30% y 10-24% los casos de síndrome de Lynch respectivamente. En un trabajo reciente que incluye 574 individuos portadores de mutaciones en genes MMR, cerca de un 20% cumplían criterios de SCMOH y no cumplían criterios de estudio de síndrome de Lynch. La mayor parte de estos individuos eran portadores de mutaciones en MSH6 y PMS2, lo que sugiere que podrían correlacionarse con un fenotipo de cáncer de mama y ovario y explicaría por qué tienen una frecuencia menor en estudios previos que parten de la presencia de carcinoma colorrectal (184).

Se ha descrito una correlación del fenotipo tumoral con el gen mutado subyacente, de manera que el cáncer colorrectal predomina en portadores de mutaciones en MLH1 y PMS2, los portadores de mutaciones en MSH2 tienen mayor riesgo de tumores extracolónicos y en portadoras de mutaciones en MSH6 existe un riesgo mayor de desarrollar tumores ginecológicos. Las mutaciones en MLH1 y MSH2 se asocian, además, a una menor edad de diagnóstico tumoral y tienen una mayor penetrancia que las variantes en MSH6 y PMS2 (185, 186).

El riesgo individual de las portadoras de mutaciones en MMR de cáncer de colon es del 60% (187, 188). El cáncer de endometrio es el segundo en frecuencia con

un riesgo entre el 20-70% dependiendo del gen alterado (189). En lo que respecta al cáncer de ovario, la mayoría de estudios estiman un riesgo en torno al 10%, aunque trabajos más recientes sugieren que puede llegar hasta el 20% (188, 190, 191). Las mutaciones en MSH2 y MSH6 son las que se asocian a una mayor probabilidad de desarrollar carcinoma de ovario, con un incidencia acumulada hasta los 75 años del 17% y el 13% respectivamente, frente a un 10% en portadoras de mutaciones en MLH1 (192).

Con respecto al tipo de mutación, en la mayoría de las ocasiones (entre un 40-50% de los casos) corresponden a mutaciones tipo frameshift o nonsense, que generan proteínas truncadas. Le siguen en frecuencia las mutaciones tipo missense que dan lugar a un cambio de aminoácido, que suponen entre un 30-40% de los casos. Debido al elevado número de mutaciones missense, se ha estandarizado una metodología de clasificación de la patogenicidad de estas variantes en cinco subgrupos en función de la mayor o menor probabilidad de ser patogénicas (193). En cuanto a la localización, aunque se pueden encontrar a lo largo de toda la secuencia codificadora del gen, existen algunos puntos calientes, como los exones 16 y 1 para MLH1, 12 y 3 para MSH2, y el exón 4 (el más largo) para MSH6 (194). Hasta en un tercio de las familias que cumplen criterios de Amsterdam I y II no se objetivan mutaciones puntuales en los genes MMR. Una elevada proporción de estos pacientes presenta LRG, que pueden llegar a representar hasta cerca del 30% del total de mutaciones patogénicas. Éstos son particularmente frecuentes en MSH2 y PMS2, y apenas aparecen en MSH6 (93, 195, 196).

4.5.3. Características clínico-patológicas del cáncer de ovario asociado a síndrome de Lynch

El cáncer de ovario asociado a síndrome de Lynch se caracteriza por diagnosticarse a edades más jóvenes que el cáncer de ovario esporádico. La edad de presentación se sitúa de forma global entre los 42-49 años, frente a los 60-65 años en los casos esporádicos, aunque existen variaciones en función del gen que se encuentre

I. Introducción

mutado. En portadoras de mutaciones germinales en MSH2 la mediana de edad es de 45 años frente a 51 años en portadoras de mutaciones en MLH1.

Desde el punto de vista histológico se caracteriza por una mayor presencia de histología no serosa, principalmente la estirpe endometriode (hasta en el 60%) seguido por el subtipo de células claras. La mayor parte de los casos se diagnostican en estadios precoces (estadios FIGO I y II) (137, 197, 198). Entre un 20 y un 30% de los casos se asocian a la presencia de adenocarcinomas de endometrio sincrónicos en el momento del diagnóstico (199).

Desde un punto de vista molecular, se corresponderían con carcinomas tipo I y se caracterizan, a diferencia de los carcinomas esporádicos por ausencia de mutaciones en p53 y KRAS, con presencia de mutaciones en PI3K hasta en un 30% de los casos, proporción similar a la de los carcinomas de células claras y endometrioides esporádicos, lo que podría traducirse clínicamente en un mejor pronóstico con respecto a los tumores esporádicos (200, 201).

4.5.4. Tratamiento del cáncer de ovario asociado al síndrome de Lynch

4.5.4.1. Quimioterapia convencional

En la actualidad no existen datos sólidos para afirmar que el cáncer de ovario epitelial en pacientes portadoras de mutaciones en genes MMR tenga un patrón de respuesta distintivo a la quimioterapia aunque hay indicios de que podrían ser más quimiorresistentes que los esporádicos. Algunos estudios in vitro han sugerido que la metilación de MLH1 se asocia a resistencia a platinos en células de cáncer de ovario y otros que la baja expresión de MSH2 conlleva una menor TR a la quimioterapia basada en platinos (202, 203).

4.5.4.2. Terapias dirigidas

En los últimos años se ha profundizado en el conocimiento de terapias dirigidas frente a los diferentes tipos de cáncer, lo que ha permitido el desarrollo de tratamientos

específicos. Una de las estrategias para el desarrollo de terapias diana en los tumores relacionados con el síndrome de Lynch se basa en el concepto de letalidad sintética. En este sentido, se han identificado varias posibles dianas terapéuticas en las células con deficiencia en el sistema MMR: dihidrofolato reductasa (DHFR), ADN polimerasa β (POL β), ADN polimerasa γ (POL γ) y la quinasa PINK1 (*PTEN –induced putative kinase 1*). La inhibición de estas enzimas produce un acúmulo de estrés oxidativo en el ADN que conduce a la letalidad sintética en presencia de inactivación de MSH2 (DHFR y POL β), MLH1 (POL γ) y MLH1, MSH2 y MSH6 (PINK1) (204-206). Hasta la fecha, el uso de estos fármacos dirigidos no ha sido estudiado en el cáncer de ovario asociado a síndrome de Lynch.

El mayor avance en el ámbito terapéutico del cáncer asociado al síndrome de Lynch en los últimos años se basa en la inmunoterapia. Una de las características histológicas que define a los carcinomas de colon con IMS en la presencia en el tejido tumoral de infiltrados de linfocitos (207). En concreto, la presencia de linfocitos T citotóxicos sugiere que estas células son capaces de reconocer ciertos antígenos tumorales, y el que exista progresión tumoral a pesar de la respuesta inmune, indica que la célula tumoral es capaz de evadir esta respuesta. Los tumores asociados al síndrome de Lynch se caracterizan por estar “hipermutados” y acumular entre 10 y 100 veces más mutaciones que los tumores con estabilidad de microsatélites, lo que podría conllevar una mayor presentación de antígenos al sistema inmune (208). Cuando los receptores de los linfocitos T reconocen los antígenos de superficie que identifican a una célula como cancerosa, éstos se activan para eliminarla. Al mismo tiempo, para evitar la sobreactivación del sistema inmune es necesaria una señal de stop. Una de las vías por las que se regula esta activación de los linfocitos T es mediante receptores de inhibición como el PD-1 (receptor de muerte programada), presente en la superficie de las células T y su unión a los ligandos PD-L1 o PD-L2, que normalmente se expresan en la superficie de células dendríticas y macrófagos, y que provocará la reducción de la producción de citoquinas y la supresión de la proliferación de las células T. Este mecanismo es el que han integrado multitud de tumores con el fin de bloquear el reconocimiento de los mismos mediante la expresión en su superficie de las proteínas

I. Introducción

PD-L1 y PD-L2, logrando escapar así de la acción del sistema inmune y continuar proliferando (**Figura I.16.**).

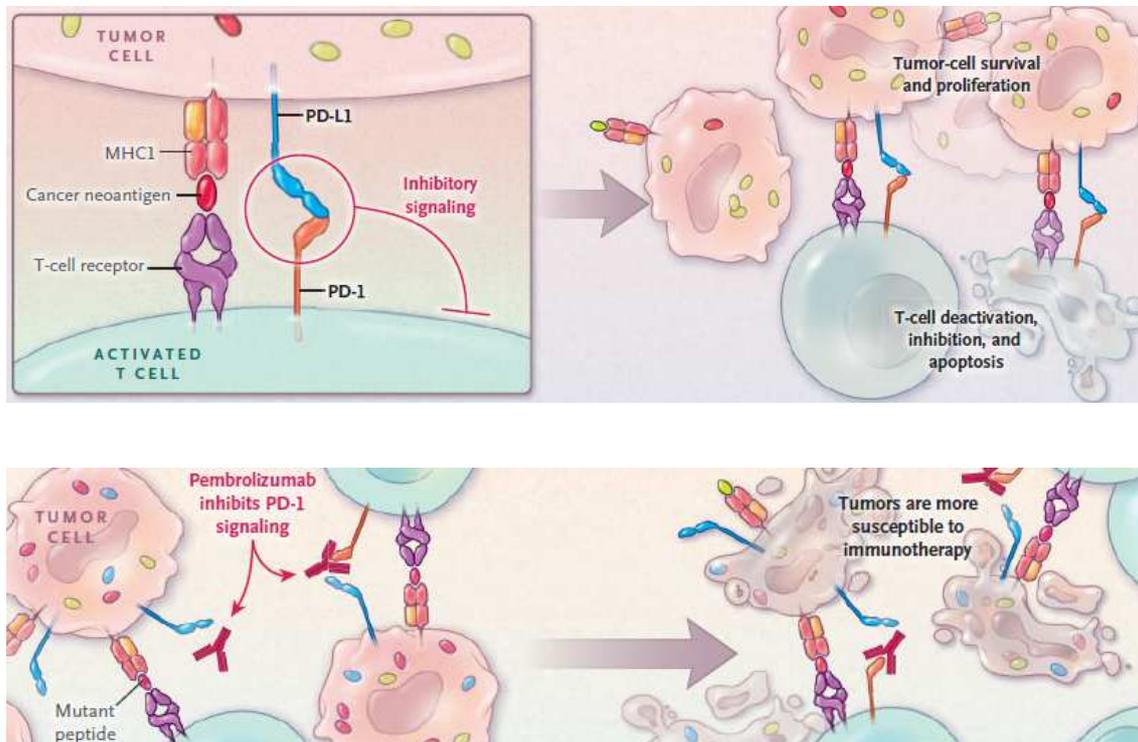


Figura I.16. Mecanismo de señalización de PD-1 y PD- L1 e inhibición de PD-1 en los tumores con deficiencia en el sistema MMR. MHC-1: complejo mayor de histocompatibilidad 1. Tomado de Lemery et al. 2017 (209).

El pembrolizumab es un anticuerpo que se une al receptor PD-1, impidiendo su unión a los ligandos PD-L1 y PD-L2, y por tanto impide la inhibición de la respuesta inmune frente al tumor (**Figura I.16.**). En un estudio prospectivo con pacientes diagnosticados de carcinoma colorrectal refractario a quimioterapia, la deficiencia en el sistema MMR mostró ser un factor predictivo de respuesta a pembrolizumab (210). En Mayo de 2017, la FDA aprobó el uso de pembrolizumab para el tratamiento de tumores sólidos metastásicos con deficiencia en el sistema MMR, independientemente del órgano de origen. Esta aprobación se produce tras obtener los resultados de un estudio de un solo brazo que incluía 149 pacientes diagnosticados de diferentes tipos de carcinoma con deficiencia en MMR, en progresión a al menos dos líneas de tratamiento

y que obtenía una TR del 40%, con un 80% de las respuestas mantenidas durante al menos 6 meses (209).

4.6. Síndrome de Li Fraumeni

El síndrome de Li Fraumeni es un síndrome de predisposición al cáncer con herencia autosómico dominante y alta penetrancia que se caracteriza por la presencia de diferentes tipos de tumor en la historia familiar, principalmente sarcomas óseos y de partes blandas, cáncer de mama, tumores cerebrales y carcinomas de corteza suprarrenal, diagnosticados antes de los 45 años (211). Otros tumores menos frecuentes son las leucemias, cáncer de pulmón, carcinoma colorrectal, tumores cutáneos, carcinomas gástricos y de ovario (212).

Aproximadamente el 70% de los casos se debe a mutaciones germinales en el gen TP53 (213). El gen TP53 (cromosoma 17q13) codifica una proteína que interviene en varias vías celulares implicadas en la proliferación celular, el ciclo celular, apoptosis y respuesta al daño en el ADN. La proteína p53 es un factor de transcripción expresado de forma constitutiva en la mayoría de tipos celulares y que se activa en respuesta a señales de estrés (214). Una vez activado, pone en marcha diferentes cascadas de señal que detienen el ciclo celular y activan la apoptosis. La pérdida de función de p53 da lugar al acúmulo de mutaciones genéticas, lo que supone el inicio del proceso de carcinogénesis.

Las mutaciones somáticas en TP53 son muy frecuentes en los tumores esporádicos, con una frecuencia que varía entre el 10 y 60% dependiendo de la estirpe tumoral (215). Estas mutaciones somáticas son muy similares a las germinales, la mayoría (75%) de tipo missense, que dan lugar alteraciones en la actividad transcripcional y se pueden situar a lo largo de toda la secuencia del gen, aunque existen “puntos calientes” que acaparan el 30% de todas las mutaciones (exones 5 a 8) (216). Los criterios de Chompret revisados en 2009 son los utilizados en la actualidad para identificar a los posibles portadores de mutaciones en TP53 (**Tabla I.4.**).

I. Introducción

No se conocen todos los defectos genéticos subyacentes al síndrome de Li Fraumeni. Mutaciones en el gen CHEK2, inicialmente se asociaron a este síndrome, aunque estudios posteriores sugieren que únicamente se relacionan con la presencia de carcinomas de mama en las familias estudiadas (217).

Criterios de Chompret
<ul style="list-style-type: none">• Probando con tumor asociado a SLF* diagnosticado antes de los 46 años y, al menos, un pariente en primer o segundo grado con diagnóstico de tumor relacionado con SLF** detectado antes de los 56 años, o múltiples tumores primarios diagnosticados a cualquier edad
<ul style="list-style-type: none">• Probando diagnosticado de múltiples tumores asociados a SLF (excluyendo el cáncer de mama múltiple), dos de los cuales estén relacionados con el SLF, el primero de ellos diagnosticado antes de los 46 años.
<ul style="list-style-type: none">• Probando diagnosticado de carcinoma cortico-suprarrenal o carcinoma de plexos coroideos, independientemente de la historia familiar
<p>*Se incluyen: osteosarcoma o sarcoma de partes blandas, tumores cerebrales, cáncer de mama en premenopáusicas, leucemia, carcinoma de corteza suprarrenal y carcinoma bronquiloalveolar de pulmón.</p> <p>**Excepto cáncer de mama si el probando fue diagnosticado de cáncer de mama</p>

Tabla I.4. Criterios de Chompret revisados para el estudio genético de TP53. Se debe cumplir al menos uno de los criterios. SLF: síndrome de Li Fraumeni. (218).

En cuanto a la edad de presentación, el 50% de los afectados se diagnostican de cáncer antes de los 30 años y hasta un tercio desarrollan múltiples tumores a lo largo de la vida (219). El riesgo hasta los 50 años de desarrollar un tumor en portadores es mayor en mujeres que en hombres (93% vs 68%). La mediana de edad al diagnóstico también difiere según el sexo (29 años en mujeres vs 40 años en hombres) (220). Aunque la mayoría de pacientes tienen historia familiar de cáncer, hay que tener en cuenta que las mutaciones de novo suponen entre un 7-20% de los casos (221).

El cáncer de mama es el más frecuente en mujeres con síndrome de Li Fraumeni. Se estima que entre un 3-8% de mujeres diagnosticadas de cáncer de mama por debajo de los 30 años sin historia familiar, son portadoras de mutaciones en TP53 (222). En la mayor parte de los casos se trata de tumores con receptores hormonales positivos y

sobreexpresión de Her2, con una mediana de edad de presentación de 32 años (223). El tumor filodes maligno también se ha relacionado con el síndrome de Li-Fraumeni (224).

En lo que respecta al cáncer de ovario, la mediana de edad al diagnóstico es de 39.5 años frente a los 64 años para los casos esporádicos, aunque los datos son limitados debido a la escasa frecuencia de este síndrome en la población que hace muy difícil el llevar a cabo estudio fiables al respecto (225).

4.7. Implicaciones del cáncer de ovario hereditario en el pronóstico

4.7.1. Pronóstico del cáncer de ovario asociado a BRCA1 y BRCA2

Numerosos trabajos han investigado si la presencia de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 afecta al pronóstico del cáncer de ovario. Aunque los primeros estudios no demostraron diferencias significativas (226, 227), posteriormente han sido muchos los trabajos que han objetivado que la presencia de mutaciones germinales en BRCA1/BRCA2 confiere un mejor pronóstico en comparación con el cáncer de ovario esporádico (84, 228-232).

Estas diferencias en supervivencia observadas entre ambos tipos de carcinoma pueden ser resultado de un comportamiento biológico diferente, o deberse a la influencia de otros factores como la edad, el subtipo histológico o las diferencias en la respuesta a quimioterapia.

Sin embargo, aunque la ventaja a nivel de la SLP y la SG a corto plazo parece constante en estos estudios y ha sido corroborada en al menos tres metanálisis (81, 233, 234), no está claro que se mantenga a largo plazo. Estudios recientes con seguimientos prolongados, en torno a los diez años, no evidencian diferencias en la SG entre portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 y no portadoras (235-237).

Aunque ambos genes juegan un papel crítico en la reparación de ADN mediante la RH, también tienen funciones diferentes, lo que ha llevado a algunos grupos a investigar su influencia en el pronóstico del cáncer de ovario por separado. Los datos de

I. Introducción

estos estudios señalan que las portadoras de mutaciones en BRCA2, presentan una mejor SLP y SG con respecto a las portadoras de BRCA1 (229, 231, 238, 239).

La ventaja en supervivencia asociada a estas mutaciones se ha relacionado principalmente con una mayor quimiosensibilidad de estos carcinomas, en concreto con una mayor sensibilidad al tratamiento con sales de platino. Este dato concuerda con los datos obtenidos *in vitro*, que demuestran que las células que presentan una alteración en la vía de la RH, son más sensibles a agentes que inducen roturas de doble cadena en el ADN (240). Esta mayor quimiosensibilidad ha sido objetivada en distintos trabajos, y se traduce tanto en una mayor TR a los platinos como en unos ILP más prolongados (117, 148, 238).

Si bien el mejor pronóstico de los carcinomas asociados a mutaciones en BRCA1 y BRCA2 probablemente se deba a una mejor respuesta a la quimioterapia, no se puede descartar que estos tumores presenten un comportamiento biológico más indolente. Se ha demostrado que los tumores asociados a mutaciones en BRCA1 y BRCA2 tienen un número elevado de mutaciones, lo que les hace ser más inmunogénicos comparados con aquellos que presentan integridad en la vía de la RH, por ello presentan mayor número de linfocitos peritumorales (241). Este hecho podría condicionar una respuesta inmune frente al tumor más efectiva, y relacionarse por ello con una mejor supervivencia. Por tanto podría constituir un factor pronóstico independiente de la respuesta a la quimioterapia.

En lo que respecta al papel pronóstico de mutaciones germinales en otros genes relacionados con la vía de la RH distintos de BRCA1 y BRCA2, existen pocos datos al respecto. Sin embargo, parecen mostrar resultados equiparables en lo referente a sensibilidad a platino y ventaja en SLP y SG (117, 139).

4.7.2. Pronóstico del cáncer de ovario asociado al síndrome de Lynch

Numerosos estudios han investigado las implicaciones pronósticas de la deficiencia en genes MMR en el adenocarcinoma de colon asociado al síndrome de Lynch. Sin embargo en el caso del cáncer de ovario, existe poca evidencia al respecto.

El cáncer de colon con deficiencia en genes MMR se asocia a mejor supervivencia y esta ventaja posiblemente se debe a que la inestabilidad genética asociada a la IMS compromete de alguna manera la progresión tumoral (242, 243).

Algunos estudios han sugerido que el cáncer de ovario en el seno del síndrome de Lynch se asocia a una mayor supervivencia, aunque los resultados no son concluyentes debido al escaso número de pacientes analizadas (190, 244). Una posible explicación para estos hallazgos sería que dada la mayor frecuencia de histología no serosa en estos casos, estos tumores tienen más probabilidad de diagnosticarse en estadios tempranos y por tanto, lograr la curación mediante cirugía.

5. El consejo genético en Oncología

El consejo genético en el campo de la Oncología es el proceso de identificación y asesoramiento de individuos con riesgo incrementado de desarrollar cáncer. Mediante el análisis de la historia personal y familiar y la utilización de modelos predictivos de riesgo, se pueden identificar los potenciales síndromes hereditarios de predisposición al cáncer, realizar el estudio genético dirigido y cuantificar el riesgo individual y de los familiares biológicos. Una vez estimado el riesgo de un individuo, se desarrolla un plan de seguimiento que incluye estrategias de screening, prevención y reducción de riesgo así como de valoración de otros familiares. El consejo genético también incluye la educación del paciente acerca del síndrome hereditario familiar y el apoyo psicológico y emocional de los individuos con riesgo de desarrollar cáncer (245).

Este proceso consta de las siguientes etapas (245, 246):

- 1) Identificación de los individuos/familias con riesgo.** Implica la realización de una historia personal y familiar del individuo a estudio. Cuando se elabora la historia clínica del individuo, además de sus antecedentes personales es necesario obtener información sobre factores exógenos de riesgo oncológicos (hábitos tóxicos, antecedentes de radiación,...) y acerca del pedigrí o historia

familiar. Los datos referentes a la historia oncológica familiar se deben recoger en al menos tres generaciones incluyendo familiares de primer y segundo grado del individuo que consulta: tipos de cáncer, edad de presentación, si el individuo ha fallecido, causa y edad de fallecimiento. También se recogerán datos de otras patologías que puedan relacionarse con síndromes hereditarios concretos.

2) Estimación del riesgo de cáncer. Para identificar las pacientes que deben ser consideradas de alto riesgo y aquellas a las que se debe realizar el test genético, se han desarrollado guías clínicas por diferentes organizaciones profesionales. En general, todas suelen recomendar llevar a cabo el test genético si existe una probabilidad mayor del 10% de ser portador de una mutación en un determinado gen (247, 248). Para calcular esta probabilidad y para estimar el riesgo de cáncer de un paciente disponemos modelos matemáticos. Existen dos tipos de modelos matemáticos: los empíricos y los genéticos.

Los modelos empíricos tienen en cuenta unas determinadas variables de interés (edad de presentación, número de familiares afectados, grado de relación entre los familiares afectados y el paciente), y a partir de ellas construyen un modelo estadístico multivariable, generalmente mediante regresión logística, que estima el riesgo absoluto de desarrollar cáncer.

Los modelos genéticos, basan la predicción de riesgo suponiendo la existencia de un número concreto de genes de susceptibilidad de frecuencia y penetrancia conocidas que siguen un determinado patrón de herencia. Una vez establecido un modelo de susceptibilidad, se puede emplear una aproximación estadística, para comparar la probabilidad de que una determinada historia personal y familiar de cáncer se deba a un síndrome genético concreto.

3) Valoración de la realización de un test genético. Si existe sospecha de un síndrome determinado asociado a un gen concreto se puede ofrecer la posibilidad de realizar un test genético. Es importante resaltar que el consejo genético no siempre conlleva la realización de un test genético.

4) Firma de consentimiento informado para la realización del test genético. Para ello se debe informar de las implicaciones de los posibles resultados para el paciente que consulta y para sus familiares. Se deben explicar los aspectos clínicos, moleculares y de manejo médico relativos al síndrome estudiado así como las posibles limitaciones del estudio genético.

5) Realización del test genético. Previamente a la realización del test se debe informar al paciente de los posibles resultados. Estos se clasifican en dos grandes grupos:

- Test informativo: Nos permite asesorar correctamente a la persona a la que realizamos el test. Puede ser:
 - Verdadero positivo: Es aquella situación en la que conociendo la presencia de una mutación patogénica en la familia, se identifica a un portador sano de la misma mutación. En este caso podremos concretar el riesgo de cáncer que presenta, así como las posibilidades de prevención y seguimiento.
 - Verdadero negativo: Es aquella situación en la que conociendo la presencia de una mutación patogénica en la familia, no se detecta la presencia de la misma en un individuo sano. En este caso le informaremos de que su riesgo individual de cáncer es similar al de la población general y que no precisa de ninguna estrategia específica de seguimiento, sólo de los controles recomendados a nivel poblacional.
- Test no informativo: Es el resultado que no nos permite concretar el riesgo de cáncer del individuo. Puede ser:
 - Negativo no informativo: Es aquel resultado negativo en ausencia de mutación conocida en una familia con criterios clínicos de alto riesgo para un síndrome hereditario. En

estos casos la agregación familiar de cáncer puede deberse a alteraciones en otros genes no estudiados o a otros factores, como los ambientales. En estos casos se harán recomendaciones específicas basadas en la historia familiar y personal del individuo.

- Variante de significado clínico desconocido (VUS). Se detecta una mutación en el gen estudiado, pero se desconoce el efecto que ésta puede tener en la funcionalidad de dicho gen y por tanto no existen datos acerca de su patogenicidad. Esta variable podrá ser reclasificada en el futuro si se obtienen nuevos datos. En estos casos las recomendaciones también se harán en base a la historia familiar y personal. No se recomienda realizar el test genético a los familiares.

6) Comunicación de los resultados del estudio. Se deben explicar de forma clara las implicaciones de los resultados obtenidos acerca del riesgo de desarrollar cáncer, el plan de seguimiento y prevención, y la valoración de otros familiares. Es importante evaluar el impacto emocional que conllevan estos resultados para poder proporcionar el apoyo psicológico pertinente.

7) Establecer un plan de seguimiento. Debe incluir tanto estrategias de screening, con discusión de sus posibles limitaciones, como estrategias de disminución de riesgo si existen, así como la derivación a profesionales médicos concretos para seguimiento a largo plazo.

6. Tipos de variantes genéticas

En función de su efecto fisiológico, las variantes genéticas se pueden clasificar en:

- Variantes patogénicas: dan lugar a una función anormal del gen y a un fenotipo alterado (mayor susceptibilidad para desarrollar cáncer).
- Variantes de significado clínico desconocido: son variaciones en la secuencia normal de un gen cuya repercusión biológica en lo referente a patogenicidad o benignidad no es conocida.
- Variantes no patogénicas: son variantes que no alteran la función del gen y no dan lugar a un fenotipo alterado. Dentro de esta clase se encuentran los polimorfismos genéticos (variantes con una frecuencia $\geq 1\%$ en la población general).

Para poder clasificar las diferentes variantes es necesario recabar toda la información disponible acerca de las mismas. Por ello es necesario realizar una búsqueda exhaustiva en las bases de datos internacionales para comprobar si estas variantes han sido previamente descritas y conocer su patogenicidad. Las principales bases de datos se resumen en la **Tabla I.5**.

A la hora de llevar a cabo la clasificación de las diferentes variantes, disponemos de evidencia directa, que mide la asociación observada de la variante con la enfermedad, y de evidencia indirecta, que se refiere a las posibles consecuencias a nivel genético de la variante en cuestión (249).

Dentro de la evidencia directa se encuentra el análisis de la frecuencia que presentan las variantes a estudio en casos y controles, si co-segregan con la enfermedad dentro de las familias portadoras, si se asocian a una historia personal y familiar de la enfermedad, así como si existe co-ocurrencia con otras variantes patogénicas. En este último caso, la co-ocurrencia en trans (en diferentes alelos) de una variante a estudio con otra variante patogénica, permitiría clasificar a la primera como no patogénica, ya que se asume que la presencia de dos variantes patogénicas conllevaría la muerte embrionaria en el caso de BRCA1 y BRCA2 o se asociaría a un fenotipo muy agresivo en el caso de alteraciones en los genes MMR. Sin embargo la co-currencia en cis (en el

I. Introducción

mismo alelo) con otra variante patogénica, no nos permitiría clasificar la variante a estudio como no patogénica, porque en este caso el individuo todavía sería portador de una copia normal del gen.

Base de datos	Descripción
Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) of Nucleotide Sequence Variation. National Center for Biotechnology Information (NCBI) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp	Base de datos de polimorfismos de nucleótido simple y variaciones tipo inserción-delección de pequeño tamaño, microsatélites y variantes no polimórficas
ClinVar. National Center for Biotechnology. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/	Recoge información sobre variantes génicas y su relación con enfermedades
Locus Specific Database Human Genome Variation Society http://www.hgvs.org/locus-specific-mutation-databases/	Listado de bases de datos locus específicas de variantes génicas con el vínculo a sus correspondientes páginas web
Human Gene Mutation Database (HGMD). Institute of Medical Genetics in Cardiff www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php	Recoge las variantes patogénicas o probablemente patogénicas publicadas como responsables de enfermedades hereditarias.
Universal Mutation Database (UMD). http://www.umd.be/	Base de datos de mutaciones y datos clínicos de pacientes en diferentes genes relacionados con el cáncer hereditario
Leiden Open Variation Database . http://www.lovd.nl/2.0/index_list.php	Listado de bases de datos locus específicas de variantes génicas con el vínculo a sus correspondientes páginas web
International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumors (InSiGHT). http://www.insight-group.org	Base de datos de genes asociados a tumores gastrointestinales hereditarios.
Breast Cancer Information Core. http://research.nhgri.nih.gov/bic/	Base de datos de genes asociados al cáncer de mama hereditario.

Tabla I.5. Principales bases de datos de consulta de variantes génicas

En lo referente a fuentes de evidencia indirecta, en la actualidad se dispone de modelos funcionales *in vitro* que predicen la posible patogenicidad de la mutación genética a estudio, así como de modelos *in silico*, que realizan un análisis bioinformático de la variante. Este análisis incluye el estudio de la conservación evolutiva entre especies de la secuencia a estudio y la repercusión de los cambios de aminoácido sobre la función de la proteína, así como de las formas aberrantes de splicing (249).

Una vez se ha recopilado toda la información disponible, las variantes se clasifican según su significado clínico en cinco categorías, utilizando los criterios establecidos por el Colegio Americano de Genética Médica (ACMG) (94):

- **Clase 1, variante no patogénica o polimorfismo:** variante con una frecuencia alélica poblacional $\geq 1\%$ y que no presenta ninguna sospecha de patogenicidad.
- **Clase 2, variante probablemente no patogénica:** tienen una frecuencia alélica $< 1\%$ y los estudios de predicción de patogenicidad las consideran neutras.
- **Clase 3, variante de significado clínico desconocido.** Son variantes que no cumplen criterios de probabilidad de no patogenicidad y sobre las que existe carencia de datos para su clasificación final.
- **Clase 4, variantes probablemente patogénicas:** son aquellas variantes que no han sido descritas previamente, pero que dan lugar a un codón de parada con truncamiento de la proteína, cosegregan de forma clara con la enfermedad y/o están ausentes en cohortes de personas sanas.
- **Clase 5, variantes patogénicas:** son aquellas en las que existe información contrastada publicada acerca de su patogenicidad.

I. Introducción

La clasificación se ha de establecer en base a los conocimientos específicos de la variante, en caso de existir, o en base a las recomendaciones internacionales al respecto (250). Si la variante está descrita y clasificada con suficiente evidencia, no hay problema de interpretación. En caso contrario, lo más razonable es informarla como de significado clínico desconocido hasta que nuevas evidencias permitan una clasificación más determinante sobre su patogenicidad.

7. Estrategias para disminuir el riesgo de cáncer de ovario

El riesgo hereditario de desarrollar cáncer de ovario puede ser modificado mediante un plan terapéutico que incluye tres tipos de estrategias: quimioprevención, screening y cirugía profiláctica.

7.1. Quimioprevención

Los ACHO han demostrado reducir el riesgo de cáncer de ovario entre un 40-60% en la población general (24). Este beneficio se mantiene en mujeres con riesgo incrementado de cáncer de ovario asociado a mutaciones en BRCA1 y BRCA2, y es proporcional a la duración de la anticoncepción (251). Se puede recomendar el uso de ACHO en mujeres jóvenes portadoras que busquen un método anticonceptivo. Si bien los datos al respecto no son concluyentes, parece no existir incremento de riesgo de cáncer de mama en mujeres portadoras de mutaciones en BRCA1/2 con formulaciones posteriores a 1975 (104, 251). Sin embargo, recientemente se ha descrito un incremento de riesgo de cáncer de mama del 20% con las formulaciones actuales en población general (252). Además se desconoce si confieren efecto protector a largo plazo, puesto que la mayoría de portadoras llevarán a cabo cirugía profiláctica alrededor de los 40 años, y es poco probable que se desarrolle cáncer de ovario antes de esta edad.

Los ACHO se asocian además a una disminución de riesgo de cáncer de endometrio del 50% en población general (253). En mujeres diagnosticadas de síndrome de Lynch, disminuyen la proliferación endometrial, por lo que pueden ser

utilizados como quimioprevención tanto del cáncer de endometrio como del de ovario, mientras no se lleva a cabo la cirugía reductora de riesgo, aunque en la actualidad no existen datos de estudios prospectivos al respecto (254).

7.2. Screening del cáncer de ovario

El screening del cáncer de ovario se basa en la medición seriada del marcador tumoral CA125 (considerando valores elevados ≥ 35 U/ml) y la ecografía transvaginal, y no existen datos en la actualidad de que conlleve una reducción de la mortalidad en mujeres con riesgo poblacional (255). El problema del screening en la población general es que la incidencia del cáncer de ovario es tan baja, que la sensibilidad y especificidad del método usado deben ser muy elevadas para proporcionar un valor predictivo positivo fiable. Para intentar mejorar estos resultados, se ha desarrollado un “algoritmo de riesgo de cáncer de ovario” (ROCA, *risk of ovarian cancer algorithm*) que incorpora la velocidad en el aumento de los niveles de CA125 a lo largo del tiempo, y no únicamente un valor de corte. Esta estrategia se basa en el hecho de que las mujeres que desarrollan cáncer de ovario presentan una rápida elevación de los niveles séricos de CA125 con respecto a los niveles basales antes del diagnóstico (256). La combinación de los niveles de CA125 interpretados con el algoritmo ROCA y la ecografía transvaginal ha demostrado aumentar la especificidad, con una reducción no significativa de la mortalidad, en la población general (257).

Los carcinomas serosos de alto grado originados en las trompas de Falopio asociados a síndromes hereditarios se caracterizan por su rápida progresión y capacidad de metastatizar, lo que implica que la detección en estadios tempranos en estos casos puede ser más difícil que en la población general y dificulta las estrategias de screening (258).

Recientemente se han comunicado los resultados del ensayo UK Familial Ovarian Cancer Screening Study, que incluye a más de 4000 mujeres con un riesgo $>10\%$ de desarrollar cáncer de ovario (estimado según la historia familiar o la presencia de mutaciones patogénicas) y que participaron en un programa de screening que incluía

I. Introducción

la medición de CA125 cada cuatro meses usando el método ROCA, combinado con la ecografía transvaginal de forma anual o en los dos meses siguientes si se obtenía un valor de alto riesgo en ROCA. Esta estrategia de screening demostró una elevada sensibilidad, y se asoció a una disminución significativa en la proporción de carcinomas en estadios avanzados al diagnóstico y a una mayor proporción de cirugías óptimas (R0). A pesar de que no se debe considerar una alternativa a la cirugía profiláctica en pacientes de riesgo puesto que se desconoce su efecto sobre la mortalidad, los autores concluyen que es un método de screening válido mientras no se lleve a cabo la salpingo-ooforectomía bilateral profiláctica (259).

En la actualidad, a pesar de la ausencia de beneficio demostrado, la mayoría de guías clínicas recomiendan el screening mediante medición cada 6-12 meses de CA125 y ecografía transvaginal en las mujeres con riesgo hereditario de cáncer de ovario a partir de los 30-35 años, mientras no se lleva a cabo la cirugía reductora de riesgo (260, 261). En mujeres con síndrome de Lynch, se recomienda además llevar a cabo biopsia endometrial anual a partir de los 30-35 años o 5-10 años antes del diagnóstico de carcinoma de endometrio más precoz en la familia.

7.3. Cirugía profiláctica

La salpingo-ooforectomía bilateral profiláctica (SOBP) es la medida más efectiva para reducir el riesgo de cáncer de ovario. En portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 se asocia a una disminución de riesgo de cáncer de ovario del 80%, de cáncer de mama del 50% y a una reducción de la mortalidad global del 77% (262-264). Las guías NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) recomiendan la SOBP en mujeres portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA1, BRCA2, BRIP1, RAD51C, RAD51D y genes MMR. En el caso de portadoras de mutaciones en BRCA1 se recomienda llevarla a cabo entre los 35-40 años, una vez cumplidos los deseos de descendencia. Se puede considerar retrasar esta edad hasta los 40-45 años en portadoras de mutaciones en BRCA2, ya que el cáncer de ovario suele aparecer a edades más tardías, e incluso más en el caso de portadoras de mutaciones en BRIP1, RAD51C y

RAD51D (260). Para establecer una recomendación es importante analizar además del tipo de mutación subyacente, la edad de diagnóstico en la historia familiar.

El análisis histopatológico de la pieza quirúrgica tras SOBP demuestra la presencia de carcinomas ocultos en un 3% de las mujeres con mutaciones en BRCA1/BRCA2 (265). La detección de carcinomas ocultos se relaciona con el tipo de análisis patológico. La sección y análisis de las fimbrias de la trompa de Falopio ha permitido detectar un mayor número de carcinomas y lesiones premalignas, lo que sugiere que el cáncer de ovario se origina en las fimbrias de las trompas de Falopio (266). Por este motivo algunos autores afirman que la realización de salpinguectomía sin ooforectomía podría tener un papel en mujeres que desean mantener la función ovárica, aunque en la actualidad no puede recomendarse fuera de un ensayo clínico (267).

Con respecto a la realización de histerectomía junto con la SOBP en mujeres portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2, se argumenta que ésta podría prevenir el desarrollo de carcinomas originados en la parte intramural de la trompa, la aparición de carcinomas serosos uterinos (asociados a mutaciones en BRCA1 principalmente) y de carcinomas de endometrio relacionados con el tamoxifeno en mujeres en tratamiento por cáncer de mama. En la actualidad no existe evidencia de que disminuya el riesgo de cáncer, por lo que no se recomienda llevarla a cabo de forma sistemática, se debe individualizar en función de las características de cada caso (268).

En mujeres con síndrome de Lynch, se recomienda realizar histerectomía y SOBP a partir de los 35- 40 años si se han cumplido los deseos de descendencia (260). Esta estrategia ha demostrado disminuir de forma significativa el riesgo de cáncer de endometrio y de ovario (269). Existen pocos datos acerca de la proporción de carcinomas ocultos en estas mujeres, aunque algunos estudios describen frecuencias en torno al 4% de cáncer de ovario y 14% de cáncer de endometrio (270).

La menopausia precoz se asocia a un incremento significativo en la población general en el riesgo cardiovascular, demencia, osteoporosis, síndrome climatérico

I. Introducción

(sofocos, sequedad vaginal, alteraciones del sueño) y mortalidad global (271). Se debe considerar el uso de THS hasta la edad natural de la menopausia a no ser que existan contraindicaciones para la misma por diagnóstico de cáncer de mama u otra razón. La THS en pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 sometidas a SOBP no se asocia a un incremento de riesgo de cáncer de mama (263). También es importante controlar los factores de riesgo cardiovascular y de osteoporosis.

I. Introducción

II. Hipótesis y objetivos

II. Hipótesis y objetivos

1. Justificación del estudio.

Se estima que hasta un 20% de los carcinomas de ovario aparecen en mujeres con susceptibilidad genética. La mayoría están asociados a mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2, el resto se relacionan con alteraciones en los genes MMR, genes implicados en la vía de la RH y de forma excepcional con alteraciones en otros genes como TP53. Sin embargo, la prevalencia exacta de las diferentes variantes patogénicas varía considerablemente entre los diferentes grupos étnicos y las distintas zonas geográficas.

No disponemos de datos relativos a las características clínicas y patológicas del cáncer de ovario hereditario en nuestra región, ni tampoco de los genes y mutaciones más frecuentemente implicados. El conocimiento del fenotipo tumoral y el espectro mutacional asociado al cáncer de ovario hereditario permitiría mejorar los procesos de screening y diagnóstico de síndromes hereditarios de predisposición al cáncer y ayudaría a optimizar estrategias de prevención, manejo y tratamiento.

Cada vez hay mayor evidencia de que el fenotipo tumoral difiere en función de la alteración genética subyacente (83). De la misma forma, la evolución y la respuesta a la quimioterapia se relacionan con la presencia de determinadas mutaciones, lo que constituye una oportunidad para individualizar el tratamiento de las pacientes portadoras. Los principales datos al respecto se centran en las mutaciones en BRCA1 y BRCA2, que parecen asociarse a una mayor quimiosensibilidad y a mejor pronóstico (84, 117, 147) , aunque hay estudios que no evidencian esta tendencia (236, 272). Sin embargo, existe poca información referente a la supervivencia ligada a mutaciones en otros genes, o de las pacientes con criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer que no resultan portadoras de variantes patogénicas tras el estudio genético.

El objetivo de este estudio es analizar la influencia de las mutaciones germinales patogénicas en genes de predisposición al cáncer sobre el pronóstico de las pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario que cumplen criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer en nuestra región. Debido a la escasa prevalencia de variantes

II. Hipótesis y objetivos

patogénicas en genes diferentes de BRCA1 y BRCA2, es difícil analizar la evolución de los carcinomas de ovario asociados a dichas mutaciones y establecer comparaciones con el cáncer de ovario esporádico. Por ello, este trabajo se centra principalmente en el estudio del impacto de las mutaciones en BRCA1 y BRCA2 sobre el pronóstico de la enfermedad tumoral.

2. Hipótesis de trabajo.

La presencia de mutaciones germinales patogénicas en genes de predisposición al cáncer influye en el pronóstico del cáncer de ovario y en las características clínicas y patológicas del mismo. En concreto, las pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2, tendrán mejor pronóstico y presentarán una supervivencia más prolongada que las diagnosticadas de carcinoma de ovario esporádico.

3. Objetivos

3.1. Objetivo principal.

Comparar la supervivencia global y supervivencia libre de progresión de las pacientes diagnosticadas de CEO portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA1/BRCA2 respecto a un grupo de pacientes diagnosticadas de CEO esporádico.

3.2. Objetivos secundarios.

1. Comparar el intervalo libre de platino de las pacientes portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA1/BRCA2 con respecto a un grupo de pacientes diagnosticadas de CEO esporádico.

2. Analizar el impacto sobre el ILP, la SLP y la SG de las variantes patogénicas en genes distintos de BRCA1 y BRCA2 hallados en nuestra población.
3. Determinar la influencia de las distintas variables clínicas sobre la SLP y la SG.
4. Estudio descriptivo de las características clínicas y patológicas de las pacientes diagnosticadas de CEO que cumplen criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer en nuestra región.
5. Estudio descriptivo de las mutaciones germinales halladas en BRCA1, BRCA2, genes MMR, RAD51C y RAD51D en pacientes con diagnóstico de cáncer de ovario.

II. Hipótesis y objetivos

III. Material y Métodos

1. Diseño del estudio

Para dar respuesta a la hipótesis de trabajo y objetivos propuestos, se diseñó un estudio observacional analítico de cohortes retrospectivo.

2. Población y periodo de estudio

Las Unidades de Consejo Genético (UCG) en Cáncer Hereditario en la Región de Murcia se encuentran en el Hospital Universitario Morales Meseguer (HUMM) y Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA) y comenzaron su funcionamiento en 2007 y 2008, respectivamente.

La población accesible de nuestro estudio incluye a las pacientes diagnosticadas de CEO en la Región de Murcia entre el 1/1/2008 y el 31/1/2016. Nuestra muestra consta de dos cohortes, una constituida por pacientes valoradas en las UCG y otra que incluye pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario esporádico (que no cumplen criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer).

2.1. Cohorte de pacientes valoradas en las UCG

2.1.1. Criterios de inclusión

1. Mujeres con diagnóstico histológico o citológico de CEO.
2. Pacientes con historia clínica disponible para su revisión.
3. Valoradas en las UCG en el período comprendido entre el 1/1/2008 y el 31/1/2016.
4. Deben cumplir criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer. Los criterios que se siguieron para llevar a cabo estudio genético fueron los siguientes:

III. Material y Métodos

- Estudio de los genes BRCA1 y BRCA2: tras valorar la historia personal y familiar, se realizó estudio de dichos genes si se cumplían los criterios recomendados por la Sociedad Española de Oncología Médica (**Tabla III.1.**).
- En aquellas pacientes sin evidencia de variante patogénica ni gran reordenamiento en BRCA1 y BRCA2, se amplió el estudio con análisis de RAD51D si se trataba de una familia con historia de cáncer de mama y ovario, y si había además un caso de cáncer de mama bilateral, se realizó estudio de RAD51C. Estos criterios se basaron en los fenotipos familiares publicados para estos dos genes (124, 126, 273, 274) (**Tablas III.2. y III.3.**).
- En las pacientes cuyas familias cumplían criterios de Bethesda y/o Amsterdam II (**Tablas III.4. y III.5.**), se llevó a cabo cribado molecular con estudio de IMS/IHQ de proteínas reparadoras en la biopsia tumoral. En aquellos casos con IMS en la biopsia tumoral y/o ausencia de expresión de alguna de las proteínas MMR, se realizó estudio de detección de mutaciones de genes MMR en la línea germinal.

Criterios de alto riesgo de SCMOH
Cáncer de mama/ovario diagnosticado antes de los 40 años.
Cáncer de mama bilateral diagnosticado antes de los 40 años (aunque sea en una mama).
Cáncer de mama en el varón, menor de 65 años.
Dos casos ente familiares de primer o segundo grado con: <ul style="list-style-type: none"> • Dos casos de cáncer de ovario. • Un caso de cáncer de mama y otro de cáncer de ovario. • Un caso de cáncer de mama en el varón y otro de cáncer de mama u ovario. • Un caso de cáncer de mama bilateral y otro de cáncer de mama (uno al menos de 50 años, aunque sea uno de los bilaterales).
Tres o más familiares de primer grado con cáncer de mama o de ovario

Tabla III.1. Criterios de selección de pacientes para estudio genético de BRCA1 y BRCA2 de SEOM.

Criterios de estudio de RAD51C
Cumplir criterios de inclusión para el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario.
No presentar ninguna variante patogénica ni ningún gran reordenamiento en los BRCA1 o BRCA2.
Presentar el caso índice o algún familiar cáncer de mama bilateral.
Presentar el caso índice o algún familiar un caso de cáncer de ovario.

Tabla III.2. Criterios de selección para el análisis de RAD51C.

Criterios de estudio de RAD51D
Cumplir criterios de inclusión para el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario.
No presentar ninguna variante patogénica ni ningún gran reordenamiento en los BRCA1, BRCA2, RAD51C.
Presentar el caso índice o algún familiar un caso de cáncer de ovario.

Tabla III.3. Criterios de selección para el análisis de RAD51D.

III. Material y Métodos

Criterios de Amsterdam II
Al menos tres o más familiares afectados de cáncer asociado a síndrome de Lynch: cáncer colo-rectal, endometrio, estómago, ovario, intestino delgado, uréter, pelvis renal, vía biliar, cerebro o piel (tumores sebáceos)
Además se deben cumplir todos de los supuestos siguientes:
<ul style="list-style-type: none">• Al menos dos o más generaciones sucesivas deberían estar afectadas
<ul style="list-style-type: none">• Uno debe ser familiar de primer grado de los otros dos
<ul style="list-style-type: none">• Al menos uno de los familiares con cáncer asociado a síndrome de Lynch debe ser diagnosticado antes de los 50 años de edad
<ul style="list-style-type: none">• La poliposis familiar adenomatosa debe haberse excluido;
<ul style="list-style-type: none">• Los tumores deben ser verificados por un examen histopatológico

Tabla III.4. Criterios de Amsterdam II.

Criterios de Bethesda
Individuos con cáncer en familias que cumplen los criterios de Amsterdam II.
Individuos con 2 cánceres relacionados con síndrome de Lynch, incluyendo carcinoma colo-rectal sincrónico o metacrónico o cánceres extracolónicos asociados (endometrio, ovario, estómago, hepatobiliar, intestino delgado, carcinoma de células transicionales de pelvis renal o uréter)
Individuos con CCR y un familiar en primer grado con CCR y/o cáncer extracolónico relacionado con el síndrome de Lynch y/o adenoma colo-rectal; 1 de los cánceres diagnosticado antes de los 45 años*, y el adenoma diagnosticado antes de los 40 años.
Individuos con CCR o endometrial diagnosticado antes de los 50 años
Individuos con CCR derecho y patrón indiferenciado (sólido/cribiforme) diagnosticado antes de los 45 años
Individuos con CCR derecho y patrón indiferenciado (sólido/cribiforme) diagnosticado antes de los 45 años
Individuos con CCR de células en anillo de sello diagnosticado antes de los 50 años*.
Individuos con adenomas diagnosticados antes de los 40 años

Tabla III.5. Criterios de Bethesda. CCR: Carcinoma colorrectal.

2.1.2. Criterios de exclusión

1. Pacientes que cumplan los criterios de inclusión, valoradas fuera del periodo descrito.
2. Pacientes con diagnóstico de carcinoma de ovario valoradas en las UCG que no cumplen criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer.

Dentro del grupo de pacientes valoradas en las UCG que cumplieron los criterios de selección, se incluyeron mujeres que resultaron portadoras de variantes patogénicas en los distintos genes estudiados (BRCA1, BRCA2, MMR, RAD51C y RAD51D), pacientes portadoras de VUS en genes BRCA1 o BRCA2 y pacientes que a pesar de cumplir criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer no presentaron alteraciones relevantes en el estudio genético. Las mutaciones patogénicas más prevalentes fueron las de los genes BRCA1 y BRCA2. Todas las pacientes portadoras de estas variantes formaron la denominada “cohorte BRCA+”.

2.2. Selección de la cohorte diagnosticada de carcinoma de ovario esporádico

Con intención de comparar el curso evolutivo del carcinoma de ovario asociado a mutaciones en BRCA1/BRCA2 con el de los carcinomas esporádicos, se seleccionó una cohorte (denominada “cohorte Control”) de pacientes diagnosticadas de CEO que no cumplieran criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer.

Durante el proceso de selección de esta cohorte se procuró que las características basales de las pacientes incluidas estuvieran equilibradas con las de la cohorte BRCA+. En concreto se tuvieron en cuenta las variables con influencia sobre la SG y la SLP, bien fueran variables clínicas, patológicas o referentes al tipo de tratamiento recibido. De esta forma se intentó evitar que un desbalance en estas características pudiera suponer un sesgo para el análisis de supervivencia.

También se puso especial atención al año de diagnóstico, ya que el tratamiento del cáncer de ovario ha evolucionado a lo largo del tiempo, tanto desde el punto de vista

III. Material y Métodos

quirúrgico como desde el punto de vista de la quimioterapia empleada. El período de referencia abarcado por nuestro estudio fue de 20 años y 6 meses, desde Julio de 1995 (fecha de diagnóstico de la primera paciente incluida en la cohorte BRCA+) y Enero de 2016 (fecha del último seguimiento incluido). Por ello, la cohorte Control se extrajo del conjunto de pacientes con diagnóstico de CEO tratadas en el HCUVA durante el período comprendido entre Enero de 1995 y Enero de 2016.

Para facilitar la tarea de selección de pacientes, subdividimos nuestro período de referencia en tramos de 5 años. Dentro de cada período de 5 años (1995-1999, 2000-2004, 2005-2009, 2010-2016), se eligió un número de pacientes control similar al de pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 que habían sido diagnosticadas durante dicho período. La selección dentro de cada período se llevó a cabo mediante una técnica de muestreo no probabilístico discrecional. Dicha selección fue realizada exclusivamente por el doctorando, con el objeto de homogeneizar criterios subjetivos y mejorar la consistencia de los datos. Se incluyeron aquellas pacientes que presentaron características basales equiparables a las incluidas en la cohorte BRCA+ diagnosticadas durante el mismo período, en lo referente a variables clínicas (edad, situación basal, estadio al diagnóstico), variables patológicas (grado de diferenciación y subtipo histológico), tratamiento quirúrgico (cirugía óptima/subóptima) y tipo de quimioterapia recibida (neo/adyuvante y con/sin platino).

A la hora de llevar a cabo la revisión de las historias clínicas se prestó especial atención a los antecedentes familiares, y se excluyeron aquellas pacientes que por su historia familiar cumplieran criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer, a pesar de que no hubieran sido derivadas a la UCG.

3. Fuentes de datos

Los datos de las pacientes de la cohorte valorada en la UCG se obtuvieron de las bases de datos de dichas unidades del HCUVA y HUMM. Se obtuvo el número de

historia clínica (NHC) y posteriormente se revisó la historia clínica del archivo y la informatizada (Selene).

Para realizar la selección de pacientes de la cohorte Control se solicitó al servicio de Archivo, Codificación y Documentación de HCUVA un listado de pacientes intervenidas en los Servicios de Ginecología y Cirugía General con diagnóstico de cáncer de ovario desde el 1/1/1995 y el 31/1/2016. Posteriormente se procedió a revisar la historia clínica del archivo y la informatizada (Selene) y seleccionar las pacientes de la cohorte Control, en base a los criterios de selección establecidos.

4. Variables evaluadas

4.1. Variables principales

- **Supervivencia Global (SG):** Tiempo expresado en meses desde la fecha de diagnóstico hasta la fecha de muerte por cualquier causa o fecha del último seguimiento.

- **Supervivencia Libre de progresión (SLP):** Tiempo expresado en meses desde que el paciente inicia tratamiento oncológico (ya sea cirugía o quimioterapia) hasta la fecha documentada de progresión tumoral. Se considera que existe progresión si se cumplen los criterios GCIG 2011. Debe cumplirse alguno de los siguientes o ambos (275):
 - Progresión según criterios RECIST 1.1 (276):
 - Incremento del 20% en la suma de los diámetros de la lesión diana
 - Aparición de nueva lesión
 - Progresión inequívoca de lesiones no diana
 - Progresión según Ca125:

III. Material y Métodos

- Aumento del nivel de Ca125 ≥ 2 veces el límite superior normal o el valor nadir, comprobado en dos mediciones separadas al menos una semana.

4.2. Variables secundarias

- **Intervalo libre de platino (ILP):** Tiempo expresado en meses desde el último ciclo recibido de quimioterapia basada en platinos hasta la fecha documentada de progresión tumoral.
- **Edad:** edad expresada en años en el momento del diagnóstico.
- **ECOG:** estado funcional del paciente en el momento del diagnóstico conforme a la escala de la OMS (**anexo I**)
- **Histología:** subtipo histológico del cáncer de ovario. Los subtipos representados en la muestra fueron:
 - Seroso-papilar
 - Endometioide
 - Células claras
 - Mucinoso
 - Germinal
- **Grado histológico.** Se establecen tres grados: grado 1 (bien diferenciado), grado 2 (moderadamente diferenciado), grado 3 (pobrementemente diferenciado).
- **Clasificación dual del grado histológico.** Con objeto de simplificar el análisis del grado histológico, de forma análoga a la clasificación FIGO 2014 se dividieron los carcinomas en dos categorías: bajo grado histológico (que incluye el grados 1 de la clasificación convencional) y alto grado (incluyendo a los grados 2 y 3). Al tratarse de un estudio retrospectivo y no poder realizar tinción IHQ de p53 para reclasificar a los carcinomas grado 2, hemos incluido todos

estos casos en la categoría de alto grado, de forma similar a otros trabajos previos (277).

- **Estadio tumoral:** según la clasificación FIGO 2014 (**anexo II**)
- **Fecha de diagnóstico:** fecha de confirmación histológica de diagnóstico de cáncer de ovario expresada en mes/año.
- **Presencia de otros tumores:** presencia de otros tumores distintos del cáncer de ovario diagnosticados de forma sincrónica o metacrónica con éste.
- **Cirugía:** tipo de citorreducción llevada a cabo. Esta se clasificó como:
 - Óptima: de acuerdo con el consenso de Vancouver de 2010 (278), se considera citorreducción óptima a aquella en la que no existe evidencia de tumor macroscópico residual, siempre que se haya llevado a cabo una correcta estadificación quirúrgica (**anexo III**).
 - Subóptima: se considera citorreducción subóptima si existe tumor residual macroscópico tras el acto quirúrgico, o bien si no se ha llevado a cabo un estadificación quirúrgica completa. En aquellas pacientes en las que se realizó histerectomía y doble anexectomía sin completar el resto de estadificación quirúrgica, la cirugía se consideró subóptima, aunque no existiera enfermedad residual macroscópica.
- **Quimioterapia neoadyuvante.** quimioterapia administrada previa al estadiaje quirúrgico.
- **Esquema de Quimioterapia.** tipo de fármacos y esquema de administración.
- **Sensibilidad a platino.** Se consideran dos categorías (279):

III. Material y Métodos

- **Platino sensible:** Un carcinoma es platino sensible si presenta respuesta parcial o completa con el tratamiento y no recae en los 6 meses siguientes tras la finalización del esquema de tratamiento basado en platinos.
- **Platino Resistente:** Se considera platino resistente si presenta progresión durante el tratamiento con platino, estabilización de la enfermedad tras finalizarlo, o si tras alcanzar respuesta presenta una recaída en los seis meses siguientes tras finalizar el esquema de quimioterapia basado en platino.
- **Fecha de recaída/progresión.** Expresada en mes/año, fecha en que se documenta recaída tumoral en aquellos casos en los que se consigue respuesta completa tras el tratamiento inicial, o progresión en aquellos casos en que la respuesta al tratamiento no es completa.
- **Fecha de fallecimiento.** Expresada en mes/año, en que se produce el fallecimiento del paciente por cualquier motivo.
- **Fecha último seguimiento.** Fecha expresada en mes/año, en que se documenta la última revisión al paciente.
- **Estudio genético.** En el subgrupo de pacientes valoradas en las UCG que cumplían criterios de síndrome genético de predisposición al cáncer, se llevó a cabo estudio genético dirigido, en función de las características de cada paciente según la historia personal y familiar especificados en los criterios de inclusión. En esta variable se incluyeron tres categorías:
 - **Gen afectado.** Nombre del gen en el que se encuentra una variante patogénica o de significado clínico desconocido.

- **Mutación.** Nombre de identificación de la mutación. La nomenclatura utilizada para la descripción de las variantes génicas fue la recomendada en por la *Human Genome Variation Society* (HGVS) (280).
- **Tipo de mutación.** Se establecen las siguientes categorías: no patogénica, patogénica o variable de significado desconocido.

5. Recogida de datos

Los datos relativos a cada paciente se consignaron en un Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) diseñado a tal efecto (**anexo IV**), tras la revisión de la historia clínica de archivo y la informatizada (Selene). Posteriormente estos datos fueron trasladados a una tabla formato Excel. Se asignó un número de caso a cada paciente evaluado y se llevó a cabo la codificación de los datos recogidos (transformación a código numérico) previo a la realización del análisis estadístico.

En esta fase se llevó a cabo la detección y corrección de errores en la recogida de datos encontrados.

La última actualización de datos se realizó en Enero de 2016, siendo ésta la fecha del último seguimiento incluido.

6. Estudio Genético

En las pacientes valoradas en las UCG se llevó a cabo el estudio genético pertinente según cumplieran los criterios anteriormente especificados. A continuación se detallan los diferentes procedimientos realizados.

III. Material y Métodos

6.1. Estudio de inestabilidad de microsatélites e inmunohistoquímica de proteínas reparadoras en biopsia tumoral

En pacientes pertenecientes a familias que cumplieran criterios de Bethesda, se comenzó el estudio genético mediante el análisis de IMS en la pieza tumoral, mientras que en aquellas familias que cumplieran criterios de Amsterdam II se inició con el estudio de la expresión de proteínas reparadoras mediante IHQ en la biopsia tumoral.

6.1.1. Análisis de inestabilidad de microsatélites

Para el análisis de IMS, se utilizaron cinco marcadores microsatélites (dos mononucleótidos y tres dinucleótidos) (178) (**Tabla III.7.**).

Se considera que un tumor presenta IMS alta si muestra inestabilidad en dos o más marcadores y baja si sólo aparece en un marcador. El análisis se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), comparando en cada caso el tamaño de los alelos del tumor con su correspondiente ADN no tumoral. En los tumores con IMS puede observarse en los marcadores dinucleótidos, inserciones o deleciones en el ADN tumoral, mientras que en los mononucleótidos siempre se trata de deleciones.

Marcador	Tipo	Localización
D2S123	Dinucleótido	2p21-2p16
D5S346	Dinucleótido	5q21-5q22
D17S250	Dinucleótido	17q11,2-17q12
BAT-25	Mononucleótido	4q12
BAT-26	Mononucleótido	2p16

Tabla III.7. Panel de marcadores microsatélites.

La presencia de IMS alta en el tumor no es suficiente para el diagnóstico de síndrome de Lynch porque ésta puede estar presente en tumores esporádicos. En las

pacientes que presentaron IMS alta en la biopsia tumoral, se realizó estudio molecular de los genes MLH1 y MSH2 en sangre periférica, ya éstos que éstos son los que se encuentran inactivados en más del 90% de los tumores con IMS.

6.1.2. Expresión de proteínas reparadoras mediante inmunohistoquímica

El estudio de IHQ de MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 se llevó a cabo sobre tejido tumoral fijado en formol e incluido en parafina, lo que permitió identificar la proteína no expresada y el gen inactivado.

Se consideró que un tumor mostraba “expresión conservada” si se observaba la tinción nuclear en las células tumorales, “pérdida de expresión” si se observaba ausencia de tinción nuclear en las células tumorales, con la presencia de un control interno positivo (linfocitos intratumorales, células del estroma, mucosa no tumoral), y se consideró “no valorable” cuando la ausencia de expresión no se acompañaba de un control interno positivo.

Las proteínas reparadoras de ADN funcionan como dímeros: la proteína MSH2 forma un complejo con MSH3 o MSH6 y la proteína MLH1 con PMS2 o PMS1. MSH6 y PMS2 son inestables si no están pareadas formando dímeros, por lo que mutaciones germinales en MSH2 causan pérdida de expresión en las proteínas MSH2/MSH6 y las mutaciones germinales de MLH1 causan pérdida de expresión de MLH1/PMS2. Sin embargo, las mutaciones germinales de MSH6 y PMS2 no provocan habitualmente pérdida de expresión de MSH2 ni MLH1 respectivamente.

En los casos en los que se objetivó ausencia de expresión de una proteína reparadora, se realizó el estudio molecular del gen indicado en cada caso.

6.2. Estudio de mutaciones germinales

En las pacientes en las que estaba indicado por los criterios anteriores se procedió a realizar el estudio de mutaciones germinales en los genes implicados (genes MMR, BRCA1, BRCA2, RAD 51 C y RAD 51D), previa firma del consentimiento

III. Material y Métodos

informado (**anexo V**). Este estudio consta de tres fases, que se describen brevemente a continuación:

6.2.1. Fase preanalítica

En esta fase se lleva a cabo la extracción de sangre periférica (5-10 ml) y se conserva en un tubo con anticoagulante EDTA. El facultativo responsable realiza la petición al Laboratorio de Hormonas de HCUVA donde se realiza el estudio de los genes BRCA1, BRCA2, RAD51 C y RAD51D, o al Servicio de Genética Clínica de HCUVA donde se realiza el estudio de los genes MMR.

6.2.2. Fase analítica

- **Extracción de ADN:**

El proceso analítico se inicia con la extracción de ADN de la muestra biológica, en este caso de la sangre periférica.

- **Amplificación del ADN:**

La amplificación de ADN se realiza mediante PCR. Una vez obtenido el ADN del paciente a estudio, se procede a la amplificación de todos los exones codificantes del gen a estudio, así como las fronteras intrón-exón y exón-intrón mediante primers o cebadores específicos (pequeñas moléculas de ADN de cadena simple complementarias a los extremos de la región de ADN a estudiar).

- **Secuenciación automática directa:**

Una vez amplificado y purificado el ADN, se llevó a cabo la secuenciación, utilizando los mismos cebadores que para la PCR. Este proceso consiste en copiar el proceso natural de replicación de nuestro ADN y se considera el método gold standard para el análisis de mutaciones puntuales. Está basado en el método desarrollado por Sanger en 1975. Una vez disponemos del ADN molde, se

desnaturaliza para obtener una cadena sencilla de ADN. Además, se requiere ADN cebador, ADN polimerasa, dNTP (desoxinucleótidos trifosfato) y ddNTP (didesoxinucleótidos trifosfato) modificados que carecen del grupo OH-3' terminal, por lo que detienen la polimerización de la replicación al no poderse formar el enlace fosfodiéster entre nucleótidos. El proceso consta de diferentes fases (**Figura III.1.**):

a) La muestra de ADN se divide en cuatro tubos de reacciones de secuenciación separadas que contienen los cuatro tipos de ddNTP (ddATP, ddGTP, ddCTP, o ddTTP), además se incluyen el resto de componentes moleculares ya nombrados.

b) Se inicia la reacción añadiendo los cebadores marcados y complementarios al extremo 3'-OH de la secuencia molde. La polimerización ocurre dirección 5' a 3'.

c) La cadena recién sintetizada se finaliza en el punto de la adición del ddNTP complementario y se generan fragmentos de ADN de diferentes tamaños. El tubo de ddATP genera fragmentos acabados en A, el tubo de ddTTP acabados en T, y así sucesivamente.

d) Para estudiar los diferentes fragmentos sintetizados en los cuatro tubos de reacción se desnaturalizan y se realiza una electroforesis en gel de poliacrilamida. Cada disolución se añade a diferentes carriles en el gel y se deja correr la electroforesis, así las muestras se separan según el tamaño y tipo de nucleótido en cada pocillo. La lectura del gel se comienza desde el extremo 3' (fragmentos más pequeños) hasta al extremo 5' (fragmentos más grandes). Esto nos proporciona la lectura correcta de la secuencia de ADN.

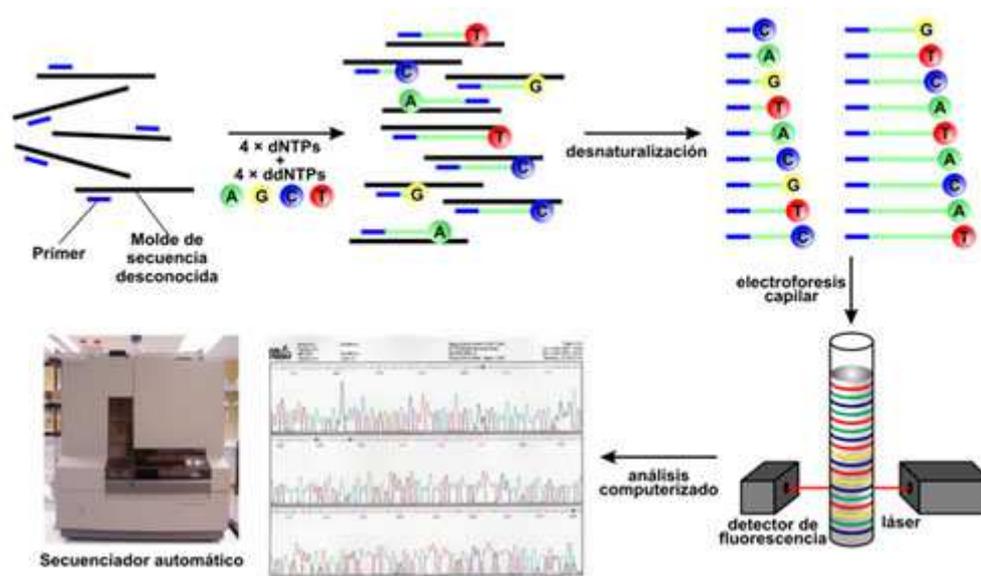


Figura III.1. Esquema de la secuenciación Sanger (281)

- **Análisis de grandes reordenamientos**

Se estima que aproximadamente el 10-20% de las alteraciones en la línea germinal responsables de los síndromes hereditarios de predisposición al cáncer se deben a LRG, que no son detectables mediante secuenciación de la región codificante del gen a estudio, por lo que se requiere de una técnica adicional, la *Multiplex Ligation Probe Amplification* (MLPA) (Figura III.2.).

Se trata de un método semicuantitativo, que se basa en la hibridación de sondas específicas contiguas que llevan incorporado un marcador fluorescente. Las sondas reconocen su diana específica e hibridan. Posteriormente son amplificadas por PCR utilizando cebadores que reconocen los adaptadores de las sondas y los fragmentos amplificados se someten a una electroforesis capilar. Cada caso a estudio se ensaya en paralelo con tres controles normales. De esta forma, integrando la intensidad de señal fluorescente de cada par de sondas, podemos establecer la ganancia (duplicación) o pérdida (delección) de material genético en la muestra.

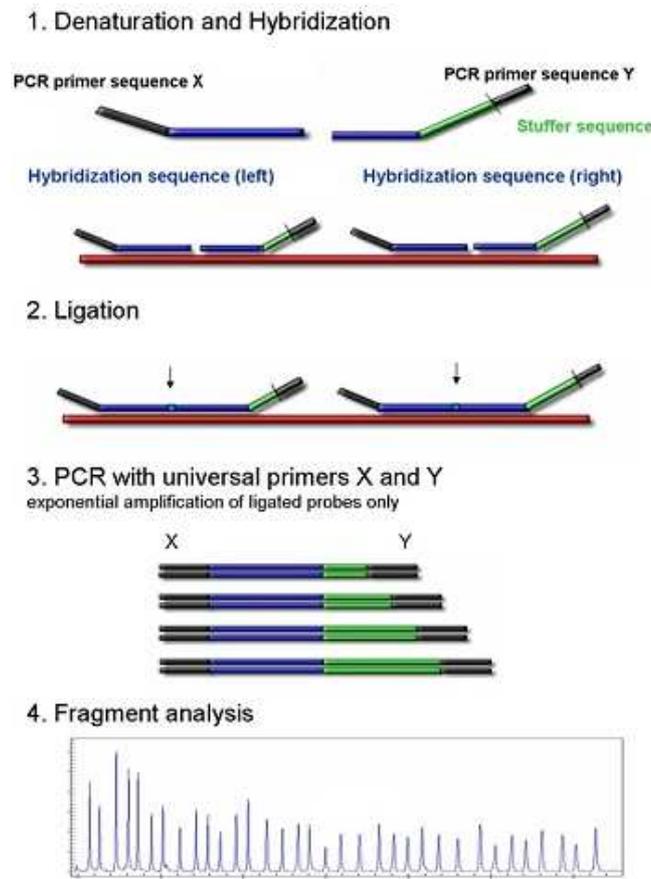


Figura III.2. Fases del proceso MLPA (*Multiplex Ligation Probe Amplification*) (281)

6.2.3. Fase post-analítica

Tras finalizar el estudio de mutaciones germinales, se procedió a la clasificación de las variantes encontradas. Para ello se consultó la evidencia disponible en la actualidad, mediante la búsqueda de información en bases de datos (**tabla I.17**), y el análisis mediante modelos funcionales y programas *in silico*. En base a ello las variantes se clasificaron en una de las cinco categorías de la ACMG: clase 1 o no patogénicas, clase 2 o probablemente no patogénicas, clase 3 o VUS, clase 4 o probablemente patogénicas y clase 5 o patogénicas.

7. Análisis estadístico

Todas las variables recogidas se han introducido en una base de datos con la identidad de las pacientes anonimizada. El análisis estadístico se ha realizado con el programa IBM SPSS Statistics v20 (SPSS Inc., Chicago, IL) con el apoyo de la Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia. El cierre de la base de datos para el estudio estadístico se realizó en Enero de 2016.

7.1. Análisis descriptivo

Para las variables cualitativas se realizó el cálculo de frecuencias absolutas y relativas y para las variables cuantitativas, el cálculo de la media, mediana, rango y desviación típica.

7.2. Análisis inferencial

Se ha utilizado un análisis bivalente, considerando diferencias estadísticamente significativas si $p < 0,05$.

Antes de realizar el contraste de hipótesis se ha comprobado la normalidad de las variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y la condición de homogeneidad de varianzas mediante el test de Levene. En función de estos resultados, la comparación entre una variable cuantitativa de distribución normal y otra cualitativa se realizó mediante la prueba estadística t-de Student si la variable cualitativa es dicotómica y mediante el análisis de varianza de una vía (test ANOVA) si la variable cualitativa tiene >2 categorías. En caso de no tener una distribución normal se han utilizado los tests no paramétricos U de Mann-Whitney (si la variable cualitativa es dicotómica) y de Kruskal-Wallis (si la variable cualitativa tiene >2 categorías).

Las comparaciones entre variables cualitativas se han llevado a cabo mediante tablas de contingencia (test de χ^2 y test de Fisher).

7.3. Análisis de supervivencia

Inicialmente se ha realizado un análisis univariante, calculando las medianas de SG, SLP e ILP mediante el método de Kaplan-Meier. Para la comparación estadística de supervivencia en función del resultado de cada una de las variables, se han utilizado el test de log-rank y el de Breslow.

Para conocer la asociación entre los diferentes factores con la supervivencia, posteriormente se ha realizado un análisis multivariante mediante el modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox, calculando el hazard ratio con su intervalo de confianza al 95%. Se han incluido como covariables todos aquellos factores que resultaron significativos en el análisis univariante.

Las diferencias se suponen estadísticamente significativas para valores de $p < 0,05$.

8. Consideraciones éticas

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

Al tratarse de un estudio observacional retrospectivo no intervencionista en el que no se llevó a cabo ningún procedimiento que no estuviera incluido en la práctica clínica habitual, y puesto que los datos recabados fueron tratados en todo momento de forma anónima, no se consideró necesario obtener de las pacientes incluidas el consentimiento informado.

IV. Resultados

IV. Resultados

1. Análisis descriptivo de las características clínico-patológicas de las pacientes valoradas en las UCG

En total, 87 pacientes diagnosticadas de CEO que cumplían criterios de síndrome genético de predisposición al cáncer fueron estudiadas en las UCG de la Región de Murcia entre Enero de 2008 y Enero de 2016.

Tres pacientes que habían sido diagnosticadas de una neoplasia germinal de ovario, y que cumplían el resto de criterios de inclusión, resultaron portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA1 y BRCA2. Sus datos se tuvieron en cuenta únicamente para el análisis descriptivo pero no se incluyeron en el análisis de supervivencia.

1.1. Características clínicas

La media de edad de la muestra fue de 46,68 años con un máximo de 79 y un mínimo de 13 años. La mediana de edad al diagnóstico se sitúa en 46 años (P₂₅-P₇₅): (37,55).

Con respecto a la distribución por edad, más de la mitad de las pacientes tiene entre 35-50 años y sólo el 11,1% (10 pacientes), tiene >65 años (**Tabla y Figura IV.1.**).

Edad	n	%	% acumulado
<35 años	15	16,7	16,7
35-50 años	48	53,3	70,0
51-65 años	17	18,9	88,9
>65 años	10	11,1	100,0

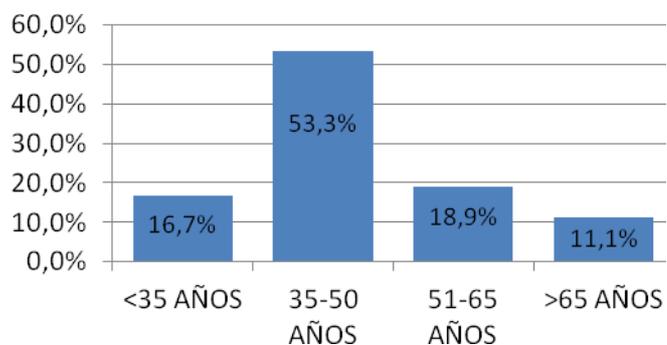


Tabla y figura IV.1. Distribución de pacientes según grupo de edad

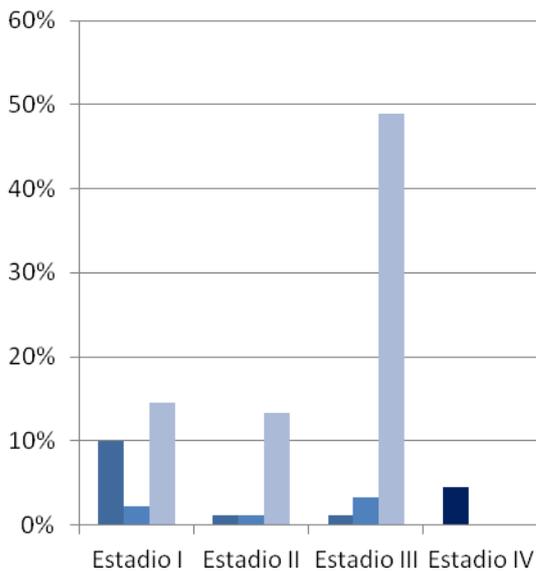
IV. Resultados

En cuanto a la situación funcional de las pacientes en el momento del diagnóstico, 20 (22,2%) presentaban un ECOG 0, 63 (70%) presentaban un ECOG 1 y 7 pacientes (7,8%) presentaban un ECOG 2.

1.2. Enfermedad tumoral

1.2.1. Estadio al diagnóstico

La mayor parte de las pacientes presentaba un estadio tumoral (FIGO) avanzado en el momento del diagnóstico. La distribución de pacientes según el estadio tumoral fue la siguiente: 24 pacientes (26,7%) presentaban un estadio I, 14 pacientes (15,5%) un estadio II, 48 pacientes (53,3%) tenían un estadio III y 4 (4,5%) un estadio IV (Tabla y Figura IV.2.).



Estadio (FIGO)	N	%	% acumulado
Estadio I	24	26.7	26,7
IA	9	10	
IB	2	2.2	
IC	13	14.5	
Estadio II	14	15.5	42,2
IIA	1	1.1	
IIB	1	1.1	
IIC	12	13.3	
Estadio III	48	53.3	95,5
IIIA	1	1.1	
IIIB	3	3.3	
IIIC	44	48.9	
Estadio IV	4	4.5	100

Figura y Tabla IV.2. Distribución de las pacientes según el estadio tumoral al diagnóstico.

1.2.2. Histología tumoral

En lo referente al estudio anatómico-patológico, de todas las pacientes incluidas en la muestra, 87 (96,7%) fueron diagnosticadas de un CEO y 3 pacientes (3,3%) fueron

diagnosticadas de una neoplasia germinal de ovario (dos de un disgerminoma ovárico y una de un teratoma inmaduro).

La proporción de los diferentes subtipos histológicos dentro del grupo de pacientes con carcinoma epitelial de ovario fue la siguiente: 60 pacientes (66,7%) presentaban un carcinoma seroso-papilar, 13 pacientes (14,4%) presentaban un carcinoma endometriode, 6 pacientes (6,7%) presentaban un carcinoma de células claras y 8 pacientes (8,9%) presentaban un carcinoma mucinoso (**Figura IV.3.**).

Con respecto al grado histológico, la mayoría de las pacientes presentaba un carcinoma pobremente diferenciado. La distribución según el grado histológico fue la siguiente: 10 pacientes (11,5%) presentaban un grado 1, 19 pacientes (21,8%) presentaban un grado 2, 57 pacientes (65,5%) presentaban un grado 3.

Atendiendo a la clasificación dual del grado histológico, el 11,5% de las pacientes presentó un bajo grado histológico, frente al 88,5% que presentó un alto grado histológico.

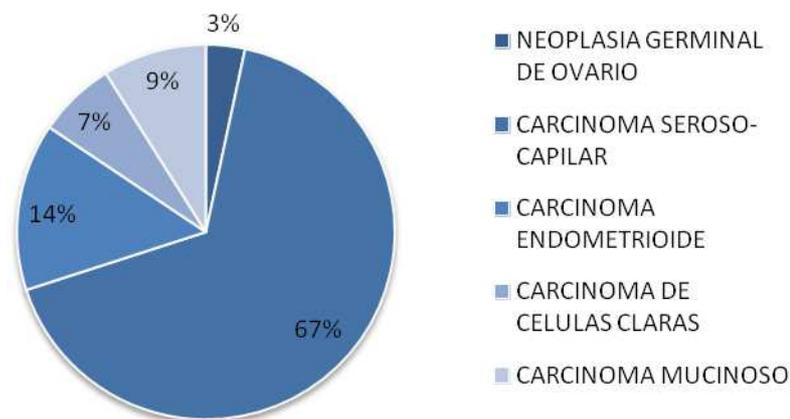


Figura IV.3. Tipo histológico al diagnóstico.

IV. Resultados

1.3. Diagnóstico de otras neoplasias

Treinta y tres pacientes (36,7%) presentaron otras neoplasias primarias además del carcinoma de ovario. La más frecuente fue el cáncer de mama, presente en 22 pacientes (24,4%) y en tres de éstas fue además bilateral. El resto fueron adenocarcinomas de endometrio, de colon, carcinomas uroteliales de vejiga, melanomas, carcinomas epidermoides cutáneos y linfoma no Hodgkin (**Tabla IV.3.**).

Las pacientes que desarrollaron más de una neoplasia, lo hicieron de forma metacrónica en la mayor parte de los casos (28 pacientes, 85%) y sólo 5 pacientes (15%) lo hicieron de forma sincrónica (cuatro casos de adenocarcinoma de endometrio y un caso de cáncer de mama). Cinco pacientes (15%) desarrollaron más de dos neoplasias.

Localización de otros tumores primarios		N (% con respecto al total)
Mama		22 (24,4%)
Carcinoma ductal in situ	1	
Carcinomas infiltrantes:		
▪ Triple negativo	9	
▪ Luminal	12	
Colon		5 (5,6%)
Endometrio		4 (4,4%)
Vejiga (urotelial)		2 (2,2%)
Melanoma		2 (2,2%)
Carcinoma epidermoide cutáneo		1 (1,1%)
Linfoma No Hodgkin		1 (1,1%)

Tabla IV.3. Localización de otras neoplasias

2. Análisis descriptivo de las variantes génicas detectadas en las pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario con criterios de estudio genético

Tras llevar a cabo el estudio genético dirigido en función de los criterios descritos anteriormente, se encontraron variantes genéticas patogénicas o de significado clínico desconocido en 60 pacientes (66,7%). En 49 pacientes (54,4%) se objetivó una mutación genética en BRCA1/BRCA2, 8 pacientes (8,9%) presentaron una mutación en un gen MMR, 2 pacientes (2,2%) en RAD51 D y una paciente (1,1%) en RAD51C (Figura IV.4. y Tabla IV.4.).

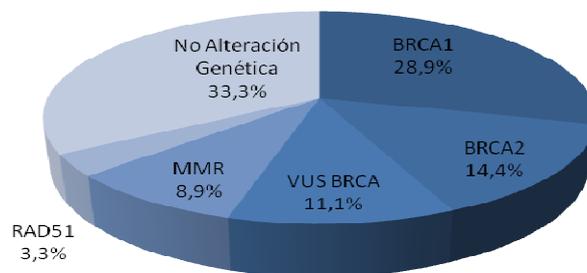


Figura IV.4. Variantes génicas detectadas en las pacientes

Mutación germinal	n	%	% acumulado
BRCA1	29	32,2	32,2
-Mutación patogénica	26	28,9	
-VUS	3	3,3	
BRCA2	20	22,2	54,4
-Mutación patogénica	13	14,4	
-VUS	7	7,8	
MSH2	7	7,8	62,2
MSH6	1	1,1	63,3
RAD51C	1	1,1	64,4
RAD51D	2	2,2	66,6
Sin mutación detectada	30	33,3	100

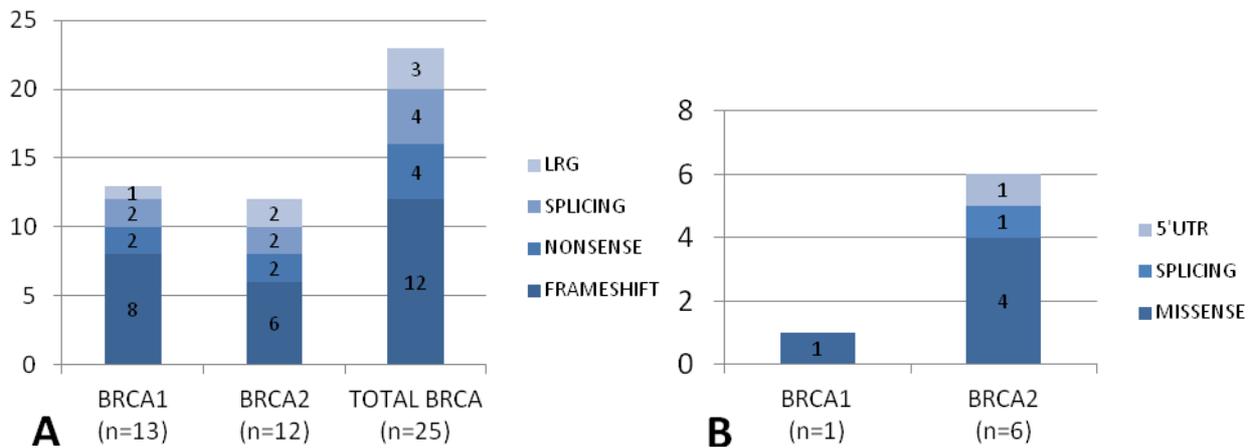
Tabla IV.4. Localización de las variantes génicas detectadas en las pacientes.

IV. Resultados

2.1 Variantes en genes BRCA

De las 49 pacientes portadoras de mutaciones en BRCA, 39 (80%) presentaron una variante patogénica. Se describieron 25 variantes patogénicas distintas, 13 (52%) en BRCA1 y 12 (48%) en BRCA2.

En lo que respecta al tipo de mutación, 14 (56%) se correspondían con mutaciones frameshift, 4 (16%) con mutaciones nonsense, 4 (16%) con variantes de splicing y 3 (12%) con LRG en el gen BRCA2 (**Figura IV.5. A**).



**Figura IV.5. A) Tipos de mutación patogénica en los genes BRCA1 y BRCA2.
B) Tipos de VUS en los genes BRCA1 y BRCA2.**

En 10 pacientes se objetivó una VUS (3 casos en el gen BRCA1 y 7 en BRCA2). Tras llevar a cabo el estudio de patogenicidad postanalítico, dos variantes en BRCA1 y una en BRCA2 se catalogaron como clase 1 de la ACMG (no patogénicas): dos variantes sinónimas (que no producen cambio de aminoácido) y una variante missense. El resto fueron clasificadas como variantes clase 3 (de significado clínico desconocido) (**Figura IV.5. B**).

2.1.1. Mutaciones patogénicas de BRCA1

Variante	Exón/ intron	Tipo	N (%)	Edad (media)	AP	G	Estadio	Otros tumores
c.68_69delAG (p.Glu23Valfs)	2	frames hift	3 (3.3)	58	seroso	G3	IIIC	-
c.212+1G>A	1-5	splicing	4 (4.4)	42	seroso	G2x2 G3x2	ICx2 IIICx2	Mamax2
c.835delC (p.His279Metfs)	11	frames hift	2 (2.2)	413	endomet seroso	G2 G3	IIIC	Endometrio
c.1224_1225insA (p.Val409Serfs*)	11	frames hift	1 (1.1)	38	Seroso	G3	IIIC	-
c.1912delG (pGlu638Asnfs)	11	frames hift	3 (3.3)	49	seroso	G3 G2	ICx1 IIICx2	Mamax1
c.1918C>T (p.Gln640Ter)	11	nonsen se	2 (2.2)	53.5	seroso	G3 G2	IIA IIIC	Mamax1 Melanomax1
c.2410C>T (pGln804X))	11	nonsen se	2 (2.2)	42	Seroso	G3	IIIC	-
c.3331_3334delCAA G (p.Gln1111fsX1115)	11	frames hift	2 (2.2)	50.5	seroso	G2 G3	IC IIIC	Mamax1
c.3583delC (p. H1195fsX1209)	11	frames hift	3 (3.3)	42	seroso	G3	IIIC	-
c.3770_3771del2 (p.Glu1257fsX1265)	11	frames hift	1 (1.1)	26	teratom a	-	IA	-
c.2285_2286delGA (p.Arg762fsX766)	11	frames hift	1 (1.1)	49	serosos	G3	IIIC	-
Del ex 10-14	10-14	LRG	1 (1.1)	47	seroso	G2	IIIC	-
c.5123C>A (p.Ala1708Glu)	18	splicing	1 (1.1)	59	seroso	G3	IIIC	-

Tabla IV.5. Mutaciones patogénicas en BRCA1

IV. Resultados

En total, 26 pacientes presentaron una mutación patogénica en BRCA1 (**Tabla IV.5.**). La edad media de diagnóstico de cáncer de ovario fue de $47\pm 11,5$ años, con un mínimo de 26 y un máximo de 75 años.

El fenotipo asociado en la mayor parte de los casos fue de carcinoma seroso de alto grado, salvo en un caso en el que la paciente desarrolló un carcinoma endometriode de ovario G2 asociado a carcinoma de endometrio estadio IIB FIGO (en una portadora de la variante c.835delC) y un caso de tumor germinal (teratoma inmaduro) en una paciente portadora de la variante patogénica c.3770_3771del2.

Las características clínicas de las portadoras de variantes patogénicas de BRCA1 quedan resumidas en la **Tabla IV.6.**

Característica clínica:	n	(%)
Tipo histológico:		
• Seroso	24	92,3
• Endometriode	1	3,8
• Germinal	1	3,8
Grado histológico		
• G3	18	69,2
• G2	7	26,9
Estadio FIGO:		
• I-II	6	23,1
• III-IV	20	76,9
Otros tumores:		
• Mama	5	19,2
• Melanoma	1	3,8
• Endometrio	1	3,8

Tabla IV.6. Características clínicas de las pacientes con mutación patogénica de BRCA1.

Las mutaciones patogénicas más prevalentes en nuestra población fueron: c.212+1G>A en 4 mujeres (4,4%) y c.68_69del AG, c.3583delC y c.1912_1912delG en 3 mujeres cada una (3,3%). Estas cuatro variantes fueron responsables del 50% de las mutaciones en BRCA1. Además en una paciente se encontró una variante patogénica no descrita previamente (c.1224_1225insA). A continuación se describen las principales características asociadas a estas mutaciones.

- **c.212+1G>A**

Se trata de una sustitución de una Guanina por Adenina en la primera base del intrón 5, lo que da lugar a una forma aberrante de unión de splicing, que a su vez genera un codón de parada, produciendo una proteína truncada con pérdida de dominios fundamentales de la proteína.

Las pacientes portadoras proceden de cuatro familias distintas. La media de edad al diagnóstico de cáncer de ovario es de 42 años, en todos los casos de histología seroso-papilar. Dos de las cuatro pacientes afectadas fueron diagnosticadas además de un cáncer de mama (un triple negativo a los 64 años y un luminal B a los 37 años).

- **c.68_69del AG**

Es una variante frameshift situada en el exón 2, que produce un codón de parada prematuro, produciendo una proteína truncada.

La edad media al diagnóstico de cáncer de ovario es de 58 años, con histología seroso-papilar y ninguna de las pacientes ha desarrollado otro tipo de tumores.

- **c.3583delC**

Se trata de una variante patogénica tipo frameshift situada en el exón 11 que da lugar a la introducción de codón de parada con pérdida del dominio BRCT, lo que afecta a la función reparadora de ADN de la proteína.

IV. Resultados

La edad media al diagnóstico en nuestras pacientes portadoras es de 42 años, de histología seroso papilar y ninguna de ellas ha desarrollado cáncer de mama ni otro tipo de neoplasia.

- **c.1912delG**

Es una variante frameshift en la que la delección de una base Guanina en el exón 11 produce un codón de parada, dando lugar a una proteína truncada.

En nuestra región se ha descrito en una sola familia, que se caracteriza por presentar una alta agregación de cáncer de ovario (6 mujeres de la familia han desarrollado cáncer de ovario seroso de alto grado, de las cuales tres fallecieron antes de poder realizar el estudio genético). Únicamente una de las portadoras desarrolló un cáncer de mama a los 40 años. La media de edad de presentación del cáncer de ovario en las pacientes estudiadas es de 49 años.

- **c.1224_1225insA**

Esta variante frameshift provoca mediante la inserción de una Adenina, el cambio del aminoácido Valina por Serina en la posición 409 de la proteína, generando un codón de parada prematuro, que se traduce en la síntesis de una proteína truncada con pérdida del 78% de los aminoácidos de la misma. Esta mutación no aparece descrita ni en las bases de datos ni en publicaciones.

La paciente portadora desarrolló un carcinoma de ovario seroso de alto grado a los 38 años de edad, y carece de antecedentes familiares de cáncer de mama. Su abuela y una tía paterna fueron diagnosticadas de cáncer de ovario a los 50 años y su padre fue diagnosticado de un cáncer de pulmón a los 80 años.

2.1.2. Mutaciones patogénicas en BRCA2

La media de edad al diagnóstico de cáncer de ovario fue $49,3 \pm 17,3$ años, con un mínimo de 13 y un máximo de 73 años. Todas las pacientes desarrollaron un carcinoma

seroso de ovario, salvo en dos casos que presentaron un disgerminoma ovárico a los 13 y 19 años (portadoras de las variantes c.1608dupT y c.9310_9311delAA respectivamente). Eliminando estos dos casos la media de edad al diagnóstico fue de 52 años (DE 11,82, mínimo 26 y máximo 73 años). Las principales características clínico-patológicas de las pacientes quedan resumidas en la **Tabla IV.7.**

Característica clínica:	n	(%)
Tipo histológico:		
• Seroso	11	84,6
• Germinal	2	15,4
Grado histológico		
• G3	10	76,9
• G2	1	7,7
Estadio FIGO:		
• I-II	1	7,7
• III-IV	12	92,3
Otros tumores:		
• Mama	8	61,5
• Colon	1	7,7

Tabla IV.7. Características clínicas de pacientes portadoras de mutación patogénica en BRCA2.

La única mutación presente en más de una paciente fue **c. 9117G>A**, variante de splicing situada en exón 23, que da lugar a una proteína BRCA2 con alteración de los dominios de unión a ADN y RAD 51D, con lo cual la función de la misma queda alterada. Las dos portadoras fueron diagnosticadas de carcinoma de ovario seroso moderado y pobremente diferenciado a los 49 y 59 años respectivamente, y ambas desarrollaron también cáncer de mama (una de ellas bilateral metacrónico a los 51 y 59 años y otra triple negativo a los 60 años).

Del resto de variantes merece la pena señalar, por ser una de las más prevalentes en nuestra región en pacientes diagnosticadas de SCMOH, la **deleción del exón 2**. La portadora de esta mutación presentó un carcinoma de ovario seroso de alto grado a los 67 años y posteriormente un carcinoma de mama bilateral metacrónico a los 74 y 82 años (subtipos Her2+ y fenotipo luminal) (**Tabla IV.8.**).

IV. Resultados

Variante	Exón/ intron	Tipo	N (%)	Edad (mediana)	AP	G	Esadio	Otros tumores
Del ex 2	2	LRG	1 (1,1)	67	Seroso	G3	IIIC	Mama
c.1608dupT (p.Glu537Terfs)	10	frameshift	1 (1,1)	13	Disgerminoma	-	IC	Mama
c.2701delC (p.Ala902Leufs)	11	frameshift	1 (1,1)	43	Seroso	G3	IIIC	Mama
c.3264dupT (p.Gln1089SerfsX10)	11	frameshift	1 (1,1)	54	Seroro	G3	IIIC	-
C.3455T>G (p.Leu1152Ter)	11	nonsense	1 (1,1)	48	Seroso	G3	IIIC	-
c.4963delT (p.Tyr1655ThrfsX15)	11	frameshift	1 (1,1)	73	Seroso	G3	IIIC	Mama
c.4965C>A (p.Tyr1655Ter)	11	nonsense	1 (1,1)	56	Seroso	G3	IIIC	-
c.5720_5723delCTCT (p.Ser1907Terfs)	11	frameshift	1 (1,1)	64	Seroso	G3	IIIC	-
c.7007G>A (p.Arg2336His)	13	splicing	1 (1,1)	44	Seroro	G3	IIIC	-
Del ex 21	21	LRG	1 (1,1)	49	Seroso	G3	IV	Mama
c. 9117G>A (p.Pro3039=)	23	splicing	2 (2,2)	54	Seroso	G3 G2	IIIC	Mama x2
c.9310_9311delAA (p.Lys3104Valfs)	25	frameshift	1 (1,1)	19	Disgerminoma	-	IIIC	Colon Mama

Tabla IV.8. Mutaciones patogénicas en BRCA2.

2.1.3. Mutaciones de significado clínico incierto de BRCA1

Tres pacientes presentaron una mutación de significado clínico incierto en BRCA1. En el estudio post-analítico para estimar la patogenicidad de las mismas, sólo la variante c.946A>G, se clasifica como clase 3 de ACMG (variante de significado clínico desconocido). Las otras dos (una variante sinónima y otra missense) se re-clasificaron como variantes clase 1 (no patogénicas). (Tabla IV.9.)

La variante c.946A>G da lugar a un cambio de aminoácido Serina por Glicina. Diferentes programas de predicción in silico le asocian una patogenicidad entre el 30 y 88%. La paciente portadora fue diagnosticada a los 65 años de un carcinoma de mama fenotipo luminal, a los 71 años de un carcinoma urotelial vesical superficial, a los 73 años de un carcinoma seroso papilar G1 de ovario derecho estadio IA y a los 74 años de un adenocarcinoma de sigma estadio I. Como antecedentes familiares destaca la presencia de una hermana diagnosticada de cáncer de mama a los 60 años, fallecida, por lo que no se pudo realizar estudio de co-segregación.

Variante	Exón/ intron	Tipo	N	Clasificación ACMG	Edad	AP	G	Estdio	Otros tumores
c.946A>G (p.Ser316Gly)	11	missense	1	Clase 3	71	Seroso	G1	IA	Mama Vejiga Colon
c.1067A>G (p.Gln356Arg)	11	missense	1	Clase 1	54	Seroso	G4	IIIC	Mama
c.5100A>G (p.Thr1700=)	18	sinónima	1	Clase 1	50	Mucinoso	G2	IIIC	-

Tabla IV.9. Mutaciones de significado clínico desconocido en BRCA1.

2.1.4. Mutaciones de significado clínico incierto de BRCA2

En total en siete pacientes se halló una variante de significado clínico incierto en BRCA2. Tras realizar el estudio para clasificarlas según la patogenicidad, seis de ellas fueron encuadradas dentro de la clase 3 (variables de significado clínico desconocido) y una de ellas (variante sinónima) dentro de la clase 1 (no patogénicas). (Tabla IV.10.).

IV. Resultados

Variante	Exón/ intron	Tipo	N	Clasificación ACMG	Edad	AP	G	Estadio	Otros tumores
c.-75C>G	I-1	5'UTR	1	Clase 3	24	Mucinoso	G1	IC	-
c.1876G>A (p.Glu626Lys)	10	Missense	1	Clase 3	42	Seroso	G3	IA	-
c.3302A>G (p.His1101Arg)	11	Missense	1	Clase 3	24	Células claras	G3	IA	-
c.5027G>A (p.Ser1676Asn)	11	Missense	1	Clase 3	45	Endometrioide	G3	IIC	-
c.7559G>T (p.Arg2520Leu)	15	Missense	1	Clase 3	25	Endometrioide	G3	IA	-
c.9065A>G (p.Glu3021Glu)	23	Sinónima	1	Clase 1	49	Endometrioide	G1	IA	Mama
c.9117+43C>T	I23	Splicing	1	Clase 3	70	Seroso	G3	IIIC	Mama

Tabla IV.10. Mutaciones de significado clínico incierto BRCA2

2.2. Variantes detectadas en genes MMR

En total 8 mujeres (8,9%) fueron diagnosticadas de síndrome de Lynch. En 7 (7,8%) de ellas se objetivó mutación en el gen MSH2. Sólo una paciente presentó mutación en MSH6 (1,1%).

La media de edad al diagnóstico fue de 43 años (DE 8,59), con máximo de 56 y mínimo de 29 años. Dos de las 8 pacientes presentaron una histología seroso-papilar. Las principales características clínico-patológicas de las pacientes con síndrome de Lynch se resumen en la **Tabla IV.11.**

Característica clínica	N (%)
Estadio	
-I-II	5 (62,5%)
-III-IV	3 (37,5%)
Tipo histológico	
-Endometriode	5 (62,5%)
-Seroso	3 (37,5%)
Grado histológico	
-G1-G2	4 (50%)
-G3-G4	4 (50%)
Otros tumores	
- Colon	2
- Endometrio	4
- Mama	1

Tabla IV.11. Características clínicas de pacientes diagnosticadas de síndrome de Lynch.

Se encontraron cuatro variantes patogénicas distintas en el gen MSH2: dos variantes de splicing, una frameshift y una delección de tres exones (LRG). En MSH6 se encontró una variante nonsense. (Tabla IV.12.).

Variante	Exón/ Intron	Tipo	N (%)	Edad	AP	G	Estadio	Otros tumores	Criterios diagnósticos	IHQ/IMS
MSH2 c.942+2delT (p.Val265_Gln314del)	I-5	splicing	1 (1,1)	29	Seroso	G3	IIIC	-	Bethesda Alto riesgo SCMOH	Ausencia expresión MSH2/MSH6
MSH2 c.1511-1G>A	I-9	splicing	2 (2,2)	40,5	Endomet	G2	IC IIIA	Endometrio IA Colon x2	Amsterdam x2	IMS-H (colon)
MSH2 c.731_734dupTGTT (p.Leu245Phefs*12)	4	frameshift	3 (3,3)	44,3	Endomet	G2x2 G3	IC, IB, IIA	Endometrio IA x2	Bethesda	Ausencia expresión MSH2/MSH6 x2
MSH2 Del exón 3-5	3-5	LGR	1 (1,1)	56	Seroso	G3	IIIC	-	Amsterdam	NR
MSH6 c.2731C>T (p.Arg911Ter)	4	nonsense	1 (1,1)	45	Seroso	G3	IC	Endometrio Mama	Bethesda Alto riesgo SCMOH	IMS-H Ausencia expresión MSH6

Tabla IV.12. Mutaciones patogénicas en MSH2 y MSH6. NR: no realizado

IV. Resultados

Las variantes más prevalentes en nuestra población fueron c.731_734dupTGTT y c.1511-1G>A, ambas en MSH2, presentes en 3 (3,3%) y 2 (2,2%) pacientes respectivamente.

- **c.731_734dupTGTT**

Se trata de una duplicación de 4 bases consecutivas localizadas en las posiciones 731 y 734 (ambas incluidas) de la secuencia codificadora del gen MSH2 (exón 4). Esta alteración altera la secuencia de aminoácidos de la proteína MSH2 e introduce un codón de parada prematuro.

Las tres pacientes que presentaron la mutación pertenecían a distintas familias, y todas ellas desarrollaron un adenocarcinoma endometriode de ovario en estadio precoz. Además dos de ellas se diagnosticaron de forma sincrónica de una adenocarcinoma de endometrio estadio IA.

- **c.1511-1G>A**

Esta variante consiste en un cambio de base guanina por adenina en la posición 1511 (intron 9), lo que modifica la secuencia consenso situada en el extremo 3' del intrón 9 que impide la correcta maduración del ARNm.

Las dos pacientes portadoras, pertenecientes a distintas familias, desarrollaron cáncer de ovario endometriode moderadamente diferenciado en estadios IC y IIIA a los 45 y 36 años respectivamente. La primera de ellas se diagnosticó de un adenocarcinoma sincrónico de endometrio estadio IA y ambas fueron diagnosticadas además de un adenocarcinoma de colon metacrónico (a los 47 y 46 años respectivamente). Ambas familias cumplían criterios de Amsterdam II.

2.3. Variantes detectadas en RAD51C

En una de las pacientes estudiadas se detectó la variante missense c.404G>A (p.Cys135Tyr) en el gen RAD51C, que produce un cambio de aminoácido Cisteína a

Tirosina en la posición 135 del exón 2, dando lugar a un transcrito alterado que da lugar a un splicing aberrante y además produce una proteína no funcional.

La paciente portadora fue diagnosticada de un cáncer de mama medular triple negativo a los 67 años, un carcinoma seroso-papilar de ovario de alto grado estadio IC a los 72 años, dos carcinomas epidermoides cutáneos metacrónicos (en dorso de la mano a los 72 años y en el párpado a los 75 años) y finalmente de un linfoma no Hodgkin marginal esplénico estadio IVB a los 76 años, edad en la que falleció. En su historia familiar destaca la ausencia de antecedentes de cáncer de mama y/u ovario aunque hay historia de otras neoplasias asociadas a mutaciones de RAD51 C, como son dos casos de cáncer de páncreas en familiares de primer grado (su madre a los 77 y su hermana a los 64 años) y un carcinoma epidermoide de laringe en un hermano a los 62 años.

2.4. Variantes detectadas en RAD51D

En dos pacientes pertenecientes a una misma familia, se halló la mutación se halló la mutación c. 694C>T en el gen RAD51D (p.Arg232X). Se trata de una mutación nonsense, situada en el exón 8, que produce un codón de parada prematuro, dando lugar a una pérdida del 30% de la proteína.

Ambas mujeres son hermanas, diagnosticadas a los 46 y 47 años de cáncer de ovario mucinoso-papilar estadio IB FIGO y seroso papilar moderadamente diferenciado estadio IIA, respectivamente. En sus antecedentes familiares destaca el diagnóstico de un tumor cerebral en su padre 59 años.

Ambas mujeres son portadoras a su vez, de una variante missense de significado clínico incierto en el exón 8 del mismo gen (c.715C>T p. Arg239Trp).

3. Análisis bivariante, comparativo de las características clínico-patológicas en función del resultado del estudio genético

En este apartado comparamos si existen diferencias en las distintas variables clínico-patológicas (edad al diagnóstico, histología, grado histológico, estadio tumoral y presencia de otras neoplasias) en función del resultado del estudio genético realizado. Para ello se han considerado cinco categorías: pacientes con mutación patogénica en BRCA1 o BRCA2 (grupo BRCA+), pacientes portadoras de VUS en BRCA 1/BRCA 2 (grupo VUS), pacientes diagnosticadas de síndrome de Lynch (grupo Lynch), pacientes portadoras de una mutación patogénica en RAD51C o RAD51D (grupo RAD) y pacientes con resultado genético en las que no se ha identificado una variante génica patogénica o VUS (grupo Alto Riesgo). Las tres pacientes portadoras de una VUS en BRCA del tipo clase 1 de la clasificación ACMG se han incluido dentro del grupo Alto riesgo.

Para el análisis de la edad al diagnóstico, grado histológico y estadio tumoral se excluyeron las tres pacientes diagnosticadas de tumor germinal de ovario, al ser ésta una entidad distinta al carcinoma de ovario epitelial, que se diagnostica con más frecuencia en mujeres jóvenes y habitualmente en estadios precoces, lo que supone un sesgo que puede repercutir en los resultados. Sí se han tenido en cuenta a la hora de analizar la distribución de las diferentes histologías en las categorías resultantes del estudio genético y en lo que respecta a la presencia de otros tumores.

3.1. Edad al diagnóstico

Al comparar la edad al diagnóstico entre las diferentes categorías en función del resultado del test genético, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,05$) (**Tabla IV.13. y Figura IV.6.**).

Edad	Media	Mediana	DE	IC 95%	Mínimo	Máximo
BRCA+ (n= 36)	51,36	49	10,79	47,71-55,01	36	75
Lynch (N=8)	43	45	8,58	35,82-50,18	29	56
RAD51 (n=3)	55,33	47	15,31	17,31-93,36	46	73
VUS BRCA (n=7)	38,43	39	16,27	23,09-53,76	24	70
Alto Riesgo (n=33)	45,91	45	13,62	41,08-50,7	19	79

Test	p valor
Kruskal Wallis	0,05

Tabla IV.13. Estadísticos para la edad al diagnóstico en las diferentes categorías.

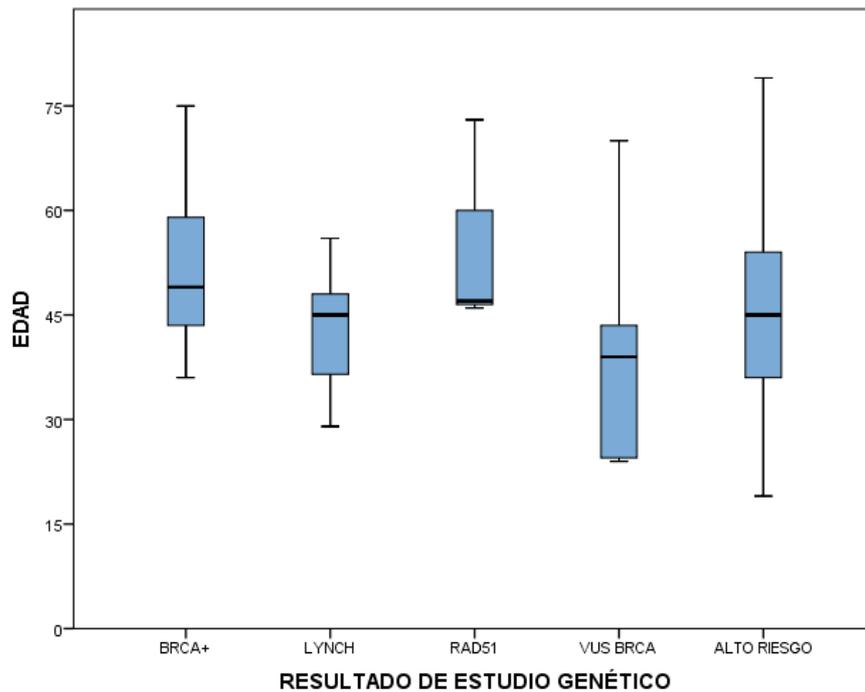


Figura IV.6. Edad al diagnóstico en las diferentes categorías.

IV. Resultados

Dentro de las pacientes portadoras de mutaciones en BRCA, no se observaron diferencias significativas en la edad al diagnóstico entre portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 ($p=0,166$) (Tabla IV.14. y Figura IV.7.).

Edad	Media	Mediana	DE	IC 95%	Mínimo	Máximo
BRCA1 (n=26)	49,88	47,5	10,81	45,52-54,25	36	75
BRCA2 (n=10)	55,2	52,5	10,28	47,84-62,56	43	76

Test	p valor
U Mann Whitney	0,166

Tabla IV.14. Estadísticos para la edad en las portadoras de mutación en BRCA.

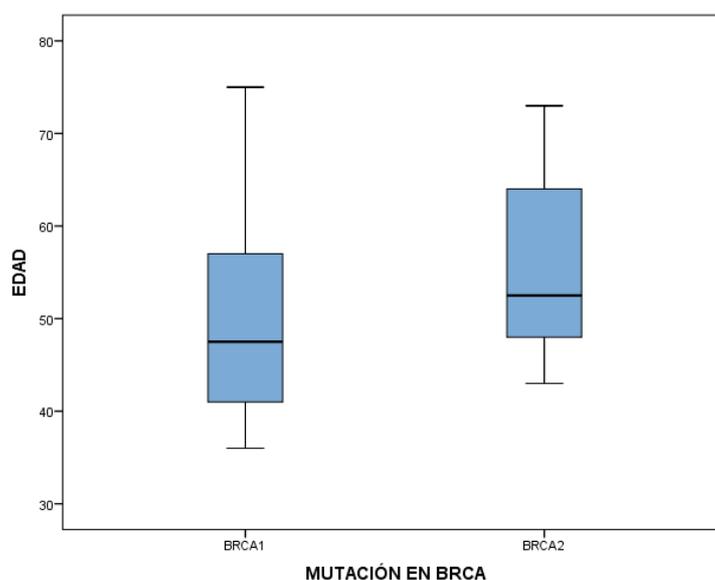


Figura IV.7. Edad al diagnóstico en portadoras de mutación en BRCA

3.2. Histología tumoral

Al estudiar la distribución de la histología tumoral en las distintas categorías según el resultado del estudio genético, comprobamos que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), con una mayor proporción de carcinomas

serosos en el grupo BRCA+ (89,7%) y de carcinomas endometrioides en el grupo con síndrome de Lynch (62,5%). (Tabla IV.15. y Figura IV.8.).

Histología	Seroso (n,%)	Endometrioide (n,%)	Células Claras (n,%)	Mucinoso (n,%)	Germinal (n,%)
BRCA+ (n= 39)	35 (89,7%)	1 (2,6%)	0	0	3 (7,7%)
Lynch (N=8)	3 (37,5%)	5 (62,5%)	0	0	0
RAD51 (n=3)	2 (66,7%)	0	0	1 (33,3%)	0
VUS BRCA (n=7)	2 (28,6%)	2 (28,6%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)	0
Alto Riesgo (n=33)	18 (54,5%)	5 (15,2%)	4 (12,1%)	6 (18,2%)	0

Test	p valor
Chi cuadrado	<0,001

Tabla IV.15. Distribución de la histología tumoral en las diferentes categorías

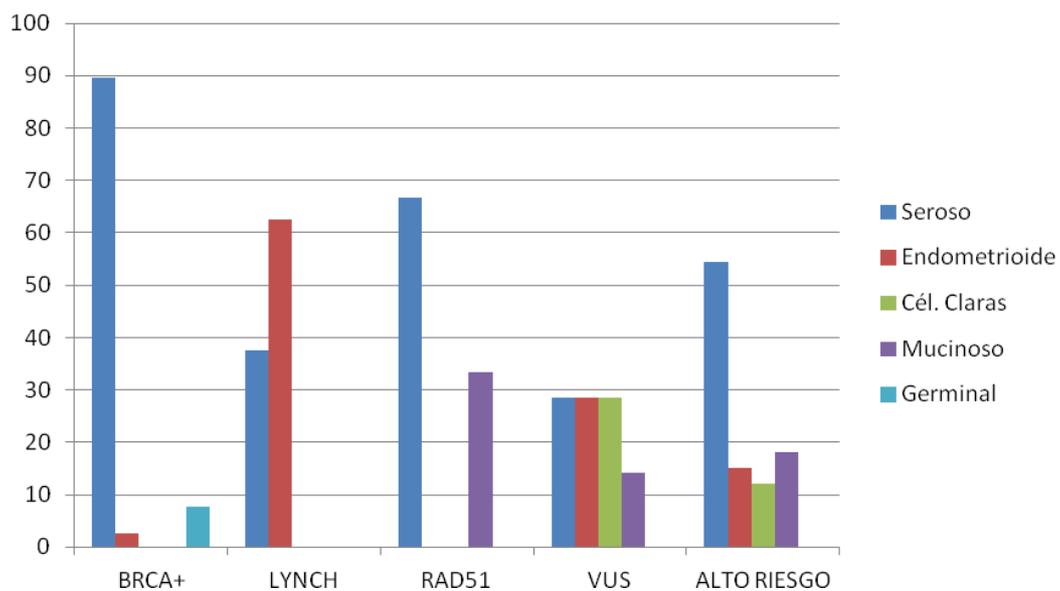


Figura IV.8. Diagrama de barras para la histología tumoral según categoría.

IV. Resultados

3.3. Grado histológico

Los tumores más frecuentes en todas las categorías fueron los de alto grado. Las pacientes del grupo de alto riesgo y las portadoras de VUS de BRCA, presentaron con mayor frecuencia carcinomas de bajo grado. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución del grado histológico en las diferentes categorías según el resultado del estudio genético (**Tabla IV.16.** y **Figura IV.9.**).

Grado histológico	Bajo Grado (n, %)	Alto Grado (n,%)
BRCA+ (n= 36)	1 (2,8%)	35 (97,2%)
Lynch (N=8)	0	8 (100%)
RAD51 (n=3)	0	3 (100%)
VUS BRCA (n=7)	2 (20%)	8 (80%)
Alto Riesgo (n=33)	7 (23,3%)	23 (76,7%)

Test	p valor
Chi cuadrado	0,069

Tabla IV.16. Distribución del grado histológico en las diferentes categorías.

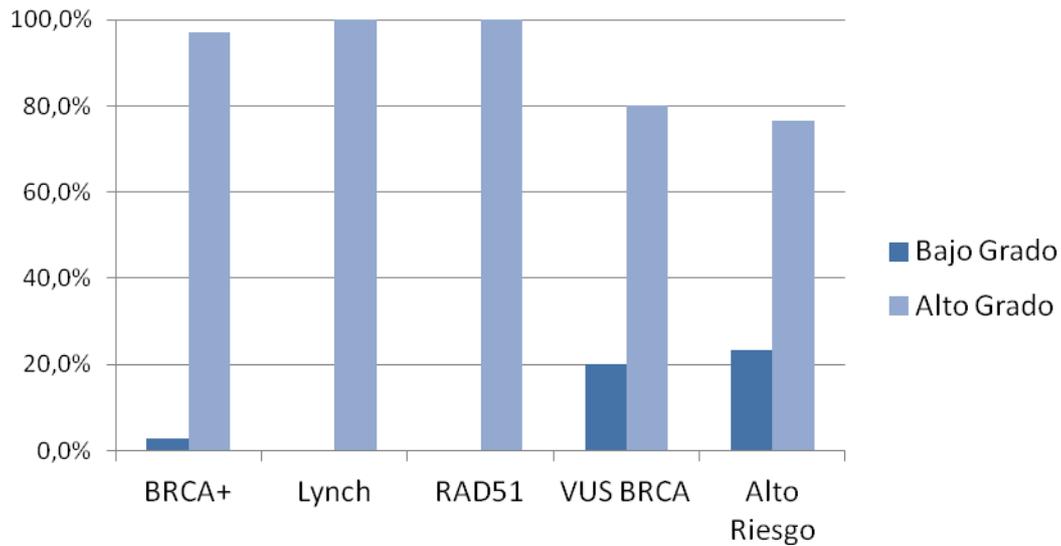


Figura IV.9. Diagrama de barras para el grado histológico por categoría.

3.4. Estadio al diagnóstico

Para el análisis del estadio tumoral, se ha reagrupado esta variable en dos categorías: estadios precoces (I-II) y estadios avanzados (III-IV). La mayoría de las pacientes del grupo BRCA+ se diagnostican con mayor frecuencia en estadios avanzados (80,6%), con respecto al resto de categorías, en las que el estadio precoz al diagnóstico es el más frecuente. Tras aplicar el test de Chi cuadrado, se obtienen diferencias estadísticamente significativas en la distribución por estadios ($p=0,009$) (Tabla IV.17. y Figura IV.10.).

IV. Resultados

Estadio	I-II (n, %)	III-IV (n,%)
BRCA+ (n= 36)	7 (19,4%)	29 (80,6%)
Lynch (N=8)	5 (62,5%)	3 (37,5%)
RAD51 (n=3)	2 (66,7%)	1 (33,3%)
VUS BRCA (n=7)	5 (71,4%)	2 (28,6%)
Alto Riesgo (n=33)	17 (51,5%)	16 (48,5%)

Test	p valor
Chi cuadrado	0,009

Tabla IV.17. Distribución del estadio tumoral al diagnóstico en las diferentes categorías.

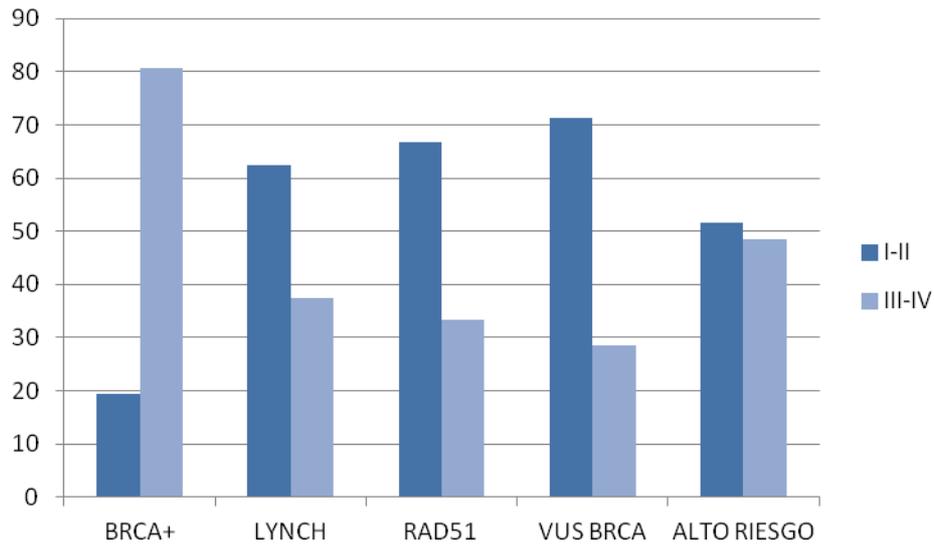


Figura IV.10. Diagrama de barras para el estadio al diagnóstico en las diferentes categorías.

3.5. Diagnóstico de otras neoplasias

El 62,5% de las pacientes con síndrome de Lynch y el 46,2% de las pacientes portadoras de mutaciones en BRCA presentaron otra neoplasia además del cáncer de ovario. No hubo diferencias significativas en el porcentaje de pacientes que desarrollaron otra neoplasia entre las diferentes categorías. (Tabla IV.18. y Figura IV.11).

Estadio	Sí (n, %)	No (n,%)
BRCA+ (n= 39)	18 (46,2%)	21 (53,8%)
Lynch (N=8)	5 (62,5%)	3 (37,5%)
RAD51 (n=3)	1 (33,3%)	2 (66,7%)
VUS BRCA (n=7)	1 (14,3%)	6 (85,7%)
Alto Riesgo (n=33)	8 (25,8%)	25 (74,2%)

Test	p valor
Chi cuadrado	0,11

Tabla IV.18. Distribución del diagnóstico de otras neoplasias en las diferentes categorías.

IV. Resultados

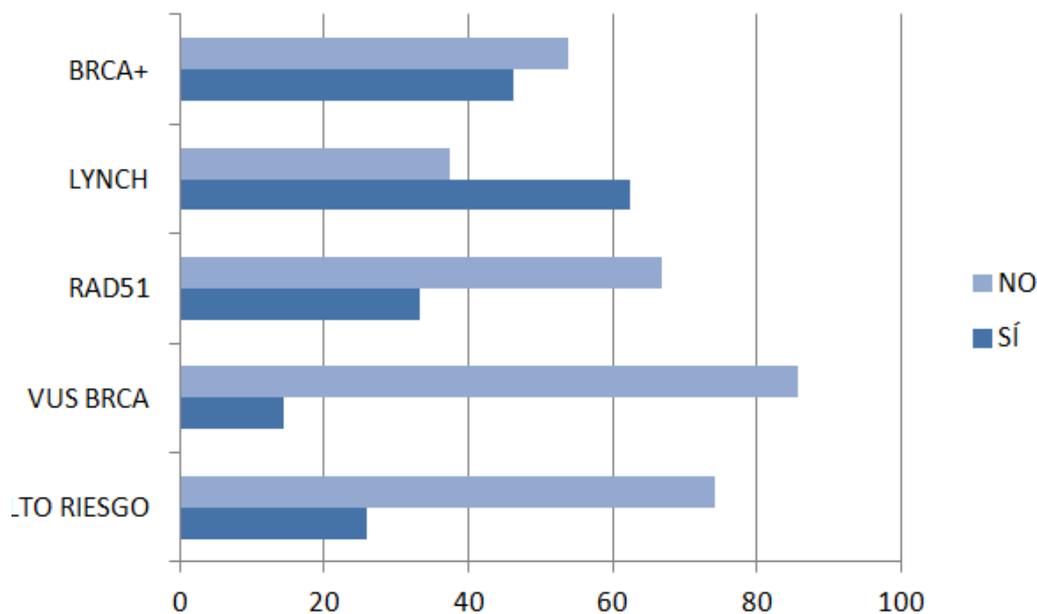


Figura IV.11. Diagrama de barras para la presencia de otras neoplasias en las diferentes cohortes.

4. Análisis de supervivencia comparativo entre grupo BRCA+ y grupo Control.

Hemos llevado a cabo un análisis comparativo de supervivencia entre el grupo de pacientes portadoras de mutación patogénica en BRCA1 o BRCA2 (grupo BRCA+) y un grupo de pacientes diagnosticadas de CEO sin criterios de estudio de síndrome hereditario de predisposición al cáncer (grupo Control).

Para realizar este análisis, se han excluido las tres pacientes con mutación de BRCA diagnosticadas de un tumor ovárico germinal, debido a que estas neoplasias tienen un tratamiento diferente y presentan un curso evolutivo más favorable que los CEO, por lo que finalmente se incluyeron 36 pacientes en la cohorte de BRCA+ (25 portadoras de mutaciones en BRCA1 y 11 portadoras de mutaciones en BRCA2).

En el grupo Control de mujeres diagnosticadas de cáncer de ovario esporádico, se han incluido 43 pacientes.

4.1. Características basales de las pacientes

Las características basales de ambas cohortes quedan resumidas en la **Tabla IV.19.** No existen diferencias significativas entre las características basales de ambos grupos.

	BRCA + (n=36)	Controles (n=43)	p
Edad mediana (rango)	49 (36-75)	56 (34-76)	0,18
Año de diagnóstico (n,%)			
1995-2000	4 (11,1%)	5 (11,6%)	0,176
2001-2005	4 (11,1%)	4 (11,6%)	
2006-2010	14 (38,9%)	18 (41,9%)	
2011-2016	14 (45,6%)	15 (34,9%)	
ECOG (n, %)			
• 0-1	29 (80,6%)	34 (79%)	0,924
• 2	7 (19,4%)	8 (18,6%)	
AP (n, %)			
• Seroso	35 (97,2%)	40 (93%)	0,397
• Endometriode	1 (2,8%)	3 (7%)	
Grado (n, %)			
• Bajo grado	1 (2,8%)	2 (4,6%)	0,567
• Alto grado	35 (97,2%)	41 (95,4%)	
Estadio (n, %)			
• I-II	7 (19,4%)	8 (18,6%)	0,924
• III-IV	29 (80,6%)	35 (81,4%)	
Cirugía (n, %)			
• Óptima	20 (55,6%)	22 (51,2%)	0,69
• Subóptima	16 (44,4%)	21 (48,8%)	
Esquema Quimioterapia (n, %)			
• Basada en platinos	34 (94,4%)	43 (100%)	0,218
• QMT sin platino	2 (5,6%)	0	
QMT neoadyuvante (n, %)			
• Sí	13(36,1%)	16(37,2%)	0,92
• No	23 (63,9%)	27(62,8%)	

Tabla IV.19. Características basales de la cohorte BRCA+ y la cohorte Control

IV. Resultados

4.2. Seguimiento

La mediana de seguimiento del total de las pacientes incluidas es de 46 meses (DE 45,13) con un mínimo de 4 y un máximo de 228 meses. La mediana de seguimiento de la cohorte BRCA+ es de 55,5 meses (DE 54,69; rango 4-228). La mediana de seguimiento en la cohorte Control es de 40 meses (DE 39,1; rango 4-168).

Durante el seguimiento se han producido 51 recaídas (64,6%): 17 en la cohorte BRCA+ y 34 en el grupo Control. La mediana de SLP es de 20 meses (DE 3,36 meses).

En total se produjeron 33 muertes (41,8%): 5 en la cohorte BRCA+ y 28 en la cohorte Control, mientras que 46 pacientes (58,2%) permanecían vivas en el momento de finalizar el seguimiento. La mediana de SG del total de las pacientes es de 91 meses (DE 18,31).

4.3. Análisis temporal univariante

4.3.1. Intervalo libre de platino

La mayor parte de las recaídas en ambas cohortes fueron platino-sensibles. En la cohorte Control un 27,9% de pacientes presentó una recaída platino-resistente y en la cohorte BRCA+ esta proporción fue de 14,7%, sin que las diferencias fueran estadísticamente significativas ($p=0,268$, test de Fisher) (**Figura IV.12.**).

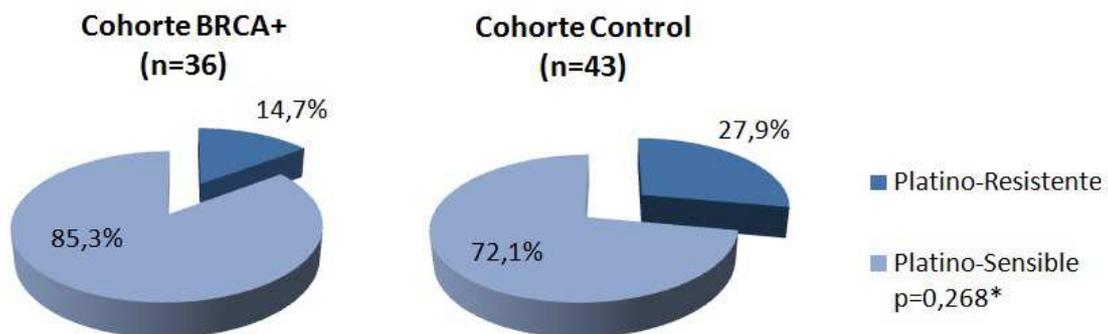


Figura IV.12. Sensibilidad a platino en las cohortes BRCA y Control. *Test de Fisher

La mediana del ILP en el grupo BRCA+ fue de 19 meses frente a 12 meses en el grupo Control, sin llegar a alcanzar la significación estadística ($p=0,05$) (Tabla IV.20. y Figura IV.13.).

Cohorte	Mediana	Error estándar	IC95%
BRCA+	19	7,33	4,64– 33,37
Control	12	4,37	3,44 – 20,56

Test	p valor
Log Rank	0,05

Tabla IV.20. Estadísticos descriptivos del ILP en ambas cohortes

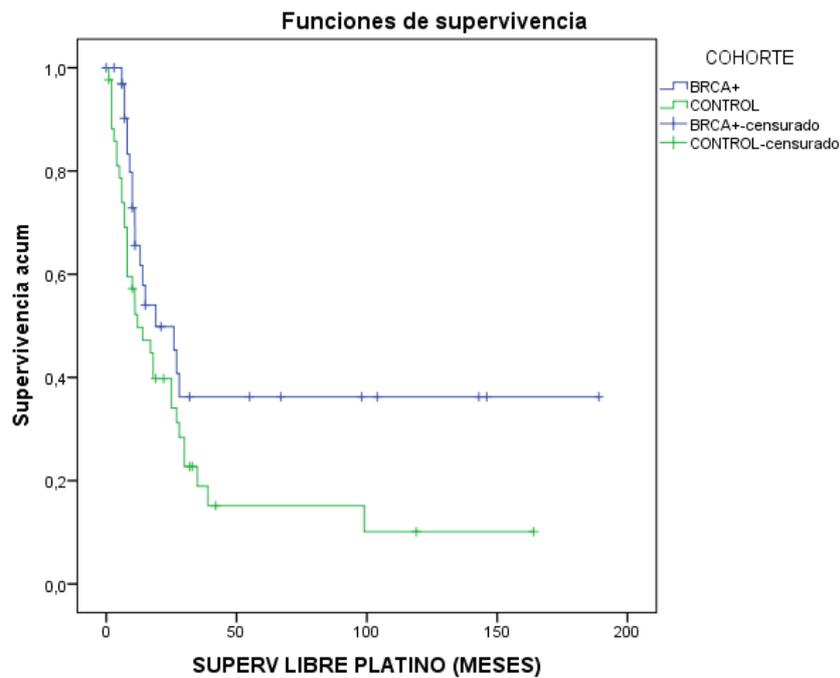


Figura IV.13. Curva de Kaplan-Meier para el ILP (meses) en las cohortes BRCA+ y Control.

IV. Resultados

4.3.2. Supervivencia libre de progresión

Dentro del grupo de pacientes BRCA+, 17 pacientes (47,2%) presentaron una recaída mientras que en el grupo Control recayeron 34 (79,1%). La mediana de SLP fue significativamente más larga en el grupo BRCA+ que en el grupo Control (33 meses vs 22 meses; $p=0,013$) (Tabla IV.21. y Figura IV.14.).

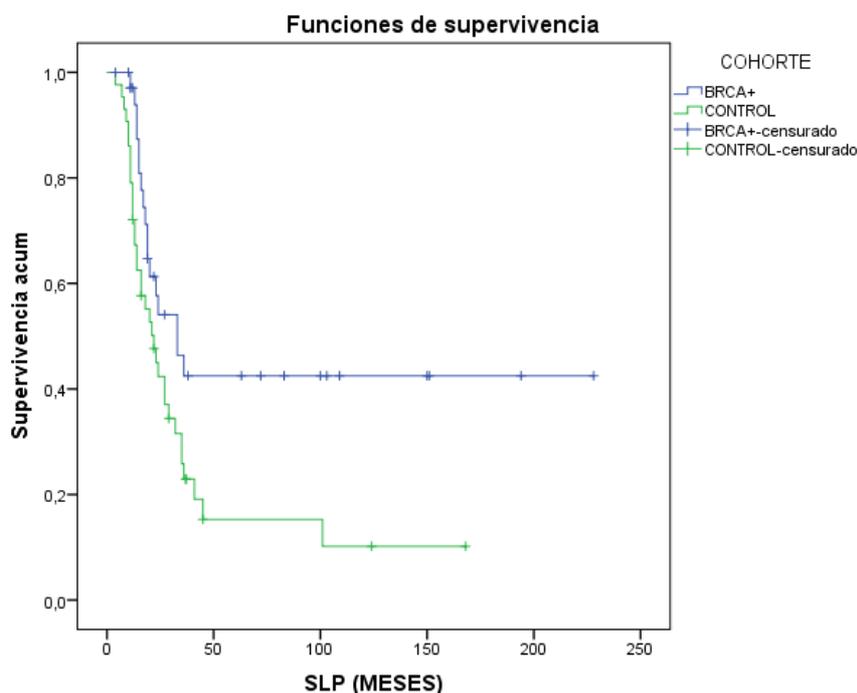


Figura IV. 14. Curva de Kaplan-Meier para la SLP (meses) en las cohortes BRCA+ y Control.

Cohorte	Mediana	Error estándar	IC95%
BRCA+	33	7,96	17,41 - 48,6
Control	22	3,81	14,53 - 29,47

Test	p valor
Log Rank	0,013

Tabla IV.21. Estadísticos descriptivos de la SLP en ambas cohortes

4.3.3. Supervivencia global

Durante el seguimiento se registraron 5 muertes (13,8%) en la cohorte BRCA+ y 28 (65,1 %) en la cohorte Control. Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la mediana de supervivencia en el grupo BRCA+ (no alcanzada en el momento de finalizar el período de estudio) y la del grupo Control (53 meses) (Tabla IV.22. y Figura IV.15.).

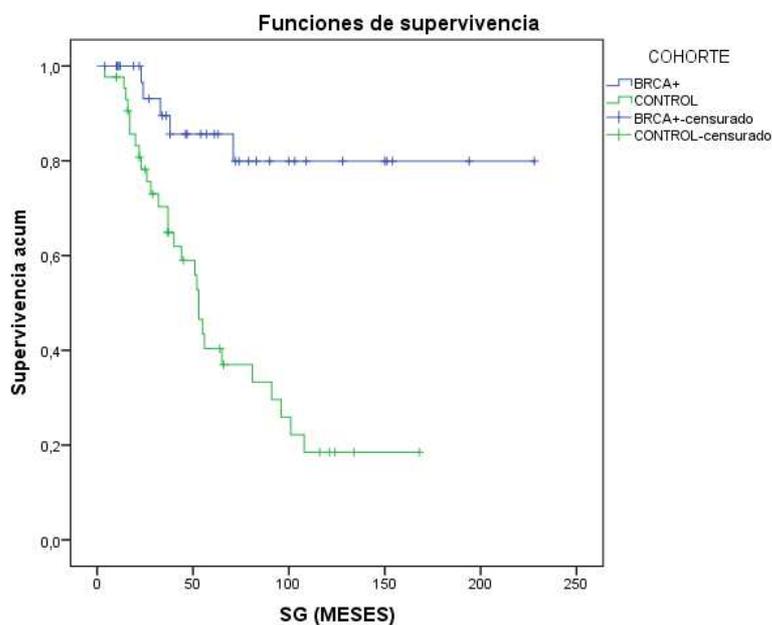


Figura IV.15. Curva de Kaplan-Meier para la SG (meses) en las cohortes BRCA+ y Control.

Cohorte	Mediana	Error estándar	IC95%
BRCA+	NA	-	-
Control	53	2,69	47,71-58,29

Test	p valor
Log Rank	<0,001

Tabla IV.22. Estadísticos descriptivos de la SG en ambas cohortes. (NA: no alcanzada)

IV. Resultados

4.3.4 Análisis de supervivencia comparativo entre portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2

Para analizar si el pronóstico difiere en función del tipo de mutación subyacente de BRCA, hemos llevado a cabo un análisis de supervivencia comparativo entre portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2.

No hemos encontrado diferencias significativas en las medianas de SLP entre portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 (36 meses vs 24 meses, $p=0,6$, test log-rank). Tampoco hallamos diferencias significativas en las medianas de SG (no alcanzada para ningún subgrupo, $p=0,73$, test log-rank) (**Figura IV.16.**).

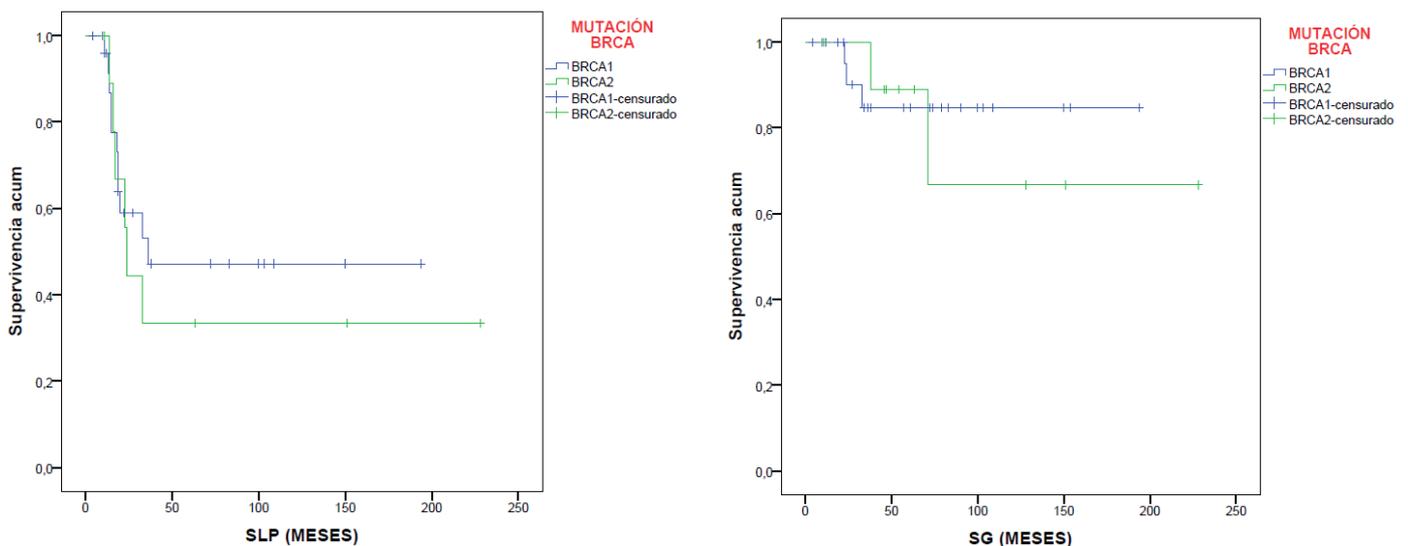


Figura IV.16. Curvas de SLP y SG en portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2.

4.3.5. Análisis temporal univariante con respecto a otras variables clínicas

4.3.5.1. Supervivencia libre de progresión

Las variables que se han asociado de forma significativa con una mayor SLP son, además de la presencia de mutación germinal en BRCA1/2, la edad ($p=0,046$, test log rank), el estadio limitado al diagnóstico ($p=0,005$, test log-rank), el haber sido

sometidas a cirugía óptima ($p=0,034$, test Breslow), el no haber recibido quimioterapia neoadyuvante ($p=0,01$, test log-rank) y el tener un carcinoma platino sensible ($p<0,001$, test log rank) (**Tabla IV.23.**).

	n	Nº eventos	MEDIANA SLP (meses)	IC 95%	P
ECOG					
- 0-1	64	41	27	(17,93-36,03)	0,789
-2	15	10	23	(12,53-33,47)	
EDAD					
-<50 años	39	19	33	(23,13 -42,87)	0,046
-50-65 años	25	22	19	(15,25-22,76)	
->65 años	15	10	14	(8,83-19,76)	
ESTADIO					
-I-II	15	5	101	-	0,005
-III-IV	64	46	20	(15,53-24,47)	
GRADO HISTOLOGICO					
-Bajo grado	3	1	101	(-)	0,192
-Alto grado	76	50	23	(16,87-29,13)	
TIPO HISTOLÓGICO					
-Seroso	75	48	23	(16,51-29,49)	0,426*
-Endometriode	4	3	32	(2,6-61,4)	
TIPO DE CIRUGÍA					
-Óptima	42	23	35	(17,23-52,77)	0,034*
-Subóptima	37	28	19	(11,72-26,27)	
QMT NEOADYUVANTE					
-Sí	29	22	19	(12,9-25,1)	0,01
-No	50	29	33	(21,72-44,28)	
SENSIBILIDAD A PLATINO					
-Platino Sensible	60	39	29	(10,56-13,45)	<0,001
-Platino Resistente	17	12	12	(20,63-37,37)	
ESTADO BRCA					
-BRCA+	36	17	33	(17,4-48,3)	0,013
-Control	43	34	22	(14,53-29,47)	

Tabla IV.23. Análisis univariante de SLP de las variables clínico-patológicas. *test Breslow

IV. Resultados

4.3.5.2. Supervivencia global

	n	Nº eventos	MEDIANA SG (meses)	95% IC	p
ECOG					
- 0-1	64	24	91	(56,8- 125,2)	0,41
-2	15	9	71		
EDAD					
<50 años	39	12	91	(69,3 -112,7)	0,114*
-50-65 años	25	14	65	(0-130,8)	
>65 años	15	7	101	(11,9 - 190,1)	
ESTADIO					
-I-II	15	3	NA	-	0,075
-III-IV	64	30	71	(32,2 - 109,8)	
GRADO HISTOLOGICO					
-Bajo grado	3	0	-	-	0,168
-Alto grado	76	33	-		
TIPO HISTOLÓGICO					
-Seroso	75	32	91	(54-127,9)	0,55*
-Endometrioide	4	1	-	-	
TIPO DE CIRUGÍA					
-Óptima	42	10	NA	-	0,056
-Subóptima	37	23	65	(38,2-91,9)	
QMT NEOADYUVANTE					
-Sí	29	13	56	(24,8 - 87,2)	0,059*
-No	50	20	101	(65,5 -136,6)	
SENSIBILIDAD A PLATINO					
-Platino Sensible	60	39	71	(47,63-94,34)	<0,001
-Platino Resistente	17	12	25	(17,01-32,99)	
ESTADO BRCA					
-BRCA+	36	5	NA	-	<0,001
-Control	43	28	53	(47,7-58,3)	

Tabla IV.24. Análisis univariante de SG de las variables clínico-patológicas. *test Breslow

Además de la presencia de mutación germinal en BRCA1/2, únicamente se asoció de forma significativa con la SG, la sensibilidad a platino ($p < 0,001$, test de log

rank). Las pacientes a las que se realizó cirugía óptima y aquellas que no recibieron quimioterapia neoadyuvante presentaron medianas de SG más prolongadas, aunque no llegaron a alcanzar significación estadística (**Tabla IV.24.**).

4.4. Análisis temporal multivariante

4.4.1. Supervivencia libre de progresión

El análisis multivariante mediante la regresión de Cox incluyó todas las variables estudiadas en el análisis univariante que resultaron significativas. De todas ellas, las que influyen sobre la SLP de forma significativa son (**Tabla IV.25.** y **Figura IV.17.**):

- La edad al diagnóstico. Las pacientes diagnosticadas con >65 años, tienen una SLP mayor que las menores de 50 años ($p=0,025$).
- El estadio tumoral al diagnóstico ($p=0,029$). Un estadio avanzado se asocia a una menor SLP.
- La sensibilidad a platino ($p=0,006$). Los carcinomas platino sensibles presentan una mayor SLP.
- La presencia de mutación germinal patogénica en BRCA1/2 ($p=0,032$). Las pacientes portadoras tienen una SLP mayor que las no portadoras.

Según los resultados obtenidos, la variable independiente con mayor peso en la SLP es la sensibilidad al platino. Los carcinomas platino resistentes tienen entre tres y cuatro veces más riesgo de progresar que los platino sensibles (HR: 3,49, IC 95% 1,43-8,51).

IV. Resultados

	E ^β /HR	95% IC	p
EDAD			
-<50 años	1		
-50-65 años	1,48	(0,78 – 2,84)	0,239
->65 años	2,63	(1,13 – 6,14)	0,025
ESTADIO			
-I-II	1		
-III-IV	2,93	(1,11 – 7,7)	0,029
TIPO DE CIRUGÍA			
-Óptima	1		
-Subóptima	1,63	(0,86 – 3,09)	0,135
QMT NEOADYUVANTE			
-Sí	1		
-No	0,57	(0,27 – 1,2)	0,138
SENSIBILIDAD A PLATINOS			
-Platino Sensible	1		0,006
-Platino Resistente	3,49	(1,43- 8,51)	
ESTADO BRCA			
-BRCA+	1		0,032
-Control	2,01	(1,06 – 3,08)	

Tabla IV.25. Resultados del análisis multivariante de SLP.

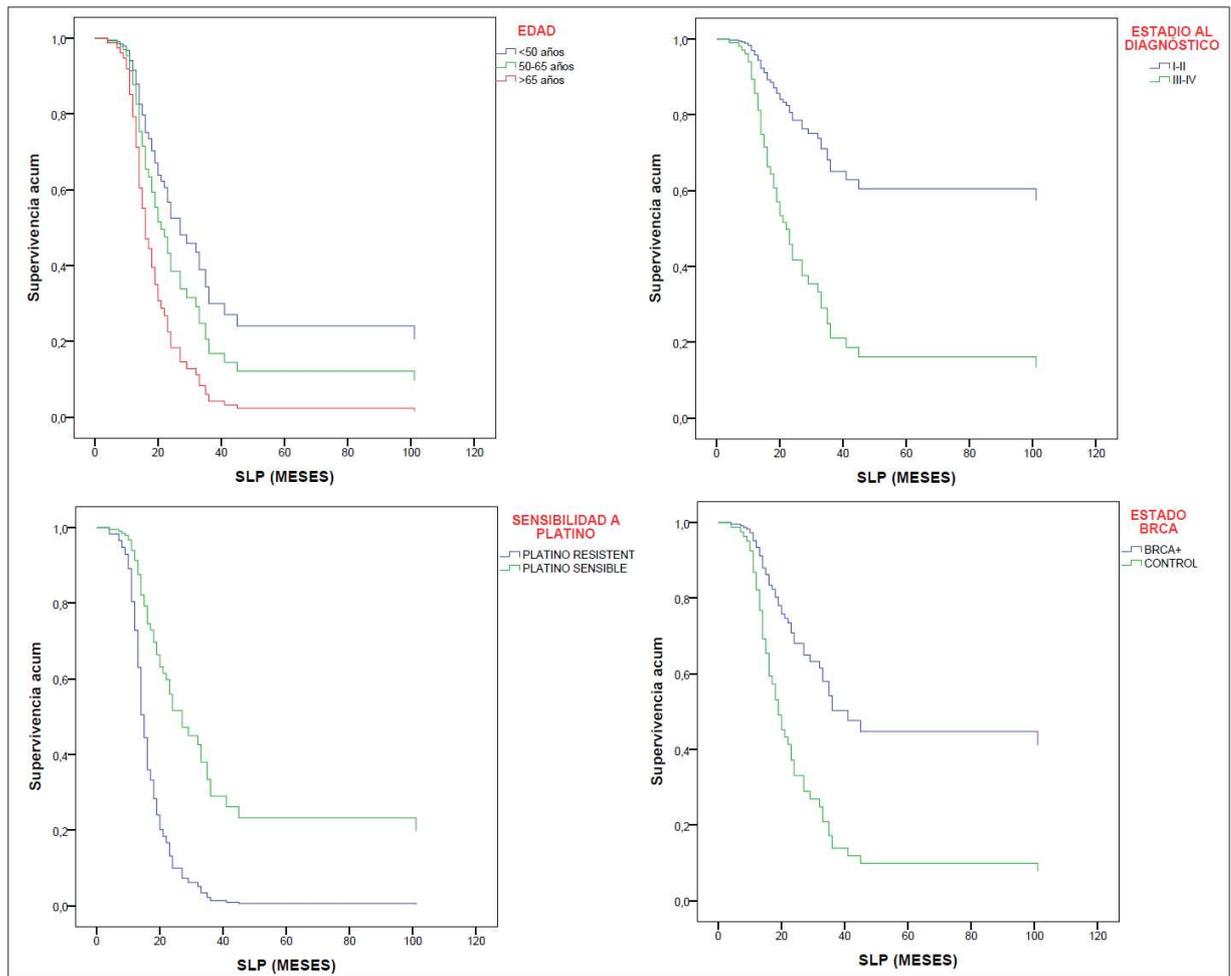


Figura IV.17. Curvas de SLP para las distintas variables significativas en el análisis multivariante.

4.4.2. Supervivencia global

Se incluyeron en el análisis multivariante además de las variables sensibilidad a platino y estado BRCA, las variables quimioterapia neoadyuvante y tipo de cirugía que quedaron próximas a alcanzar la significación estadística en el análisis univariante (test log Rank: $p=0,056$ y $p=0,059$, respectivamente). Todas ellas influyen de forma significativa en la SG (**Tabla IV.26.** y **Figura IV.18.**):

- Cirugía subóptima ($p= 0,007$). Las pacientes sometidas a cirugía subóptima tienen menor supervivencia.

IV. Resultados

- La administración de quimioterapia neoadyuvante (p= 0,029). Las pacientes que no reciben tratamiento con quimioterapia neoadyuvante tienen una mayor SG.
- La sensibilidad a platino (p= 0,044). Los tumores platino sensibles presentan mayor SG que los platino resistentes.
- La presencia de mutación germinal patogénica en BRCA1/2 (p<0,044). Las pacientes portadoras tienen mejor SG con respecto a las no portadoras.

La variable que más influye en la SG es la presencia de mutaciones germinales en BRCA1/BRCA2. Las pacientes con CEO esporádicos tienen un riesgo de muerte seis veces mayor que las portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA1/BRCA2 (HR: 5,99, IC 95% 2,07-17,37).

	E ^B /HR	95% IC	p
TIPO DE CIRUGÍA			
-Óptima	1		
-Subóptima	3,32	(1,4 - 7,88)	0,007
QMT NEOADYUVANTE			
-Sí	1		
-No	0,34	(0,28 - 0,9)	0,029
SENSIBILIDAD A PLATINO			
-Platino Sensible	1		
-Platino Resistente	2,58	(1,03 - 6,46)	0,044
ESTADO BRCA			
-BRCA+	1		
-Control	5,99	(2,07 - 17,37)	0,001

Tabla IV.26. Resultados del análisis multivariante de SG

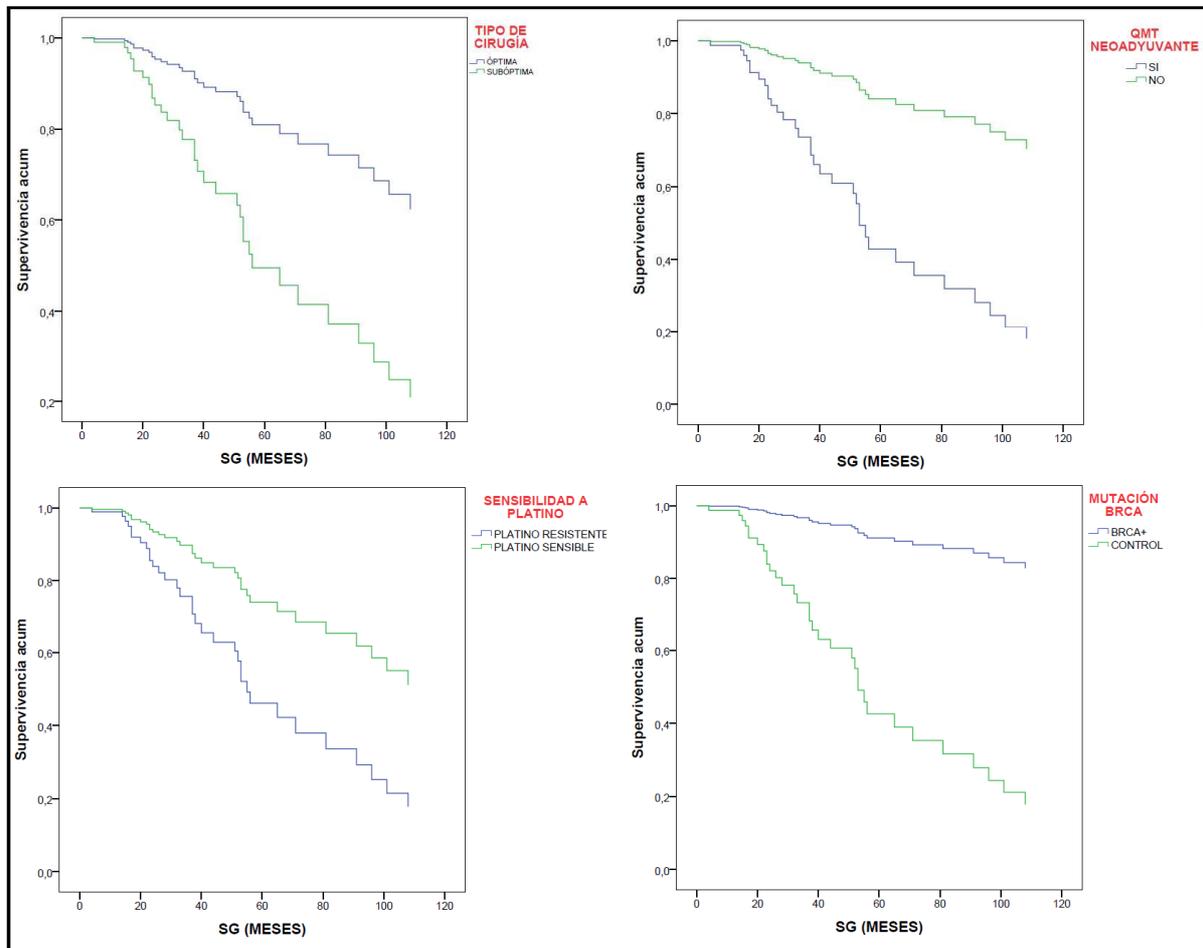


Figura IV.18. Curvas de SG para las distintas variables significativas en el análisis multivariante.

5. Análisis de supervivencia según el resultado del estudio genético.

Una vez analizado el peso que la presencia de mutaciones patogénicas en BRCA1 o BRCA2 tienen tanto en la SLP como en la SG, cuando se compara con una cohorte de no portadoras, cabe preguntarse cuál es el papel que juegan el resto de variantes génicas en el pronóstico de las pacientes diagnosticadas de CEO. Para ello hemos llevado a cabo un análisis de supervivencia de nuestra muestra incluyendo a todas las pacientes valoradas en la UCG y a aquellas con diagnóstico de cáncer de ovario esporádico (en total 130 pacientes), agrupadas en diferentes categorías. Hemos

IV. Resultados

excluido de este análisis las tres pacientes diagnosticadas de neoplasia germinal de ovario.

La mediana de seguimiento de todo el conjunto de pacientes fue de 53 meses (DE 58,8) con un máximo de 276 y un mínimo de 4 meses. Durante el seguimiento se produjeron 74 recaídas (56,9% de las pacientes) y 44 muertes (33,8% de las pacientes). La mediana de SLP fue de 35 meses (DE 4,6) y la mediana de SG aún no se ha alcanzado.

5.1. Análisis de supervivencia comparativo entre la cohorte de pacientes con criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer y la cohorte Control

En primer lugar hemos realizado un análisis de supervivencia comparando la cohorte que incluye el total de pacientes que cumplieron criterios de síndrome hereditario valoradas en la UCG (n=87) (cohorte UCG), frente al grupo de pacientes con diagnóstico de CEO esporádico (cohorte Control, n=43).

5.1.1. Intervalo libre de platino

La proporción de pacientes que presentó una recaída platino resistente fue mayor en la cohorte Control que en la cohorte UCG (27,9% vs 14,5%), aunque las diferencias no llegaron a alcanzar la significación estadística ($p=0,059$, test de Fisher) (**figura IV.19**).

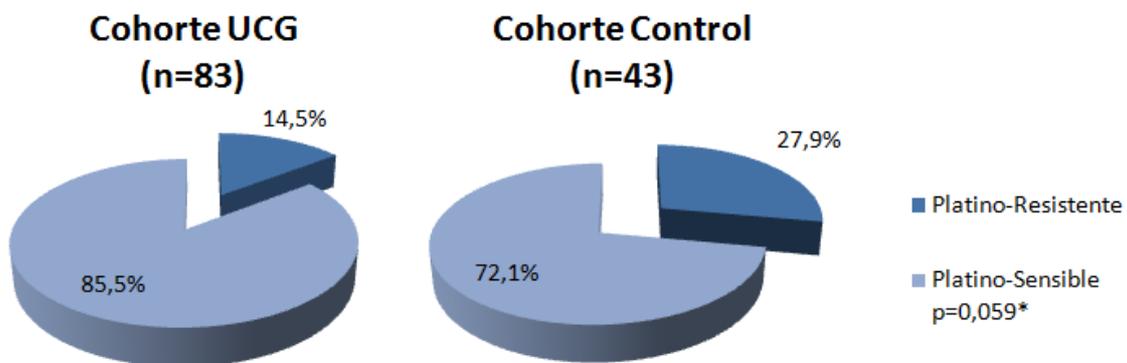


Figura IV.19. Sensibilidad a platino en las cohortes UCG y Control. *test de Fisher

La mediana del ILP en la cohorte UCG fue de 59 meses frente a 12 meses en la cohorte control, siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) (Tabla IV.27. y Figura IV.20.).

Cohorte	Mediana	Error estándar	IC95%
UCG	59	23,9	12,15-105,85
Control	12	4,37	3,44-20,56

Test	p valor
Log Rank	<0,001

Tabla IV.27. Estadísticos descriptivos del ILP en las cohortes UCG y Control.

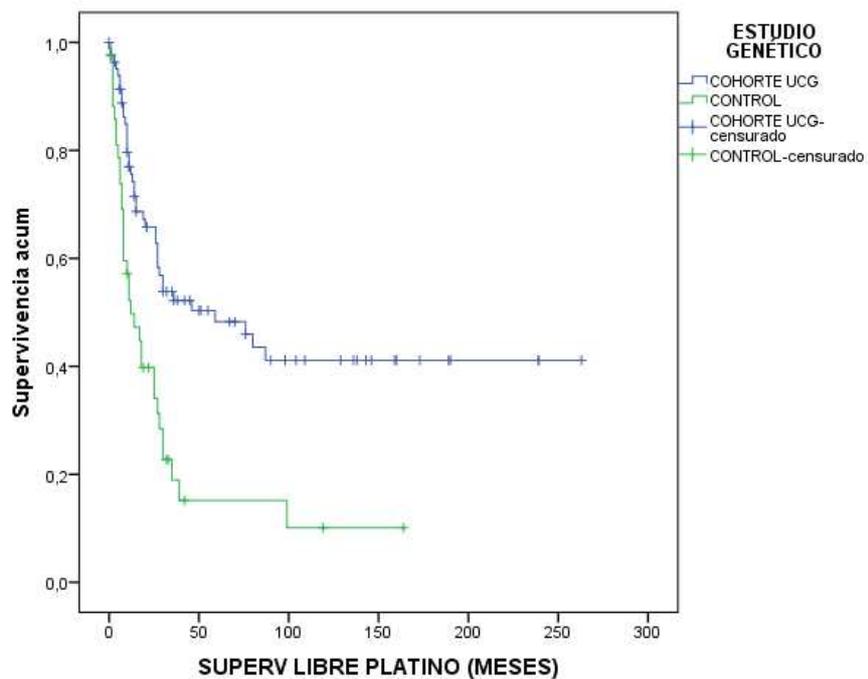


Figura IV.20. Curva de Kaplan-Meier para el ILP (meses) en las cohortes UCG y Control.

IV. Resultados

5.1.2. Supervivencia libre de progresión

La mediana de SLP en la cohorte de pacientes valoradas en la UCG que cumplían criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer fue de 81 meses frente a 22 meses en la cohorte Control, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) (Tabla IV.28. y Figura IV.21.).

Cohorte	Mediana	Error estándar	IC95%
UCG	81	28,41	25,311-136,69
Control	22	3,81	14,53 - 29,47

Test	p valor
Log Rank	<0,001

Tabla IV.28. Estadísticos descriptivos de la SLP en las cohortes UCG y Control

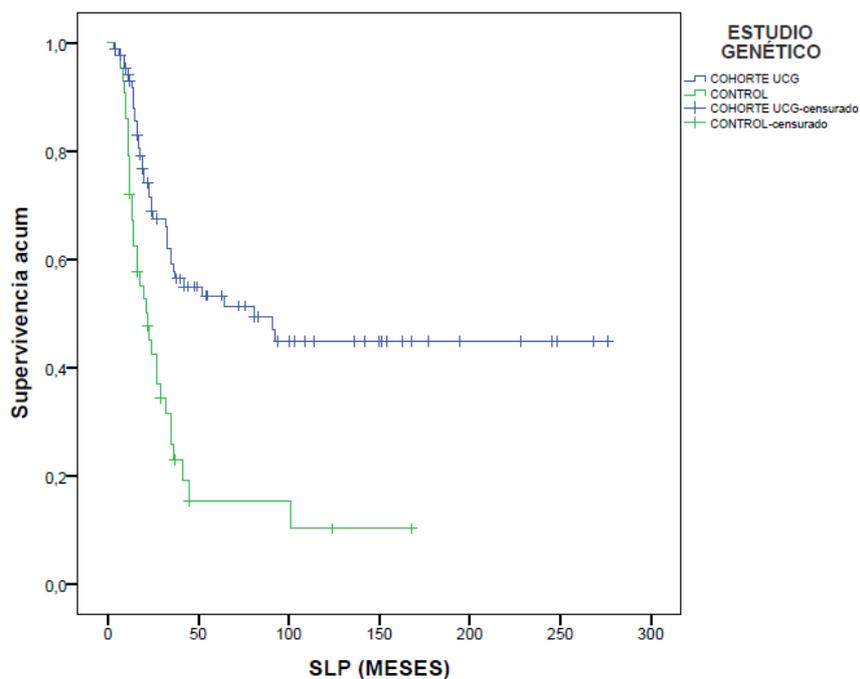


Figura IV.21. Curva de Kaplan-Meier para la SLP (meses) en las cohortes UCG y Control.

5.1.3. Supervivencia global

Durante el seguimiento, 13 pacientes han fallecido en la cohorte de pacientes valoradas en la UCG (14,9%) y 28 (65,12%) en el grupo Control. Existen diferencias estadísticamente significativas entre la mediana de SG en la Cohorte UCG (no alcanzada) y la de la cohorte Control (53 meses) (Tabla IV.29. y Figura IV.22.).

Cohorte	Mediana	Error estándar	IC95%
UCG	NA	-	-
Control	53	2,69	47,71-58,29

Test	p valor
Log Rank	<0,001

Tabla IV.29. Estadísticos descriptivos de la SG en las cohortes UCG y Control.

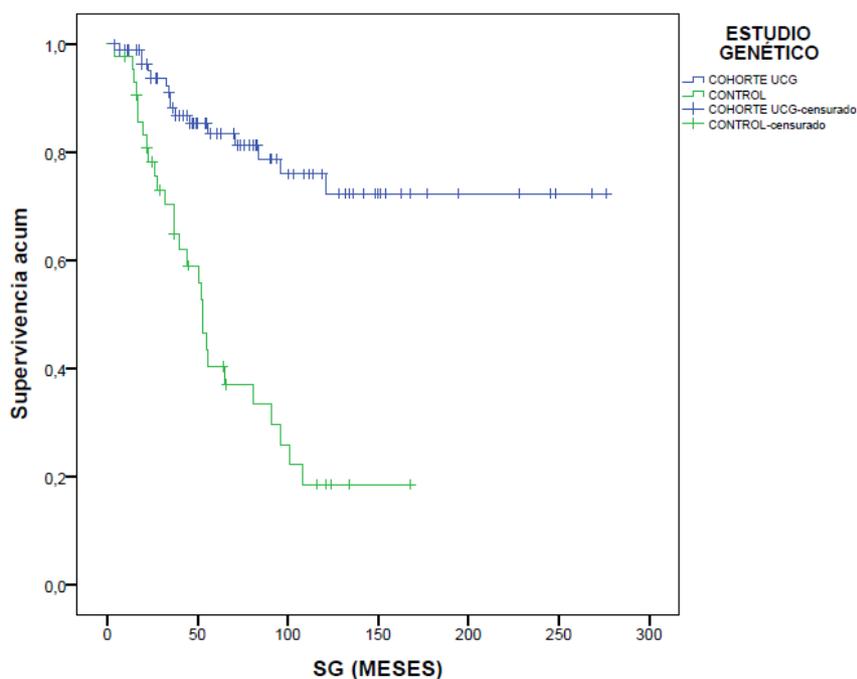


Figura IV.22. Curva de Kaplan-Meier para la SG (meses) en las cohortes UCG y Control.

5.2. Análisis de supervivencia comparativo entre los diferentes subgrupos según el resultado del estudio genético.

Hemos realizado un segundo análisis en el que comparamos la supervivencia entre las diferentes categorías resultantes del estudio genético y la cohorte Control. El objetivo es averiguar si existen diferencias pronósticas en función de la mutación germinal subyacente. Para ello, hemos dividido a las pacientes estudiadas en la UCG en diferentes categorías en función del resultado del test genético. En primer lugar, hemos agrupado a aquellas pacientes portadoras de mutaciones patogénicas en genes que intervienen en el proceso de RH (BRCA1, BRCA2, RAD51C y RAD51D) en una única categoría (BRCA+RAD51). El resto de pacientes se dividen en las siguientes cohortes: Lynch (pacientes portadoras de mutaciones patogénicas en genes MMR), portadoras de VUS en BRCA1/2, Alto riesgo (pacientes con criterios de síndrome de predisposición hereditaria al cáncer en las que no se ha detectado alteración genética), y grupo Control (pacientes diagnosticadas de carcinoma de ovario epitelial que no cumplen criterios de síndrome de predisposición hereditaria al cáncer).

5.2.1. Intervalo libre de platino:

No hubo diferencias significativas en la proporción de pacientes que presentaron recaídas platino sensible en los diferentes subgrupos según el resultado del estudio genético ($p=0,07$, test Chi cuadrado) (**figura IV.23**).

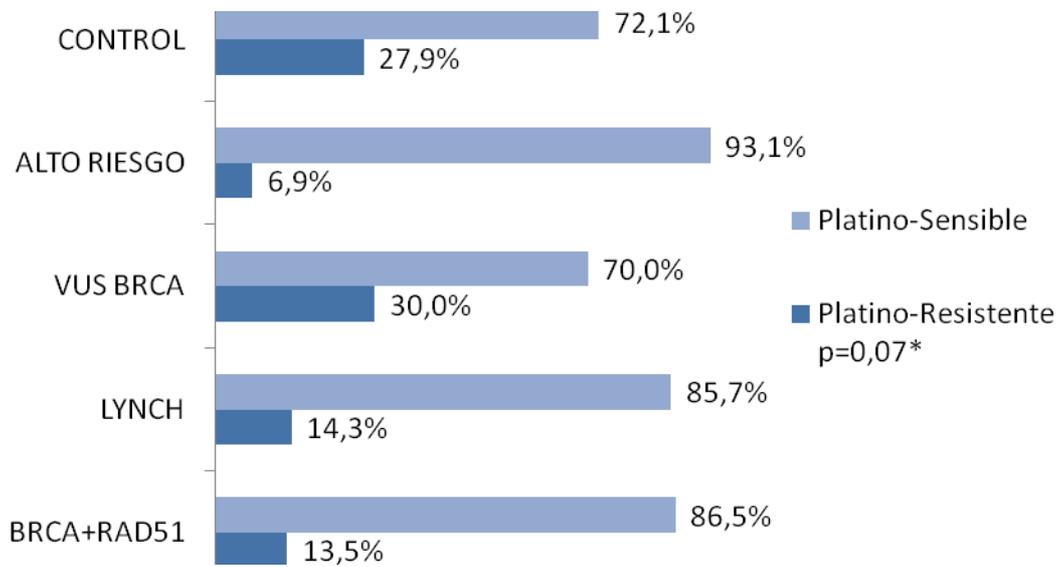


Figura IV.23. Sensibilidad a platino en las diferentes cohortes según el resultado del estudio genético.*Chi cuadrado

La mediana del ILP en el grupo BRCA+ RAD51 fue de 27 meses, en el grupo de Alto riesgo fue de 76 meses y de 12 meses en el grupo Control. En el grupo Lynch y en el grupo VUS BRCA no se ha alcanzado la mediana de ILP. Las diferencias entre grupos fueron estadísticamente significativas (p= 0,003) (Tabla IV.30. y Figura IV.24.).

Cohorte	n	Mediana	Error estándar	IC95%
BRCA+RAD51	37	27	7,25	12,78-41,22
LYNCH	7	NA	-	-
VUS BRCA	7	NA	-	-
ALTO RIESGO	32	76	28,16	20,81-131,19
CONTROL	43	12	4,37	3,44-20,56

Test	p valor
Breslow	0,003

Tabla IV.30. Estadísticos descriptivos del ILP en las cohortes según resultado genético.

IV. Resultados

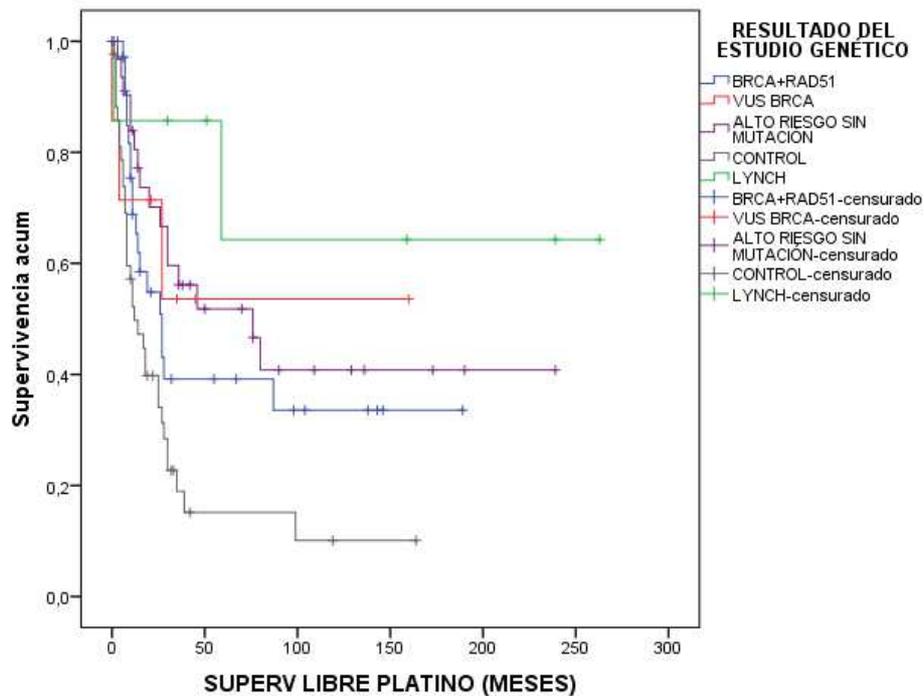


Figura IV.24. Curvas Kaplan-Meier para el ILP en las cohortes según resultado genético.

5.2.2. Supervivencia libre de progresión

Tras analizar la SLP en función del resultado genético, observamos que el subgrupo con menor tiempo hasta la progresión es el grupo Control, con una mediana de 22 meses. El grupo de pacientes de Alto riesgo tienen la mediana de SLP en 81 meses, mientras que las portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA/RAD51 presentan una mediana de 35 meses. En las pacientes con síndrome de Lynch y portadoras de VUS BRCA aún no se ha alcanzado la mediana de SLP. Los resultados obtenidos son estadísticamente significativos ($p=0,001$, test de Breslow) (**Tabla IV.31.** y **Figura IV.25.**).

Cohorte	n	Mediana	Error estándar	IC95%
BRCA+RAD51	39	35	7,77	19,76 - 50,24
LYNCH	8	NA	-	-
VUS BRCA	7	NA	-	-
ALTO RIESGO	33	81	30,97	20,29 - 141,71
CONTROL	43	22	3,81	14,53 - 29,47

Test	p valor
Breslow	0,001

Tabla IV.31. Estadísticos descriptivos de la SLP en las cohortes según resultado genético.

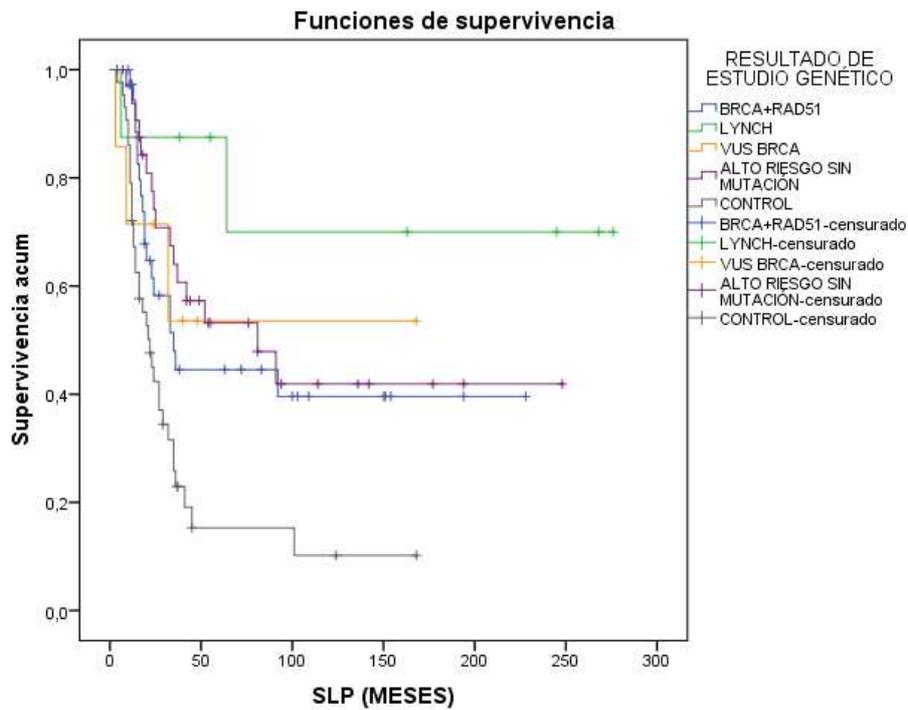


Figura IV.25. Curvas Kaplan-Meier para la SLP en las cohortes según resultado genético.

IV. Resultados

5.2.3. Supervivencia global

Tras finalizar el período de seguimiento, únicamente se ha alcanzado la mediana de SG del subgrupo Control (53 meses), siendo los resultados estadísticamente significativos ($p < 0,001$, test de Breslow) (Tabla IV.32. y Figura IV.26.).

Cohorte	n	Mediana	Error estándar	IC95%
BRCA+RAD51	39	NA	-	-
LYNCH	8	NA	-	-
VUS BRCA	7	NA	-	-
ALTO RIESGO	33	NA	-	-
CONTROL	43	53	2,7	41,71 - 58,29

Test	p valor
Breslow	<0,001

Tabla IV.32. Estadísticos descriptivos de la SG en las cohortes según resultado genético.

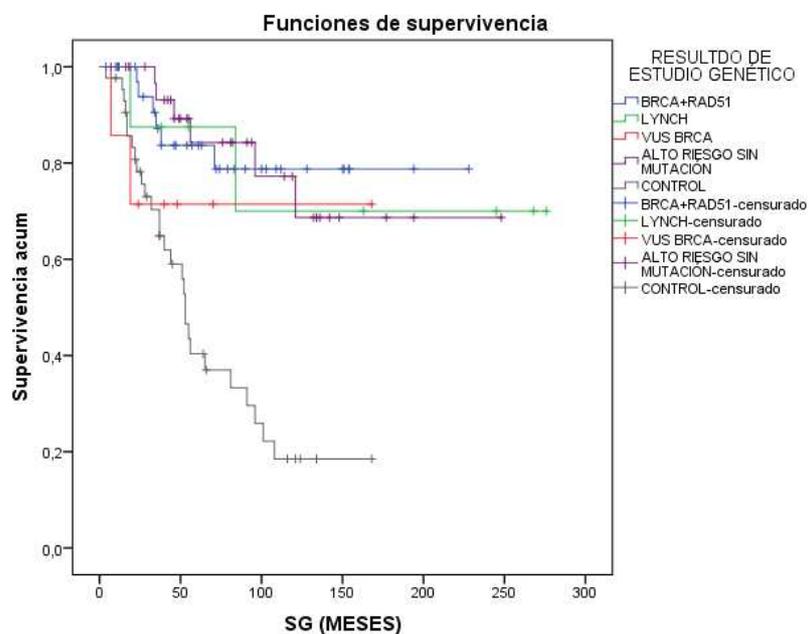


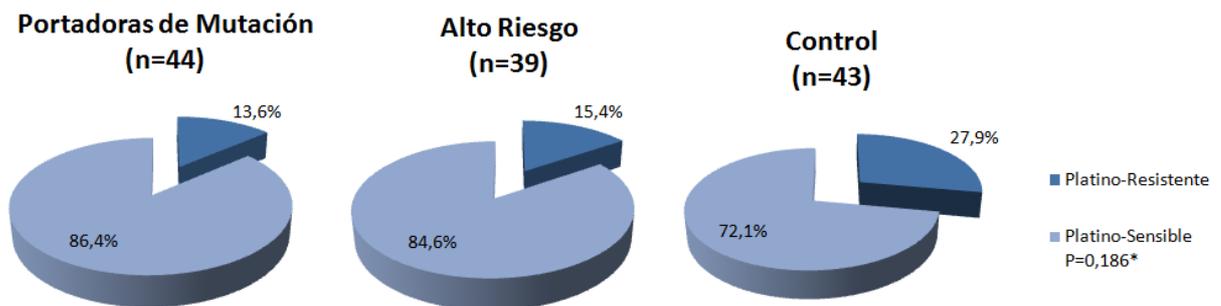
Figura IV.26. Curvas Kaplan-Meier para la SG en las cohortes según resultado genético.

5.3. Análisis de supervivencia comparativo entre las pacientes portadoras de mutación patogénica, pacientes de alto riesgo y grupo control

Para comprobar si el pronóstico de las pacientes que cumplen criterios de síndrome genético de predisposición al cáncer en las que no se ha detectado mutación patogénica subyacente se aproxima al de pacientes portadoras de mutación o al de pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario esporádico, hemos realizado un estudio de supervivencia agrupando a las pacientes en tres categorías: Portadoras de mutación patogénica (incluye a las pacientes con mutaciones en BRCA, RAD51, síndrome de Lynch), Alto riesgo (pacientes estudiadas en la UCG sin mutación detectable y portadoras de VUS en BRCA1/2) y Control (pacientes con cáncer de ovario esporádico).

5.3.1. Intervalo libre de platino

No hubo diferencias significativas entre las tres cohortes en la proporción de pacientes que presentó una recaída platino sensible ($p = 0,186$, test Chi cuadrado)



(figura IV.27)

Figura IV.27. Sensibilidad a platino en las cohortes Portadoras de mutación patogénica, Alto riesgo y Control.*Chi cuadrado

IV. Resultados

La mediana del ILP en el grupo de portadoras de mutación fue de 28 meses, en el grupo de Alto riesgo de 76 meses, frente a 12 meses en el grupo Control, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,001$) (Tabla IV.33. y Figura IV.28.).

Cohorte	n	Mediana	Error estándar	IC95%
PORTADORAS DE MUTACION	54	28	20,97	0-69,1
ALTO RIESGO	40	76	28,66	19,83-132,16
CONTROL	43	12	4,37	3,44 – 20,57

Test	p valor
Breslow	<0,001

Tabla IV.33. Estadísticos descriptivos del ILP en las cohortes portadoras de mutación - alto riesgo-control.

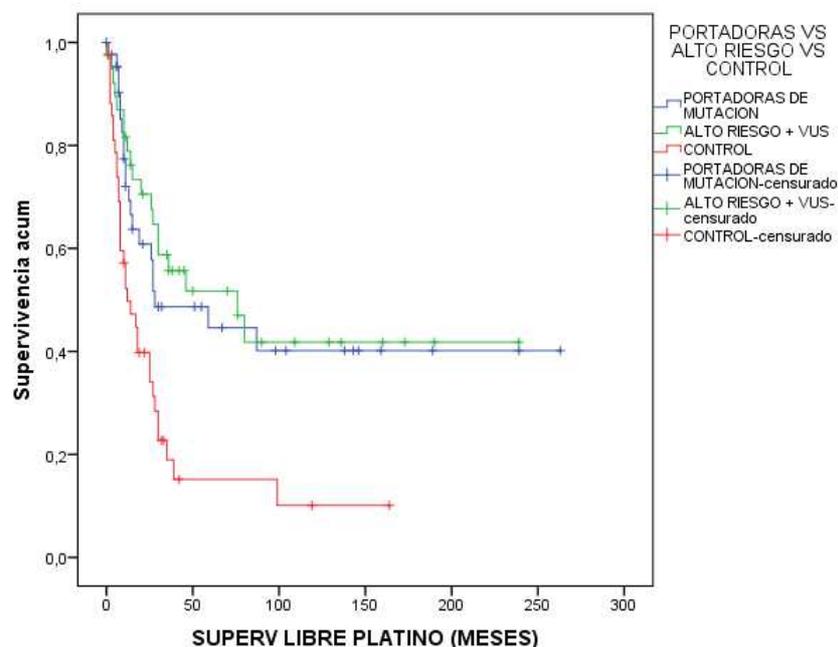


Figura IV.28. Curvas Kaplan-Meier para el ILP en las cohortes portadoras de mutación - alto riesgo-control.

5.3.2. Supervivencia libre de progresión

Las pacientes que presentan una mayor mediana de SLP son las portadoras de mutaciones genéticas (92 meses), seguidas de aquellas en las que no se ha detectado mutación (81 meses), mientras que la cohorte Control tiene la menor SLP (43 meses). Los resultados son estadísticamente significativos ($p < 0,001$) (Tabla IV.34. y Figura IV.29.).

Cohorte	n	Mediana	Error estándar	IC95%
PORTADORAS DE MUTACION	54	92	-	-
ALTO RIESGO	40	81	30,97	20,29 - 141,71
CONTROL	43	22	3,81	14,53 - 29,47

Test	p valor
Breslow	<0,001

Tabla IV.34. Estadísticos descriptivos de la SLP en las cohortes portadoras de mutación patogénica, alto riesgo y control.

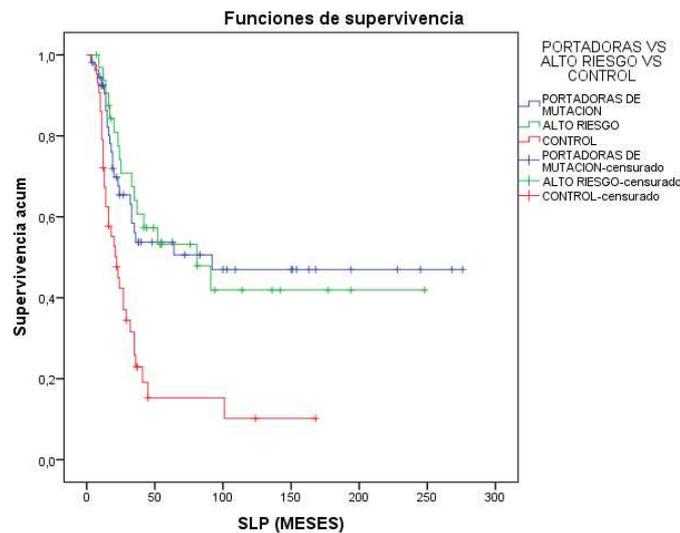


Figura IV.29. Curvas Kaplan-Meier para la SLP en las cohortes portadoras de mutación - alto riesgo-control.

IV. Resultados

5.3.3. Supervivencia global

Con una mediana de seguimiento de 53 meses, ni las pacientes portadoras de mutación ni las de la cohorte de Alto riesgo han alcanzado la mediana de SG, mientras que en la cohorte control es de 53 meses, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) (Tabla IV.35. y Figura IV.30.).

Cohorte	n	Mediana	Error estándar	IC95%
PORTADORAS DE MUTACION	54	NA	-	-
ALTO RIESGO	40	NA	-	-
CONTROL	43	53	2,7	41,71 - 58,29

Test	p valor
Breslow	<0,001

Tabla IV.35. Estadísticos descriptivos de la SG en las cohortes portadoras de mutación - alto riesgo-control.

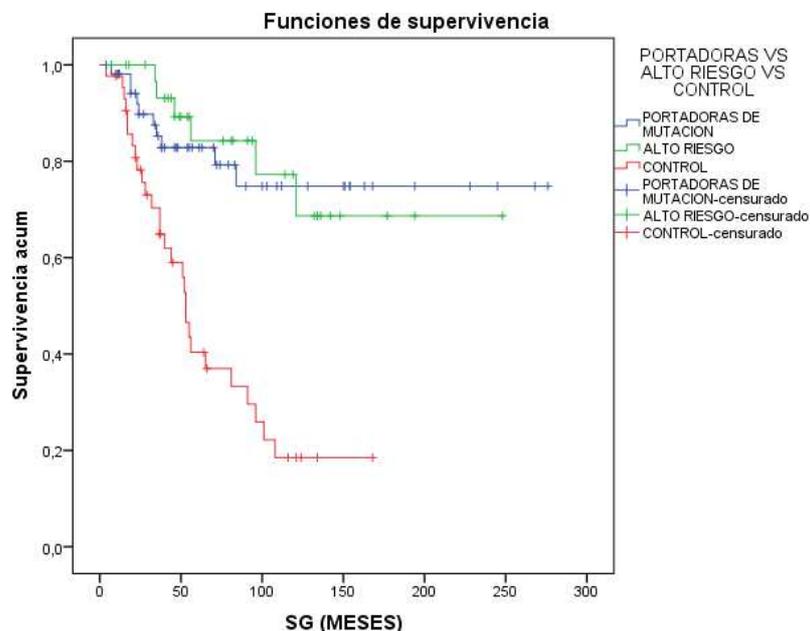


Figura IV.30. Curvas Kaplan-Meier para la SG en las cohortes portadoras de mutación - alto riesgo-control.

5.4. Análisis de supervivencia univariante en función de las características clínico-patológicas

5.4.1. Supervivencia libre de progresión

	n	Nº eventos	MEDIANA SLP (meses)	95% IC	p
ECOG					
- 0-1	113	60	36	(25,59-46,41)	0,083
-2	19	14	23	(13,94-32,05)	
EDAD					
-<50 años	73	31	91	-	<0,001
-50-65 años	26	27	23	(5,77-40,23)	
->65 años	21	16	16	(7,5-24,5)	
ESTADIO					
-I-II	44	13	NA	-	<0,001
-III-IV	86	61	23	(18,86 – 27,14)	
GRADO HISTOLOGICO					
-Bajo grado	12	4	101	(9,99-81,42)	0,064
-Alto grado	118	70	33	(4,1 -25,14)	
TIPO HISTOLÓGICO					
-Seroso	100	63	27	(17,65 -36,35)	0,007*
-Endometrioide	16	5	NA	-	
-Células Claras	6	1	NA	-	
-Mucinoso	8	5	24	(0 -104,78)	
TIPO DE CIRUGÍA					
-Óptima	70	34	36	(26,24 -45,76)	0,048*
-Subóptima	60	40	27	(17,84 – 36,16)	
QMT NEOADYUVANTE					
-Sí	38	28	19	(10,88 - 27,12)	<0,001
-No	92	46	52	(0 -107,06)	
SENSIBILIDAD A PLATINO					
-Platino Sensible	102	56	41	(9,53 – 12,48)	<0,001
-Platino Resistente	24	18	11	(19,67 – 62,33)	

Tabla IV.36. Análisis univariante de la SLP según las diferentes variables clínico-patológicas. * test Breslow

IV. Resultados

En el análisis univariante, se encontró una relación estadísticamente significativa de la SLP con todas las variables clínico-patológicas, salvo el ECOG y el grado histológico. Una situación basal correspondiente a un ECOG 0-1 se relacionó con una SLP más prolongada, aunque no llegó a alcanzar la significación estadística (**Tabla IV.36.**).

5.4.2. Supervivencia global

La única variable clínico-patológica que no tiene relación estadísticamente significativa con la SG, es el tipo de cirugía (**Tabla IV.37.**).

	n	Nº eventos	MEDIANA SG (meses)	95% IC	p
ECOG					
- 0-1	111	32	NA	-	0,009
-2	19	12	56	(12,85-99,15)	
EDAD					
<50 años	73	16	NA	-	0,004
-50-65 años	26	17	108	(33,02-182,98)	
->65 años	21	11	53	(20,39-85,01)	
ESTADIO					
-I-II	44	5	NA	-	<0,001
-III-IV	86	39	91	(65,08-116,92)	
GRADO HISTOLOGICO					
-Bajo grado	12	1	NA	-	0,077
-Alto grado	118	43	121	-	
TIPO HISTOLÓGICO					
-Seroso	100	41	27	(17,65 -36,35)	0,028*
-Endometrioide	16	1	NA	-	
-Células Claras	6	0	NA	-	
-Mucinoso	8	2	24	(0 -104,78)	
TIPO DE CIRUGÍA					
-Óptima	70	16	NA	-	0,123*
-Subóptima	60	28	121	-	
QMT NEOADYUVANTE					
-Sí	38	17	56	(48,83-63,17)	0,02
-No	92	27	NA		
SENSIBILIDAD A PLATINO					
-Platino Sensible	102	27	NA	-	<0,001
-Platino Resistente	24	17	28	(11,6-44,39)	

Tabla IV.37. Análisis univariante de la SG según las diferentes variables clínico-patológicas. * test Breslow

5.5. Análisis temporal multivariante

Hemos realizado un análisis de regresión de Cox para identificar aquellos factores que modifican la supervivencia de nuestras pacientes, en el que hemos incluido las variables que resultaron significativas en el análisis univariante.

5.5.1. Supervivencia libre de progresión

De todos los factores analizados, aquellos que han mostrado relación estadísticamente significativa con la SLP son (**Tabla IV.38.** y **Figura IV.31.**):

- Edad >65 años ($p=0,003$). Las pacientes diagnosticadas de CEO con más de 65 años, presentan mayor de progresión con respecto a las que se diagnostican con < 50 años.
- Estadio III-IV al diagnóstico ($p=0,003$). Las pacientes diagnosticadas en estadios avanzados tienen una SLP menor que las diagnosticadas en estadios precoces.
- Histología de carcinoma mucinoso ($p=0,045$). Las pacientes diagnosticadas de carcinoma mucinoso tienen un mayor riesgo de progresar con respecto a aquellas diagnosticadas de carcinoma seroso-papilar.
- La sensibilidad a platino ($p<0,001$). Los CEO platino resistentes tienen un riesgo de progresión mayor que las platino sensibles.
- Diagnóstico de CEO esporádico ($p=0,029$). Las pacientes con carcinomas esporádicos tienen un riesgo de progresión mayor que las pacientes portadoras de mutaciones germinales patogénicas en genes BRCA1, BRCA2, RAD51C, RAD51D o genes MMR.

La variable que más influye en la SLP es la sensibilidad a platino. Los carcinomas platino resistentes tienen hasta siete veces más riesgo de progresar que los platino sensibles (HR: 7,04, IC95% 3,18-16).

	E ^β /HR	95% IC	p
EDAD			
-<50 años	1		
-50-65 años	1,32	(0,72 - 2,39)	0,369
->65 años	2,9	(1,45 - 5,83)	0,003
ESTADIO			
-I-II	1		
-III-IV	3,01	(1,44 - 6,29)	0,003
TIPO HISTOLÓGICO			
-Seroso	1		
-Endometrioide	1,02	(0,34 - 3,01)	0,974
-Células Claras	0,45	(0,06 - 3,62)	0,38
-Mucinoso	3,26	(1,08-10,35)	0,045
QMT NEOADYUVANTE			
-Sí	1		
-No	0,81	(0,43-1,53)	0,519
TIPO DE CIRUÍA			
-Óptima	1		
-Subóptima	1,35	(0,79-2,3)	0,269
SENSIBILIDAD A PLATINO			
-Platino Sensible	1		
-Platino Resistente	7,04	(3,18 - 16)	<0,001
RESULTADO ESTUDIO GENÉTICO			
-Mutación patogénica	1		
-Alto riesgo + VUS BRCA	1,16	(0,59- 2,29)	0,656
-Control	1,97	(1,07-3,61)	0,029

Tabla IV.38. Análisis multivariante para la SLP

IV. Resultados

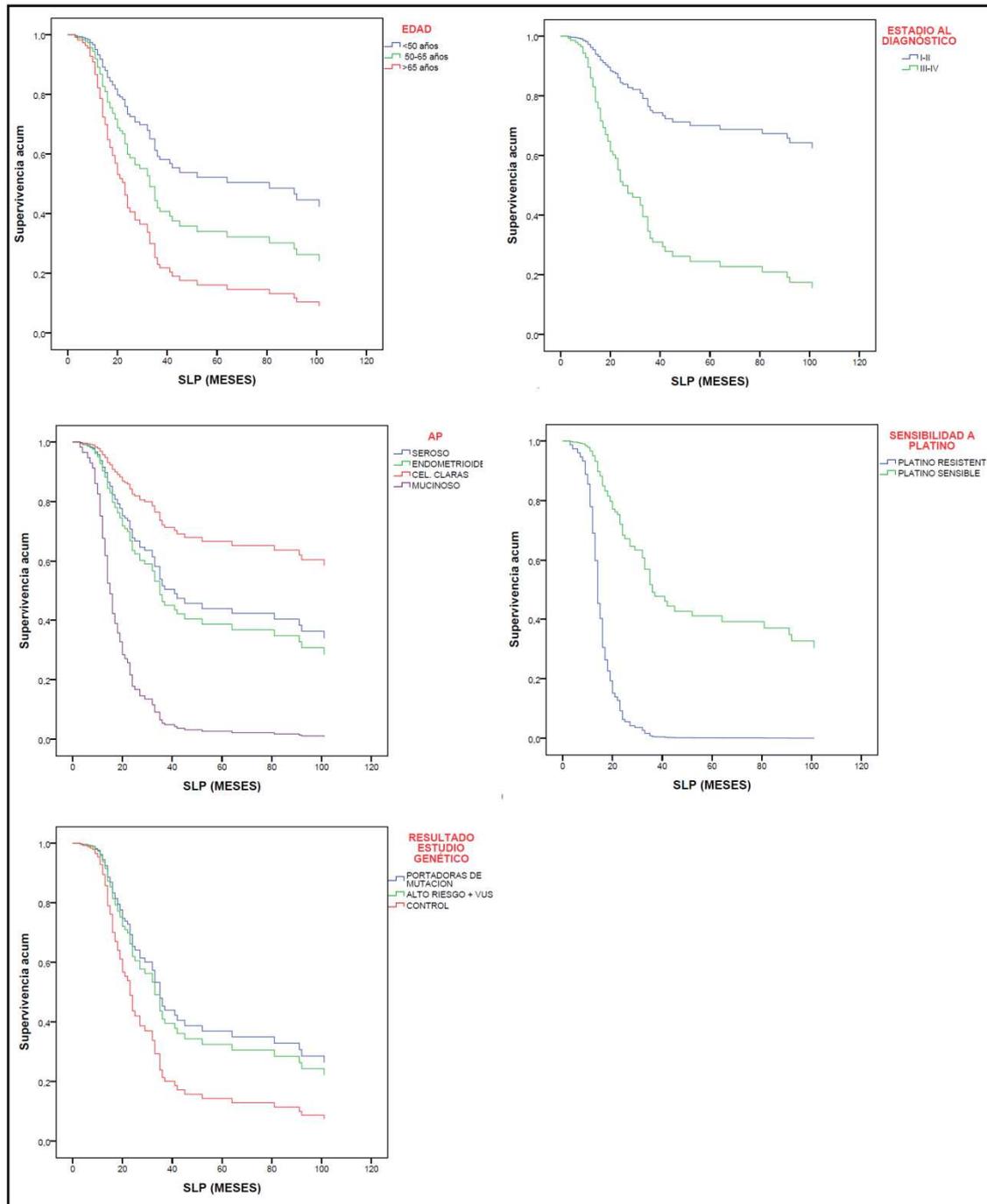


Figura IV.31. Curvas de SLP para las diferentes variables significativas en el análisis multivariante.

5.5.2. Supervivencia global

Las variables que se asocian significativamente con la SG son (Tabla IV.39. y Figura IV.32.):

- Sensibilidad a platino ($p < 0,001$). Los carcinomas platino resistentes se asocian a un riesgo mayor de fallecer con respecto a los carcinomas platino sensibles, siendo la variable con más peso sobre la SG.
- Diagnóstico de CEO esporádico ($p = 0,01$). Las pacientes diagnosticadas de CEO esporádico tienen un riesgo mayor de fallecer que las pacientes con carcinomas asociados a mutaciones en BRCA1, BRCA2, RAD51C, RAD51D o genes MMR.

La variable con más peso sobre la SG es la sensibilidad a platino. Los carcinomas platino resistentes se asocian a un riesgo 5 veces mayor de fallecer que los platino sensibles (HR: 4,89, IC95% 2,08-11,54).

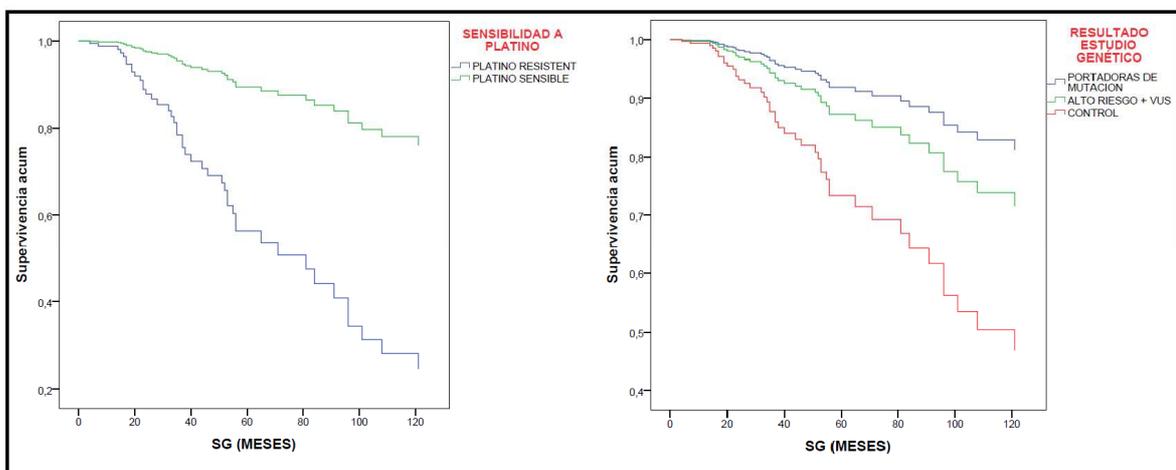


Figura IV.32. Curvas de SG para las diferentes variables significativas en el análisis multivariante.

IV. Resultados

	E ^β /HR	95% IC	p
ECOG			
- 0-1	1		
-2	1,29	(0,58-2,86)	0,532
EDAD			
-<50 años	1		
-50-65 años	0,81	(0,54-3,28)	0,589
->65 años	1,32	(0,53- 3,26)	0,546
ESTADIO			
-I-II	1		
-III-IV	1,87	(0,67-5,24)	0,234
TIPO HISTOLÓGICO			
-Seroso	1		
-Endometriode	0,33	(0,07-5,31)	0,3
-Células Claras	0,0	-	0,98
-Mucinoso	0,527	(0,18-5,59)	0,45
TIPO DE CIRUÍA			
-Óptima	1		
-Subóptima	1,39	(0,67-2,91)	0,373
QMT NEOADYUVANTE			
-Sí	1		
-No	0,77	(0,33-1,82)	0,554
SESIBILIDAD A PLATINO			
-Platino Sensible	1		
-Platino Resistente	4,89	(2,08-11,54)	<0,001
RESULTADO ESTUDIO GENÉTICO			
-Mutación patogénica	1		
-Alto riesgo +VUS BRCA	1,27	(0,42-3,88)	0,675
-Control	3,14	(1,31-7,5)	0,01

Tabla IV.39. Análisis multivariante para la SG.

IV. Resultados

V. Discusión

Durante el período abarcado por nuestro estudio, entre Enero de 2008 y Enero de 2016, 87 mujeres diagnosticadas de CEO que cumplían criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer fueron valoradas en las UCG de nuestra región. Según los datos del Registro de Cáncer de la Región de Murcia se estima que cada año se diagnostican entre 70-90 mujeres de cáncer de ovario, por lo que teniendo en cuenta únicamente los casos incidentes, esto supondría que sólo un 12-15% de las pacientes con cáncer de ovario son derivadas a una UCG (12). Esta proporción resulta escasa, sobre todo si tenemos en cuenta que los trabajos recientes estiman que entre un 15-24% de las mujeres que desarrollan cáncer de ovario epitelial serán portadoras de una mutación germinal patogénica (85). Es habitual que la derivación de mujeres con cáncer de ovario a las UCG sea inferior a la deseable por diferentes motivos. Distintos trabajos señalan que esta proporción oscila entre un 19-38%, una cifra que sigue siendo superior a la observada en nuestro estudio (84, 282, 283).

Entre las diversas causas a las que se ha atribuido el bajo porcentaje de derivación a UCG se encuentran el elevado coste que tradicionalmente se ha asociado a los análisis genéticos, la ausencia de cobertura de éstos por las compañías aseguradoras, la falta de concienciación del personal médico y por parte de los pacientes el miedo a la discriminación así como otras barreras psicológicas (283).

Factores asociados a una mayor derivación son la presencia de historia familiar muy sugestiva de síndrome hereditario de predisposición al cáncer (por ejemplo múltiples casos en la familia a edades jóvenes), un mayor nivel socio-cultural de la población diana y un mejor entrenamiento del personal sanitario en la identificación de los pacientes en riesgo (284).

Aunque la escasa derivación a UCG en nuestro estudio obedece a varias razones, probablemente la principal sea la utilización de los antiguos criterios de derivación, más restrictivos que los actuales. Durante el período del estudio, las principales guías clínicas recomendaban valorar la realización de un test genético a pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario sólo si se consideraba que éstas tenían alto riesgo de cáncer hereditario, definido como una probabilidad >10% de ser portadoras de una

V. Discusión

mutación germinal patogénica. Para ser catalogadas de alto riesgo se valoraba la presencia de antecedentes personales o familiares de cáncer de mama y/u ovario, o bien una edad de diagnóstico más joven de la habitual (247, 248, 285, 286).

Sin embargo en los últimos años, diversos trabajos han señalado que hasta el 40% de pacientes con cáncer de ovario portadoras de mutaciones germinales en BRCA1/2 carecen de historia previa personal o familiar de cáncer, y sugieren que se debe ampliar la realización de test genético a todas las mujeres diagnosticadas de CEO de alto grado (84, 85, 287-289). El desarrollo de los inhibidores de PARP ha supuesto el descubrimiento del papel predictivo de las mutaciones en BRCA, lo que también ha contribuido a la necesidad de identificar a todas las portadoras y por tanto a ampliar los criterios de realización de test genéticos (162).

En los últimos años, por tanto, nos hemos encontrado con que diferentes guías recomendaban el estudio genético teniendo en cuenta diferentes criterios. En una reciente revisión sistemática de las guías clínicas del cáncer de ovario hereditario (290), sólo un tercio de las mismas recomienda realizar el estudio independientemente de la historia familiar. Utilizando los criterios de las guías que aún no se han actualizado, este trabajo estima que en el 27% de las portadoras de mutaciones en BRCA no se llegaría a hacer el test genético por no cumplir todos los requisitos para ello y quedaría sin diagnosticar. De ahí la importancia de llevar a cabo el estudio de genes BRCA1/2 en todas las pacientes diagnosticadas de CEO de alto grado no mucinoso, tal y como se recomienda en las principales guías en la actualidad (260, 291).

Entre otras causas que pueden haber influido en el escaso número de mujeres derivadas en nuestro medio se encuentran el rechazo por parte de las pacientes y sus familiares a realizarse el estudio genético, debido al desconocimiento de las estrategias de prevención y manejo que éste conlleva. Por otro lado, la falta de tiempo y la imposibilidad de disponer de la historia familiar completa en muchos casos, impide al profesional médico identificar a los individuos en riesgo de ser portadores de una mutación germinal hereditaria y por tanto de derivarlos a UCG.

Otro factor importante es el momento de llevar a cabo la consulta a las UCG, que, en nuestro medio suele ser en fases avanzadas de la enfermedad, con lo cual en bastantes casos no se llega a realizar el test genético porque la paciente se encuentra en mala situación clínica o ha fallecido. Por este motivo las guías en la actualidad enfatizan que la valoración de riesgo de cáncer hereditario debe hacerse en el momento del diagnóstico (261, 291).

1. Análisis descriptivo de las características de nuestras pacientes:

La característica principal que define nuestra serie de pacientes es que todas ellas cumplen criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer, lo que va a influir en ciertas variables clínicas. Las principales particularidades de nuestra población se describen a continuación.

La mediana de **edad** al diagnóstico del total de nuestra muestra es de 46 años, y de 47 años si excluimos a las tres pacientes diagnosticadas de neoplasia germinal. Esta cifra contrasta con la mediana de 63 años en el conjunto de población afectada por cáncer de ovario (292). Si atendemos a la distribución de las pacientes según grupos de edad, hay que resaltar que en nuestra muestra el 70% son menores de 50 años, mientras que en la población general el 70% de los casos se presenta en mayores de 55 años, y la franja de edad en que se acumula el mayor número de casos se sitúa entre los 55 y los 65 años de edad (293) (**figura IV.1**).

La razón de esta distribución atípica se debe principalmente a que uno de los criterios de alto riesgo de pertenecer a una familia con síndrome hereditario de predisposición al cáncer que hemos utilizado es el diagnóstico de cáncer de ovario con una edad <40 años, lo que hace que el grueso de nuestra población esté formada por mujeres jóvenes. La edad va a tener a su vez repercusión sobre otras variables clínicas como veremos más adelante.

La **situación basal** de la mayoría de nuestras pacientes (el 92,2%) es de ECOG 0-1 al diagnóstico. Este hecho guarda relación principalmente con la menor edad de nuestra cohorte aunque también puede haber influido la presencia de una mayor proporción de tumores diagnosticados en estadios iniciales en comparación con la población general, que producen menor sintomatología y deterioro clínico.

Con respecto al **estadio al diagnóstico**, el cáncer de ovario es difícil de diagnosticar en etapas tempranas debido a que inicialmente produce síntomas poco específicos, de ahí que en el 62% de los casos se presente en estadios avanzados (FIGO III-IV) (294). Si bien esta proporción fue similar en nuestra muestra (57,8% se presentaron estadios III-IV), cabe resaltar un mayor número de estadios I. Un 26,7% (24 pacientes) en nuestro trabajo tenían el tumor confinado al ovario en el momento del diagnóstico mientras que este porcentaje se sitúa en torno al 15% en la población general (293, 294). Probablemente este hecho guarde relación con el mayor número de carcinomas con histologías no serosas (carcinomas endometrioides y mucinosos concretamente) así como con las tres neoplasias germinales incluidas en nuestra cohorte, ya que habitualmente estos subtipos se presentan en estadios tempranos (295-297).

En lo referente al **subtipo histológico**, en términos generales el más frecuente es el seroso-papilar, que supone el 75% de los carcinomas de ovario, seguidos de los carcinomas endometrioides y de células claras que suponen un 10% cada uno, mientras que el mucinoso supone <5% del total (298). En nuestra muestra más del 30% se corresponden con histologías no serosas, entre las que destacan 8 casos (8,9%) de carcinomas mucinosos y 13 casos (14,4%) de endometrioides. La edad habitual de presentación de estas histologías es menor que la del subtipo seroso y se sitúa entre los 40 y 50 años, lo que podría explicar por qué son más frecuentes en nuestra muestra (295, 296). La proporción de nuestras pacientes (88,5%) que fueron diagnosticadas de carcinomas de alto **grado histológico** es similar a la de la población general con cáncer de ovario (298).

Especial mención merece la presencia de tres neoplasias germinales entre nuestras pacientes: dos disgerminomas ováricos y un teratoma inmaduro. Estas tres pacientes no cumplen criterios de estudio genético por el diagnóstico de neoplasia germinal de ovario, sin embargo, las tres cumplían criterios de alto riesgo de SCMOH. Dos de ellas presentaban historia familiar sugestiva, por lo que se localizó el caso índice más adecuado en la familia y se realizó el test genético. Una vez identificada la mutación, se procedió al estudio de la misma en las pacientes, resultando ambas portadoras. Posteriormente al diagnóstico genético, una de ellas desarrolló un carcinoma de colon a los 44 años y un carcinoma de mama los 57 años. En el tercer caso, la paciente además de haber sido diagnosticada de un disgerminoma ovárico estadio IC a los 13 años, tenía el antecedente de carcinoma de mama con fenotipo luminal diagnosticado a los 39 años, lo que constituye por sí solo un criterio de alto riesgo de SCMOH. Se llevó a cabo el estudio genético y se identificó la mutación patogénica c.1608dupT en BRCA2.

El diagnóstico de neoplasias germinales se ha asociado en algunos casos con un componente hereditario. La historia familiar constituye un factor de riesgo para los tumores germinales testiculares, y ésta se ha relacionado con la presencia de una mayor susceptibilidad genética. Los casos familiares se caracterizan por presentarse a una menor edad y tener una mayor tendencia a la bilateralidad (299, 300). Se ha propuesto la presencia de un gen de alta penetrancia responsable de esta susceptibilidad en el cromosoma Xq27, aunque hasta la fecha no se ha identificado un locus concreto que explique la predisposición familiar a estas neoplasias (297, 301). Por otro lado, son pocas las familias descritas en las que se han observado casos de neoplasias germinales tanto testiculares como ováricas (disgerminomas principalmente) (302). Se ha descrito la presencia de disgerminomas en pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1, sin embargo, en la actualidad se considera que estas neoplasias no forman parte del espectro tumoral asociado a alteraciones en los genes BRCA (303). Por tanto, debemos considerar que la presencia de tres tumores germinales entre nuestras pacientes no se relaciona con el hecho de ser portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA.

2. Análisis descriptivo de las variantes génicas encontradas en nuestra población

Los trabajos más recientes que analizan los diferentes genes implicados en la herencia del cáncer de ovario, incluyen pacientes no seleccionadas por la historia familiar y realizan el estudio genético mediante técnicas de secuenciación masiva, lo que permite analizar simultáneamente múltiples genes. En ellos se estima que las mutaciones germinales patogénicas están presentes en el 18-24% de los casos. Las mutaciones en BRCA1 y BRCA2 son las más frecuentes y están presentes en el 15% de las pacientes, seguidas por mutaciones en genes implicados en la vía de la RH (3-6%), genes MMR (<1%) y TP53 (<1%) (83, 85, 117). Los estudios más antiguos que se limitan a analizar únicamente la proporción de los genes BRCA1 y BRCA2, describen unas frecuencias en torno al 15% (84, 138).

En nuestra población el porcentaje de pacientes portadoras de mutaciones patogénicas fue considerablemente mayor (55,5% de todas las pacientes y 54% si no tenemos en cuenta a las tres mujeres diagnosticadas de tumor germinal). En cuanto a la distribución según el gen mutado, un 28,7% fueron portadoras de mutaciones en BRCA1, un 14,4% en BRCA2, un 12,6% en genes MMR, un 2,5% en RAD51D y 1,2% en RAD51C (**figura IV.4**).

Las razones de las diferencias en la frecuencia y distribución de las mutaciones en nuestra muestra se deben a la selección a partir de la historia familiar y no únicamente por el diagnóstico de CEO, lo que aumenta la probabilidad de que una mujer sea portadora de una mutación germinal (304).

Varios trabajos han demostrado que la presencia de antecedentes familiares de cáncer de ovario aumenta de forma significativa el riesgo de desarrollar este tipo de tumor, llegando a triplicarlo si existe una familiar de primer grado afecta (59). También se ha descrito mayor riesgo si existe historia familiar de cáncer de mama y colon (305). Estas asociaciones descritas podrían estar relacionadas con la presencia de factores genéticos hereditarios en la familia y en concreto con la presencia de mutaciones

patogénicas en genes de alta penetrancia que conllevarían un mayor riesgo para desarrollar diferentes tipos de cáncer (306).

En lo que respecta a la proporción de mutaciones en genes relacionados con la RH diferentes de BRCA, en nuestra muestra únicamente se han analizado los genes RAD51C y RAD51D, por lo que entre las pacientes sin alteraciones en el estudio genético, podría haber portadoras de mutaciones en otros genes distintos no estudiados.

2.1. Mutaciones en genes BRCA1 y BRCA2

En nuestro estudio, el 43,3% de los sujetos de la muestra (39 pacientes) fueron portadoras de mutaciones patogénicas en BRCA1/2, y este porcentaje se sitúa en el 41,1% si no tenemos en cuenta las tres pacientes diagnosticadas de neoplasia germinal ovárica. Esta cifra está en consonancia con lo publicado en trabajos previos, que señalan el diagnóstico de CEO como uno de los mejores indicadores de ser portador de una mutación patogénica en BRCA1/2, por encima de otros criterios como el diagnóstico precoz de cáncer de mama o presencia en la historia familiar de tres casos de cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas. La presencia de cáncer de ovario se asocia a una tasa de detección de mutación en BRCA1/2 que oscila entre un 38-80%, en función de si coexisten otros criterios de riesgo en el individuo o su historia familiar (307).

En consonancia con lo ya descrito, la mayor parte de variantes patogénicas de nuestra muestra (72%) se deben a mutaciones frameshift y nonsense que dan lugar a codones de parada prematuros. La mayoría de las mutaciones en ambos genes se sitúan en el exón 11, que es la región codificante más extensa tanto en BRCA1 como en BRCA2. Mutaciones situadas en la porción central del exón 11 se asocian además a un aumento relativo del riesgo de desarrollar cáncer de ovario con respecto al cáncer de mama (95). En lo referente a LRG, tres de nuestras pacientes presentaron deleciones de grandes segmentos (exones 10-14 de BRCA1, exón 2 de BRCA2 y exón 21 de BRCA2), lo que supone un 12% de todas las mutaciones patogénicas descritas. La frecuencia de los LRG varía de unas poblaciones a otras, y, a diferencia de lo que ocurre en nuestra muestra, suele ser mayor en BRCA1 que en BRCA2 (308). Sin embargo, en

V. Discusión

España la proporción de LRG en ambos genes es similar, y se sitúa en un 2% para BRCA1 y 1,5% para BRCA2 (309, 310).

Las cuatro variantes patogénicas más frecuentes en BRCA1 en nuestra población son c.68_69delAG, c.212+1G>A, c.1912delG y c.3583delC, y suponen el 50% de las mutaciones halladas en dicho gen.

La mutación c.68_69delAG en BRCA1 ha sido descrita con una prevalencia variable en diferentes regiones españolas, siendo particularmente frecuente en la cuenca mediterránea (311-314). Es nuestra región es responsable del 16,7% de las mutaciones en BRCA1, siendo la variante patogénica más recurrente (314). Es una de las mutaciones fundadoras de los judíos Ashkenazis y se estima que se originó hace unas 46 generaciones (315). Ninguna de las portadoras fue diagnosticada de cáncer de mama, a pesar de que esta mutación suele asociarse a carcinomas ductales triples negativos (316).

Las variantes c.212+1G>A, c.1912delG y c.3583delC en BRCA1 le siguen en frecuencia con porcentajes del 13%, 1,6% y 5% en la Región de Murcia (314). Las tres se han asociado con frecuencia con la presencia de cáncer de ovario en las familias portadoras. Las mutaciones c.1912delG y c.3583delC, además, han sido descritas únicamente en población española (99, 317, 318).

Merece la pena destacar tres mutaciones en BRCA1 presentes en nuestra muestra que han sido descritas únicamente en la Región de Murcia: las variantes c.1918C>T, c.2285_2286delGA y c.1224_1225insA.

La mutación c.1918C>T fue descrita inicialmente en dos familias murcianas no emparentadas con historia de cáncer de mama en mujeres premenopáusicas. Esta variante nonsense da lugar a un codón de parada en la posición 640 de la proteína, eliminando el extremo carboxílico terminal que incluye el dominio BRCT. El análisis de haplotipos en los portadores reveló que compartían un antecesor común (319). Las dos portadoras de esta mutación de nuestra muestra no están emparentadas. Una de ellas fue diagnosticada de carcinoma de mama triple negativo a los 54 años y de carcinoma

de ovario seroso a los 59 años. La otra portadora fue diagnosticada a los 43 años de un melanoma en miembro inferior y a los 48 años de un carcinoma seroso de ovario.

La variante frameshift c.1224_1225insA no ha sido previamente descrita, y a diferencia de la anterior, ni el caso índice ni su familia presenta antecedentes de cáncer de mama. La variante c.2285_2286delGA es una mutación frameshift que da lugar a una proteína truncada no funcional y no se encuentra registrada en las bases de datos. Ha sido descrita previamente en una mujer de nuestra región diagnosticada de cáncer de mama con fenotipo luminal a los 28 años.

En nuestra muestra se han descrito 12 variantes patogénicas diferentes de BRCA2. La única presente en dos pacientes distintas fue c.9117G>A, una mutación de splicing que constituye una de las variantes más recurrentes en nuestra región, responsable del 12,8% de las mutaciones en este gen. En España ha sido descrita previamente en una familia en Cataluña (320). Cabe destacar que se ha asociado con el desarrollo de cáncer de ovario y mama en mujeres portadoras (314). La delección del exón 2 constituye la mutación más frecuente en BRCA2 en Murcia, y constituye el 14,9% de las mutaciones en este gen. Ha sido descrita en cuatro familias españolas previamente y parece tener un efecto fundador (321).

A pesar de la larga experiencia en el análisis de BRCA1/BRCA2, cuando se lleva a cabo el estudio genético es frecuente encontrar VUS, con la incertidumbre que ello conlleva tanto para las pacientes como para los médicos que las atienden. Por ello es importante llevar a cabo una clasificación de las mismas en la fase post analítica para intentar caracterizar al máximo la posible patogenicidad, lo que supone un proceso laborioso en la práctica clínica diaria (94). Se estima que en Europa, las VUS en genes BRCA1/2 están presentes en el 15% de los casos estudiados, pero este porcentaje desciende hasta el 5% en poblaciones bien caracterizadas (94, 322). Tras reclasificar las variantes encontradas en nuestra muestra, 7 de las 35 mutaciones (20%) halladas en BRCA1/2 corresponden a variantes clase 3 del ACMG, lo que significa que únicamente un 7,7% (7/90) de todas las pacientes incluidas en nuestra muestra es portadora de una VUS en BRCA.

2.2. Mutaciones en genes MMR

Un 8,9% de pacientes en nuestra muestra resultó portadora de una mutación en un gen MMR. Como es lógico si tenemos en cuenta que nuestras pacientes son seleccionadas por su historia familiar y personal, esta proporción es considerablemente mayor que la esperada en el total de carcinomas de ovario, que se estima en torno al 0,4% (83). Las mutaciones en MSH2 y MSH6 se asocian a un mayor riesgo de desarrollar cáncer de ovario, y por ello es frecuente encontrarlas en las pacientes con síndrome de Lynch diagnosticadas de esta neoplasia, al igual que ocurre en nuestra población (192). A medida que se extienda la utilización de los paneles de genes y no se realice el test genético en base a la historia familiar, probablemente observaremos un incremento en la proporción de mutaciones en PMS2 y MSH6 en pacientes con cáncer de ovario, como ya se ha comunicado en algunos trabajos (83, 184). Estas pacientes pueden presentar un fenotipo más compatible con el SCMOH que con el síndrome de Lynch. Es el caso de la paciente portadora de la única mutación hallada en MSH6 en nuestra cohorte, diagnosticada a los 45 años de un adenocarcinoma de endometrio endometriode estadio III y de forma sincrónica de un carcinoma seroso-papilar de ovario IC y un carcinoma lobulillar de mama fenotipo Luminal A.

De las cinco variantes descritas en genes MMR, una se corresponde con un LRG, la pérdida de los exones 3-5 en el gen MSH2, variante descrita por primera vez en población alemana (59). Esto supone una frecuencia de LRG en nuestra población del 20%, que está en consonancia con la importante proporción de casos de síndrome de Lynch que presentan este tipo de mutaciones (323). En concreto, en población española se estima que un 10% de casos de síndrome de Lynch se deben a grandes deleciones en MSH2 (196). La variante de splicing c.1511-1G>A en MSH2, presente en dos de nuestras pacientes, ha sido descrita únicamente en población española (324).

Seis portadoras (75 %) de mutaciones en MMR, presentaron deficiencia en el sistema MMR en la biopsia tumoral (en seis de ellas en la biopsia del carcinoma de ovario y en una en la de carcinoma de colon), bien mediante análisis IHQ (4 pacientes, 50%) o bien mediante técnica de IMS (2 pacientes, 25%). En la actualidad se

recomienda llevar a cabo una estrategia ampliada de screening de síndrome de Lynch en los carcinomas de origen colorrectal, que no esté basada únicamente en la historia familiar, ya que de esta forma pasarían desapercibidos hasta 1 de cada 4 casos. Este screening se puede realizar mediante el análisis de IMS o expresión de proteínas reparadoras en el tejido tumoral (325). En lo que respecta a las neoplasias ginecológicas, la tendencia es también ampliar el screening, y las recomendaciones actuales van encaminadas a realizarlo en todos aquellos casos en que exista sospecha de síndrome de Lynch independientemente de la historia familiar, bien por el subtipo histológico (carcinomas endometrioides y de células claras), edad de presentación joven o presencia de carcinomas sincrónicos (326). En el caso de los carcinomas de ovario se recomienda realizar inicialmente IHQ de proteínas reparadoras por varios motivos. Por un lado permite orientar acerca del gen que debe analizarse y por otro lado, tiene una elevada sensibilidad para detectar mutaciones en todos los genes MMR. Una proporción importante de mujeres con carcinoma de ovario presentará mutaciones en MSH6 que son particularmente proclives a asociarse a un fenotipo estable y por tanto a pasar desapercibidas mediante la técnica de IMS (327).

2.3. Mutaciones en RAD51C y RAD51D

La frecuencia en nuestra muestra de mutaciones en RAD51C fue del 1,1% (1 paciente) y 2,2% (2 pacientes) respectivamente, mientras que la frecuencia estimada en la población general con cáncer de ovario se sitúa en un 0,34 y 0,35% (125). Entre familias españolas con antecedentes de cáncer de mama y ovario, negativas para mutaciones en genes BRCA1/BRCA2, se ha encontrado una frecuencia de mutaciones en RAD51C del 1,3% y en RAD51D del 0,8%, que se acerca más a nuestros resultados (273, 274).

La variante c. 404C>T en RAD51C hallada en nuestra paciente, se considera una variante missense y ha sido descrita de forma exclusiva en otra familia española con historia de cáncer de mama y de ovario (273).

La mutación nonsense c.694C>T en RAD51D ha sido descrita en familias españolas y americanas con antecedentes de carcinoma de ovario exclusivamente, y en todos los casos, al igual que nuestras pacientes, los portadores presentaban la variante en el exón 8 del mismo gen c.715C>T. Esto sugiere que ambas mutaciones parecen heredarse de forma conjunta en cis y que la mutación nonsense podría tener un efecto fundador (274).

3. Características clínico-patológicas en función de resultado de estudio genético

Los datos obtenidos en nuestro trabajo están en consonancia con lo descrito en lo que respecta a las principales características clínicas como son la edad al diagnóstico, el subtipo histológico y el estadio tumoral, en las que se objetivan claras diferencias en función del tipo de resultado genético obtenido.

En lo referente a la **edad de diagnóstico**, en nuestra muestra tanto las portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 como en genes MMR fueron diagnosticadas a edades más jóvenes que la población general (mediana de 49 años para las pacientes BRCA+ y 45 años para pacientes con síndrome de Lynch), similar a lo descrito en la literatura publicada (102, 147, 198, 328). Sin embargo, las diferencias entre grupos no llegan a alcanzar la significación estadística probablemente debido al escaso número de pacientes incluidas ($p=0,05$). Dentro de los CEO asociados a mutaciones en genes BRCA, se ha observado de forma constante que las portadoras de mutaciones en BRCA1 los desarrollan de 5-10 años antes que las portadoras en mutaciones en BRCA2 (102, 147). En nuestro trabajo, también observamos esta tendencia (mediana de edad al diagnóstico en presencia de mutaciones en BRCA1 de 47 años vs 52 años en mutaciones de BRCA2), si bien el escaso número de portadoras impide alcanzar la significación estadística.

Al contrario de lo expuesto en los trabajos publicados, nuestras dos portadoras de mutaciones en RAD51D fueron diagnosticadas en la premenopausia (46 y 47 años). Se ha descrito de forma uniforme que la mayoría de portadoras tanto de mutaciones en

RAD51C como en RAD51D que desarrollan cáncer de ovario lo hacen a partir de los 50 años (125, 329, 330).

La distribución de los **subtipos histológicos** también coincide con lo publicado en otros trabajos, con una mayoría de carcinomas serosos de alto grado asociados a mutaciones en BRCA1/BRCA2, mientras que la mayor parte de carcinomas asociados al síndrome de Lynch tiene una histología endometriode, y estas diferencias resultan estadísticamente significativas ($p < 0,001$) (102, 147, 198, 328). Podemos observar que salvo un caso en una portadora de mutación en RAD51D, el resto de carcinomas de estirpe mucinosa se encuentran en los grupos VUS BRCA y de alto riesgo, lo que concuerda con la observación de que estos tumores son los que con menor frecuencia se asocian a la presencia de mutaciones patogénicas en BRCA1, BRCA2 o genes MMR (331).

No hemos objetivado diferencias significativas en la distribución del **grado histológico** entre los distintos grupos. En todos ellos predominan los carcinomas de alto grado.

En lo que respecta al **estadio tumoral al diagnóstico**, en nuestra muestra el 80,6% de pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 fueron diagnosticadas en estadios avanzados, mientras que el 62,5% de las pacientes con síndrome de Lynch debutaron en estadios iniciales ($p = 0,009$). Esta distribución es similar a la publicada en la literatura (102, 147, 198, 328). En el resto de grupos, al contrario de lo que cabría esperar, el diagnóstico se llevó a cabo en estadios precoces en la mayor parte de los casos (66,7% en portadores de mutaciones en RAD51, 71,4% en el grupo VUS BRCA y 51,5% en el grupo Alto riesgo). El motivo de esta mayor proporción de carcinomas diagnosticados en estadios tempranos probablemente se relacione con la mayor proporción de histologías mucinosas y de células claras en estos subgrupos, que como ya hemos visto se diagnostican con más frecuencia en fases tempranas.

V. Discusión

En todas las categorías según el resultado genético, hubo pacientes que desarrollaron más de una neoplasia, un hecho esperable dados los criterios de inclusión de nuestra muestra. La proporción de mujeres que desarrollaron más de una neoplasia, oscila entre el 14,3% en portadoras de VUS de BRCA y el 62,5% en portadoras de mutaciones en genes MMR, sin que se apreciaran diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos ($p=0,11$). De acuerdo con lo descrito, la neoplasia más frecuente además del CEO entre portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 fue el cáncer de mama, en un 33,3% (13/39) de las pacientes, y entre éstas únicamente un caso se diagnosticó de forma sincrónica. Es habitual que el diagnóstico de cáncer de mama sea anterior al de cáncer de ovario, sobre todo en portadoras de mutaciones de BRCA1 (263). En nuestra muestra, excluyendo a las dos pacientes con disgerminoma ovárico que también desarrollaron cáncer de mama, el 14% de las pacientes (5/37) desarrollaron el cáncer de mama antes del diagnóstico de carcinoma de ovario y otro tanto lo hicieron después. Se estima que la probabilidad de desarrollar cáncer de mama tras el diagnóstico de cáncer de ovario en portadoras de mutaciones en BRCA está por debajo del 10% a los 10 años, ya que la SG viene determinada por la evolución del cáncer de ovario (332).

La neoplasia extraovárica más frecuente en pacientes con síndrome de Lynch, fue el adenocarcinoma de endometrio, presente en 4 pacientes (50%), en todas ellas diagnosticado de forma sincrónica al cáncer de ovario. Sólo dos pacientes (25%) desarrollaron un carcinoma de colon, ambos posteriormente al diagnóstico de cáncer de ovario.

En conclusión, los datos obtenidos de nuestra muestra confirman la presencia de al menos dos fenotipos tumorales diferentes asociados a la presencia de determinadas mutaciones germinales. Las mutaciones en BRCA1/BRCA2 se asocian a carcinomas de histología serosa de alto grado que se diagnostican generalmente en estadios avanzados, a edades más jóvenes que los carcinomas esporádicos (generalmente en la quinta década de la vida) y hasta un tercio de las pacientes presentan cáncer de mama. Las mujeres con síndrome de Lynch suelen presentar carcinomas de histología endometriode, en estadios precoces y se diagnostican alrededor de los 45 años. En una proporción

importante (el 50% en nuestra muestra) se asocian a carcinomas de endometrio, que suelen diagnosticarse de forma sincrónica. Estos datos deben ser tenidos en cuenta a la hora de seleccionar a posibles candidatas a estudio genético, así como para individualizar las estrategias de screening y prevención.

4. Análisis de supervivencia comparativo entre grupo BRCA+ y grupo Control

4.1. Respuesta al tratamiento

Diversos estudios retrospectivos han descrito ampliamente que los carcinomas de ovario en mujeres portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 presentan una mayor TR a quimioterapia basada en platinos y unos ILP más prolongados que los carcinomas esporádicos. Ambos aspectos están estrechamente relacionados. El ILP tras la primera línea de quimioterapia se correlaciona con la probabilidad de responder a una siguiente línea basada en platino. En concreto, cuanto mayor es el ILP, mayor es la probabilidad de obtener una respuesta.

Tradicionalmente se ha relacionado esta mayor quimiosensibilidad a la alteración subyacente en estos carcinomas de los mecanismos de reparación del ADN, en concreto de la RH (84, 102, 117, 147, 238). Esta mayor sensibilidad también se ha observado para otros agentes quimioterápicos como las antraciclinas, y parece perdurar en las sucesivas líneas de tratamiento utilizadas (333).

Se estima que aproximadamente un tercio de las pacientes diagnosticadas de CEO que obtienen una remisión tras una primera línea de quimioterapia basada en platino, presentarán una recaída durante los 6 meses siguientes a la finalización del tratamiento (334). Esta proporción es similar aunque discretamente superior, a la de nuestra cohorte Control, que se sitúa en el 27,9% (**figura IV.12**). En el conjunto de pacientes portadoras de mutaciones en BRCA, el porcentaje de carcinomas platino resistentes es considerablemente inferior, y se sitúa en torno al 15% (335), cifra similar

V. Discusión

a la de nuestra cohorte BRCA+ (14,7%). Sin embargo, estas diferencias no resultan estadísticamente significativas ($p= 0,268$).

En lo referente al ILP, las diferencias entre ambas cohortes tampoco llegan a alcanzar la significación estadística (mediana de ILP en cohorte BRCA+ de 19 meses vs 12 meses en cohorte Control; $p= 0,05$) (**figura IV.13**).

Entre las posibles razones que han podido influir en nuestros resultados se encuentran en primer lugar el escaso tamaño muestral que limita la potencia de nuestro estudio para detectar diferencias entre ambas cohortes.

Por otro lado, los criterios de inclusión utilizados para seleccionar las pacientes del grupo Control fueron ideados para balancear las características basales de ambas cohortes y han podido influir minimizando las diferencias en lo referente a la respuesta al tratamiento. En la elección de la cohorte Control, hemos llevado a cabo una inclusión selectiva de mujeres con edad más joven de lo habitual, con diagnóstico de carcinoma seroso de alto grado en estadio avanzado, sin historia familiar sugestiva de SCMOH. Este hecho ha propiciado que en nuestra cohorte Control, parte de las mujeres incluidas presentara un fenotipo BRCAness, es decir, unas características clínicas similares a las de las pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2. Se sabe que un subgrupo de pacientes con este fenotipo presenta alteraciones en la vía de la RH, bien por la presencia de mutaciones somáticas en genes BRCA o por mutaciones en otros genes relacionados, ya sean somáticas o germinales (232). Estos casos presentarían una quimiosensibilidad similar a la de los carcinomas hereditarios y sería más difícil encontrar diferencias entre ambos grupos en lo referente a la respuesta al tratamiento. Además explicaría que la tasa de pacientes con enfermedad platino resistente en nuestro grupo Control sea inferior a la comunicada en otros estudios (335).

Por último, aunque la mayoría de estudios han analizado la repercusión clínica de las mutaciones en BRCA1 y BRCA2 de forma conjunta, cada vez hay mayor evidencia de que estas mutaciones no tienen los mismos efectos sobre la biología del CEO. Varios trabajos han señalado que las mutaciones en BRCA2 se asocian a una

mayor respuesta a la quimioterapia que las mutaciones en BRCA1 o los carcinomas serosos esporádicos (148, 238, 336). El motivo de esta distinta quimiosensibilidad probablemente se encuentre en la función diferente de cada gen (337). La función principal de BRCA2 es la regulación de la proteína RAD51, necesaria para la reparación de la doble cadena de ADN durante el proceso de RH. Las células deficientes en BRCA2, por tanto, presentan alteración en el mecanismo de RH, y recurren al sistema de reparación NHEJ, más proclive a errores (338). Todo ello conllevaría una mayor sensibilidad a la quimioterapia. Sin embargo, BRCA1 juega un papel más versátil ya que participa en varios procesos celulares (respuesta al daño en ADN, control del ciclo celular, remodelación de la cromatina, regulación de la transcripción). El fallo de uno de estos mecanismos podría predisponer a la célula con mutación en BRCA1 al proceso de carcinogénesis, pero no necesariamente la haría más sensible a agentes que inducen daño sobre el ADN (148).

Por este motivo, el escaso número de portadoras de mutaciones en BRCA2 de nuestra muestra (11 pacientes), ha podido influir minimizando las posibles diferencias en la sensibilidad al tratamiento con platinos.

4.2. Análisis de supervivencia

Como ya se ha señalado, una de las principales características que se ha atribuido al CEO asociado a mutaciones en BRCA1/BRCA2 es el mejor pronóstico en términos de SLP y SG. Esta ventaja en supervivencia se ha evidenciado en diversos trabajos y en tres metanálisis recientes (81, 233, 234). Los resultados de nuestra población concuerdan con estas observaciones. Tras una mediana de seguimiento de 4 años aproximadamente (46 meses), el pronóstico de las pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 es significativamente mejor que el de pacientes con carcinoma esporádico tanto en lo referente a SLP (33 vs 22 meses, $p=0,033$) como a SG (mediana no alcanzada vs 53 meses, $p<0,001$) (**figuras IV.14 y IV.15**).

A la hora de analizar estos resultados, debemos tener en cuenta que las medianas de SLP y SG que hemos obtenido para nuestra cohorte BRCA+ son similares a las

reportadas por otros estudios retrospectivos (272, 339, 340). Sin embargo, las medianas de SLP y SG obtenidas para nuestra cohorte Control son discretamente superiores a las comunicadas por otros trabajos. En el estudio GOG 172, un ensayo fase III diseñado para analizar el papel de la quimioterapia intraperitoneal adyuvante en mujeres diagnosticadas de cáncer de ovario en estadio avanzado, tras una mediana de seguimiento de 48 meses, se obtuvieron unas medianas de SLP de 18,3 meses y de SG de 49,7 meses en el brazo de quimioterapia iv (341). El mejor pronóstico de nuestra cohorte Control podría deberse a que el 20% de las pacientes incluídas presentaba un estadio limitado al diagnóstico, y por tanto tendrían menos probabilidad de presentar una recaída.

4.2.1. Factores pronósticos encontrados en nuestro estudio

En lo que respecta a los factores pronósticos asociados al riesgo de recaída, las variables edad, estadio al diagnóstico, tipo de cirugía, administración de quimioterapia neoadyuvante, sensibilidad a platino y la presencia de mutaciones en los genes BRCA1/BRCA2 resultaron significativas en el análisis univariante (**tabla IV.23**).

Al incorporar dichas variables al análisis multivariante, sólo la edad >65 años, el estadio avanzado al diagnóstico, la sensibilidad a platino y la presencia de mutaciones en BRCA1/BRCA2 se asociaron de forma independiente con la SLP (**tabla IV.25, figura IV.17**).

En lo referente a la SG, han resultado variables pronósticas independientes en el análisis multivariante, la administración de quimioterapia neoadyuvante, el tipo de cirugía, la sensibilidad a platino y la presencia de mutaciones en BRCA1/BRCA2 (**tabla IV.26, figura IV.18**).

El resto de variables clínicas y patológicas no han demostrado influir en el pronóstico de forma significativa en nuestro estudio. Debemos tener en cuenta que la mayor parte de la evidencia del papel pronóstico de factores clínicos y patológicos como la edad, la situación basal, el estadio y el subtipo histológico, provienen de estudios de CEO en el que no se ha llevado a cabo análisis de los genes

BRCA1/BRCA2 (74, 342). La información acerca del papel de estas variables en la supervivencia de CEO clasificado según la presencia de mutaciones en BRCA es escasa.

A continuación discutiremos las diferentes variables con influencia significativa sobre el pronóstico en nuestro estudio.

4.2.1.1 Variables clínicas

El incremento de **edad** es uno de los factores pronósticos asociados de forma clásica a una menor SLP y SG (74). Sin embargo en nuestro estudio, sólo hemos encontrado relación significativa con la SLP. En concreto, las pacientes mayores de 65 años presentan mayor riesgo de recaída con respecto a las menores de 50 años (HR:2,63, IC95% 1,13-6,14; p=0,025).

Ya hemos visto que la edad de diagnóstico de las portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 es menor que la de las que desarrollan CEO esporádicos. Una menor edad al diagnóstico se asociaría, por tanto, a una mayor probabilidad de ser portadora de estas mutaciones (102). Por ello es posible que la edad sea una característica asociada a la presencia de mutaciones en BRCA y no un factor pronóstico para la supervivencia en sí mismo, lo que justificaría que en nuestro trabajo no tenga efecto sobre la SG.

La influencia sobre la SLP objetivada en nuestra muestra, podría explicarse por el hecho de que una edad más joven puede reflejar el efecto de otras variables, como por ejemplo la capacidad del sistema inmune de elaborar una respuesta frente al tumor. Las pacientes más ancianas presentarían una respuesta menos potente, lo que las haría más propensas a desarrollar metástasis (69). Esto justificaría que una menor edad al diagnóstico se asocie de forma independiente con un menor riesgo de presentar una recaída.

El **estadio** al diagnóstico se considera el principal factor pronóstico con efecto sobre la supervivencia en el CEO (62). Nuestro estudio objetiva que un estadio tumoral

avanzado se correlaciona de forma significativa con una menor SLP (HR: 2,93, IC95% 1,11-7,7; p=0,029).

Sin embargo, este efecto deletéreo no se demuestra para la SG. Una vez que los carcinomas son clasificados en función de sus características biológicas, como la sensibilidad a platino y la presencia de mutaciones en BRCA, el estadio tumoral pierde su influencia sobre la SG.

4.2.1.2. Variables relacionadas con el tratamiento

Hemos analizado el efecto sobre la supervivencia de dos variables relacionadas con el tratamiento: la quimioterapia neoadyuvante y el tipo de cirugía. La variable sensibilidad a platino la analizaremos de forma conjunta con la presencia de mutaciones en BRCA.

La **quimioterapia neoadyuvante** en el CEO tiene un papel controvertido, dado que los datos acerca su efecto sobre la supervivencia no son uniformes. Por un lado, diversos estudios retrospectivos, incluyendo un reciente estudio americano de cohortes que incluye cerca de 23000 pacientes, sugieren que la cirugía primaria mejora la SG frente a la quimioterapia neoadyuvante (343, 344). Sin embargo, dos ensayos aleatorizados fase III han demostrado la no inferioridad de la misma con respecto a la cirugía primaria, si bien es cierto que han sido criticados por obtener tasas de cirugía óptima bajas (en torno al 41%) y medianas de SG menores de lo esperado (entre los 23 y 30 meses) (345, 346).

El papel específico de la quimioterapia neoadyuvante en función de la presencia de mutaciones en BRCA1/BRCA2 no ha sido establecido. Algunos estudios han señalado que la quimioterapia neoadyuvante en portadoras de mutaciones en BRCA se asocia a mayores tasas de respuesta, mayor porcentaje de citorreducción óptima y SLP más prolongada, con respecto a las no portadoras (347, 348). Estos resultados podrían explicarse por la mayor quimiosensibilidad de estos tumores. Al presentar una mayor TR conseguirían con mayor probabilidad una citorreducción óptima posterior, lo que lógicamente repercutiría en una mayor supervivencia. Sin embargo debemos tener en

cuenta que estos estudios no están diseñados para comparar la neoadyuvancia con la cirugía primaria, sino que únicamente se analizan los resultados obtenidos tras el tratamiento con quimioterapia neoadyuvante. Por tanto, en la actualidad no disponemos de evidencia suficiente para decantarnos hacia la quimioterapia neoadyuvante en portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2.

Por otro lado, los carcinomas esporádicos, al ser más proclives a desarrollar resistencia a platinos durante el tratamiento neoadyuvante (349), podrían obtener menos beneficio de la terapia neoadyuvante. Este hecho podría explicar los resultados deletéreos evidenciados por algunos estudios de la quimioterapia neoadyuvante frente a la cirugía primaria (350).

En nuestro estudio, la quimioterapia neoadyuvante ha resultado ser un factor independiente de menor SG (HR 0,34; IC 95% 0,28-0,9; $p= 0,029$). A la hora de interpretar estos resultados, debemos ser cautos. Un estudio reciente con más de 62000 pacientes señala que las pacientes con factores de mal pronóstico tienen más probabilidad de recibir tratamiento neoadyuvante (351). En concreto, los factores predictivos del uso de quimioterapia neoadyuvante fueron una mayor edad, mayor número de comorbilidades y estadios más avanzados. De la misma forma, es probable que la proporción de pacientes en nuestra muestra que recibió neoadyuvancia presentara estas características de mal pronóstico, lo que explicaría que tuvieran una menor SG. Sin embargo, no hemos objetivado que este supuesto peor pronóstico se asocie de forma significativa a una menor SLP.

La **citorreducción óptima** (ausencia de residuo tumoral macroscópico) es considerada el principal factor pronóstico modificable en el CEO (103). Estos resultados coinciden con los obtenidos en nuestro estudio, donde ha demostrado influir positivamente sobre la SG (HR: 3,32; IC95% 1,4-7,88; $p= 0,007$). Por el contrario, no hemos observado que influya sobre la SLP.

Entre los factores asociados a una mayor probabilidad de conseguir una citorreducción óptima están una menor edad, el estadio tumoral limitado y la

experiencia del equipo quirúrgico. Por otro lado, una mala situación basal y la presencia de carcinomatosis peritoneal se relacionan con una mayor probabilidad de obtener residuo tumoral macroscópico tras cirugía (352). A pesar de las características biológicas de los carcinomas asociados a mutaciones en BRCA, que suelen presentarse con mayor diseminación peritoneal y enfermedad ganglionar voluminosa, la probabilidad de conseguir una citorreducción óptima es similar en mujeres portadoras y no portadoras (350, 353). Este hecho elimina la posibilidad de que el mejor pronóstico observado en estos tumores se deba a una mayor probabilidad de llevar a cabo un cirugía óptima.

Merece la pena resaltar el hecho de que las principales variables relativas al tratamiento (quimioterapia neoadyuvante y citorreducción óptima) no han mostrado influencia sobre la SLP. Esto sugiere que la probabilidad de sufrir una recaída depende en mayor medida de las características intrínsecas del tumor que del tipo de terapia recibida. De ahí la influencia sobre la SLP de la sensibilidad a platino y la presencia de mutaciones en BRCA, que discutimos a continuación.

4.2.1.3. Variables relacionadas con la biología tumoral

La sensibilidad a platino, junto con la presencia de mutaciones en BRCA1/BRCA2 son los únicos factores que influyen de forma independiente tanto en la SLP como en la SG en nuestro estudio.

Ambas variables guardan una estrecha relación. Como hemos explicado, en los carcinomas asociados a mutaciones en BRCA1/BRCA2, la imposibilidad de las células para reparar las roturas de doble cadena en el ADN, les hace particularmente sensibles a las sales de platino. Esta mayor sensibilidad sería la responsable del mejor pronóstico asociado a estos carcinomas en comparación con los esporádicos. Además, se ha objetivado que estos carcinomas no sólo tienen una mayor sensibilidad a platino, sino que mantienen esta mayor sensibilidad tras varias recaídas (232). Se estima que cerca del 50% de los carcinomas serosos de alto grado presentan deficiencia en la vía de la RH, bien por mutaciones germinales o somáticas en genes BRCA1/BRCA2,

silenciamiento epigenético de BRCA1 o defectos en otros genes relacionados con la vía de la RH (5). Estos defectos celulares les conferirían a estos carcinomas una mayor sensibilidad al tratamiento con platinos. Por este motivo, se ha sugerido que la sensibilidad al platino podría utilizarse como marcador de deficiencia en la vía de la RH (149).

Al igual que en nuestro estudio, otros trabajos que analizan el pronóstico del CEO teniendo en cuenta la presencia de mutaciones en los genes BRCA1/BRCA2 destacan la importancia de ambas variables sobre la supervivencia (335, 340).

A pesar de la ventaja en supervivencia objetivada en nuestro trabajo, es importante resaltar que el pronóstico favorable asociado a mutaciones en BRCA1/BRCA2 parece no mantenerse de forma indefinida.

Los resultados de los estudios con un seguimiento más prolongado que el nuestro (en torno a los 10 años) no evidencian diferencias en SG entre portadoras y no portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 (235-237). La ventaja en supervivencia se mantiene durante los primeros 5 años tras el diagnóstico, posteriormente la tasa de recaídas va aumentando y la mortalidad a los 10 años se equipara en ambos casos (237). La mayor quimiosensibilidad de los carcinomas asociados a mutaciones en BRCA podría retrasar la ocurrencia de recaídas en 1-2 años, y ser responsable de una mayor SG inicialmente. La razón por la que la supervivencia disminuye a partir de los 5 años no está clara. La principal hipótesis supone que la emergencia de resistencias al platino condicionaría recaídas que finalmente condicionarían la muerte de las pacientes. Entre los mecanismos que contribuyen a la resistencia a platino en estos carcinomas se encuentran la aparición de mutaciones somáticas en BRCA1/BRCA2 que restablecen su papel en la reparación de ADN y alteraciones en los sistemas de transporte iónicos que regulan el flujo del fármaco a nivel celular (91).

La variable que más influye en la supervivencia a largo plazo es la citorreducción óptima, por encima de las características tumorales (237). En nuestro trabajo es la variable con más peso después de la presencia de mutaciones en BRCA,

por delante incluso de la sensibilidad a platino. No obstante, no hay que olvidar que estos estudios no tienen en cuenta el efecto sobre la supervivencia de los nuevos avances terapéuticos como el tratamiento con inhibidores de PARP o la quimioterapia intraperitoneal, que parece lograr mejores resultados en portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 (354).

4.2.2. Pronóstico de las mutaciones en BRCA1 y BRCA2

Nuestro estudio no fue ideado para analizar la posible diferencia en el pronóstico entre portadoras de mutaciones en BRCA1 y BRCA2, y además carece de la potencia necesaria para ello debido al escaso tamaño muestral. Por ello no hemos encontrado diferencias significativas en la SLP ni en la SG entre portadoras de mutaciones en ambos genes (**figura IV.16**).

No obstante, merece la pena destacar como ya se ha mencionado, que las mutaciones en BRCA2 confieren un mejor pronóstico en términos de supervivencia y se asocian a una mayor sensibilidad a quimioterapia con respecto a las mutaciones en BRCA1 o los carcinomas esporádicos (336). La causa probablemente se encuentra en el diferente papel que juegan en la RH ambos genes como hemos explicado, y en el futuro podría tener implicaciones terapéuticas.

La supervivencia a largo plazo también es diferente entre las portadoras de mutaciones en ambos genes. En concreto, las portadoras de mutaciones en BRCA1, tras 5 años de seguimiento tienen un riesgo de fallecer mayor que los carcinomas esporádicos. Sin embargo, las portadoras de mutaciones en BRCA2, mantienen la ventaja en supervivencia sobre portadoras de mutaciones en BRCA1 y carcinomas esporádicos durante más tiempo (235). Sólo tras un seguimiento de 9 años la mortalidad se equipara a la de los carcinomas esporádicos.

5. Análisis de supervivencia según el resultado del estudio genético

Como hemos visto son muchos los trabajos que han analizado el papel pronóstico de las mutaciones en BRCA1/BRCA2 con respecto a los carcinomas esporádicos. Sin embargo hay menos estudios que evalúen la influencia sobre la supervivencia de otras mutaciones y sobre todo, de las pacientes con alto riesgo de ser portadoras de mutaciones patogénicas en las que finalmente no se objetiva alteración genética.

En nuestro trabajo queda patente que los carcinomas de pacientes que cumplen criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer, presentan mejor pronóstico de forma global que los carcinomas esporádicos tanto en términos de SLP (mediana de 81 vs 22 meses, $p < 0,001$) como de SG (mediana no alcanzada vs 53 meses, $p < 0,001$) (**figuras IV.21 y IV.22**).

Además en contra de lo que cabría esperar, según nuestros resultados, este mejor pronóstico no depende exclusivamente de la presencia de mutaciones patogénicas en los genes estudiados. Cuando desglosamos esta cohorte en portadoras de mutación patogénica y pacientes sin alteración patogénica en el test genético (definidas como pacientes de Alto riesgo), podemos observar que tanto las curvas de SLP como las de SG se solapan en ambos subgrupos (**figuras IV.29 y IV.30**).

Por tanto, podemos afirmar que el pronóstico de los carcinomas de pacientes en riesgo de ser portadoras de mutaciones germinales pero sin alteraciones en el test genético, es similar al de las pacientes portadoras. Resultados similares ya han sido previamente publicados (355). Podemos inferir entonces que la presencia de una historia personal o familiar de cáncer puede tener repercusión sobre el pronóstico del cáncer de ovario.

La explicación más plausible para este fenómeno es que los carcinomas en los que no se evidencia mutación patogénica en mujeres con criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer, comparten ciertas características biológicas con aquellos ligados a alteraciones genéticas conocidas. En concreto se ha descrito un

V. Discusión

subgrupo de carcinomas que presenta características clínicas y patológicas similares a los tumores asociados a mutaciones de BRCA1 y BRCA2, por lo que se ha denominado a este fenotipo tumoral “*BRCAness*”. Estos casos, se asocian con mayor frecuencia a una historia familiar y personal de cáncer, suelen presentar histología serosa de alto grado y se diagnostican a edades menores de lo habitual. Además se caracterizan por presentar una mayor quimiosensibilidad y mejores tasas de SLP y SG (232, 356). En la actualidad se considera que estos tumores presentan deficiencias en los mecanismos implicados en la RH, debido a alteraciones somáticas o germinales en diferentes genes relacionados, diferentes de BRCA1 y BRCA2, y es esta particularidad la que les confiere sus características clínicas. El déficit de los mecanismos de RH conllevaría una mayor sensibilidad a agentes que producen daño directo sobre el ADN y de la misma manera podría aumentar la eficacia de los inhibidores de PARP, por lo que las implicaciones terapéuticas derivadas de esta hipótesis son de enorme importancia (357).

Esta hipótesis estaría en consonancia con nuestras observaciones referentes al ILP. En nuestra muestra, las pacientes con criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer presentan un ILP significativamente más prolongado que el de las pacientes con carcinomas esporádicos (59 vs 12 meses, $p < 0,001$) (**tabla IV.27, figura IV.20**). Una vez que desglosamos este subgrupo en pacientes portadoras de mutación patogénica y pacientes de Alto riesgo, observamos que las pacientes en las que no identificamos mutación continúan presentado un ILP significativamente superior al de los carcinomas esporádicos (76 vs 12 meses) (**tabla IV.33, figura IV.28**).

Aunque el pequeño tamaño de nuestra muestra limita la validez de las comparaciones que hemos realizado entre los distintos subgrupos en función de la alteración genética subyacente, podemos intuir dos tendencias interesantes en lo relativo al pronóstico (**figuras IV.25 y IV.26**).

En primer lugar, nuestros resultados insinúan que los CEO asociados al síndrome de Lynch presentan un pronóstico al menos similar, si no mejor, que el de los carcinomas asociados a mutaciones en BRCA y claramente más favorable que el de los carcinomas esporádicos. Los datos publicados de supervivencia relativos al CEO en el

seno del síndrome de Lynch son escasos, pero las principales series comunican unas tasas de supervivencia a los 10 años entre el 75-80%, cifras muy superiores a las de carcinomas esporádicos (en torno al 35-40%) (190, 191). Este buen pronóstico probablemente tiene relación con la elevada proporción de pacientes que presentan un estadio limitado al diagnóstico.

En segundo lugar, con respecto a las VUS en BRCA1 y BRCA2, a pesar del escaso número de pacientes portadoras de estas alteraciones en nuestra muestra, podemos intuir que su papel sobre el pronóstico parece equiparable al de portadoras de mutaciones patogénicas en estos genes (**figuras IV.25 y IV.24**). Aunque la evidencia relativa a la supervivencia asociada a VUS en BRCA es escasa, algunos trabajos han comunicado resultados acordes a nuestras observaciones (358). Si se confirmara esta asociación en estudios más potentes, y asumimos que la causa de la misma podría deberse también a una alteración en los mecanismos de reparación del ADN, cabría preguntarse si las pacientes portadoras de VUS en BRCA1/BRCA2 se beneficiaría también del tratamiento con inhibidores de PARP.

En lo referente a los factores pronósticos que han resultado independientes en nuestro análisis de supervivencia, merece la pena destacar que únicamente dos variables han demostrado influencia independiente sobre la SLP y la SG: la sensibilidad a platino y el presentar un carcinoma de ovario esporádico (**tablas IV.38 y IV.39**).

Otros factores pronósticos asociados con mayor riesgo de recaída en nuestra población son la edad de >65 años, un estadio avanzado al diagnóstico y la histología mucinosa. Todos ellos ya han sido identificados como factores pronósticos adversos en otros trabajos (72, 74).

Destacamos que ni la citorreducción óptima ni la administración de quimioterapia neoadyuvante han demostrado influir sobre la SLP ni la SG. Es decir, según nuestros resultados, el presentar un carcinoma de ovario esporádico o resistente a platino tiene mayor repercusión sobre el pronóstico que el tratamiento administrado en cada caso.

En definitiva, nuestros resultados remarcan la importancia del diagnóstico genético en las pacientes diagnosticadas de CEO para predecir su evolución, seleccionar la estrategia terapéutica más adecuada, y además ofrecer la posibilidad de tratamiento con fármacos frente a nuevas dianas específicas. Nuestros datos sugieren además, que no sólo es importante identificar a las portadoras de mutaciones germinales, sino a aquellas pacientes con probabilidad de serlo, es decir que cumplen criterios de síndrome hereditario de predisposición al cáncer, aunque no presenten alteraciones genéticas en el test diagnóstico. Este subgrupo parece tener un comportamiento diferente al de los carcinomas que aparecen en mujeres sin historia familiar o personal de cáncer, con una mayor sensibilidad a la quimioterapia y un pronóstico más favorable. Con el uso cada vez más extendido de los paneles de genes, es posible que en un futuro cercano seamos capaces de concretar el perfil genético de este subgrupo de pacientes.

6. Limitaciones del estudio

Este trabajo presenta ciertas limitaciones que deben tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados.

Quizá nuestra mayor limitación se encuentre en el escaso tamaño muestral y en concreto en el pequeño número de pacientes portadoras de mutaciones germinales patogénicas, sobre todo en genes diferentes de BRCA1 y BRCA2, lo que limita la potencia del estudio y resta precisión a nuestras estimaciones.

Al tratarse de un estudio retrospectivo, la información obtenida depende de la calidad de los registros y las historias clínicas consultadas, que a su vez proceden de dos centros distintos, el HMM y el HCUVA. Los datos han sido recogidos por el doctorando exclusivamente para aumentar la consistencia de los mismos, pero aun así debemos tener en cuenta que las historias clínicas fueron realizadas por distintos profesionales, y por tanto pueden existir diferentes criterios a la hora de plasmar la información referente a las variables recogidas.

Como ya se ha explicado, en el momento de llevar a cabo nuestro estudio, la valoración en la UCG y en última instancia el análisis genético, no se realizaba en el momento del diagnóstico de cáncer de ovario, sino que se demoraba hasta que el clínico responsable derivaba a la paciente. Esto propicia que exista un sesgo de selección que puede sobrestimar los datos relativos a la supervivencia puesto que es posible que aquellas pacientes portadoras con peor evolución no llegaran nunca a ser valoradas en las UCG.

En lo referente al estudio genético, debemos tener en cuenta que no se ha analizado la presencia de mutaciones somáticas en los genes BRCA1 y BRCA2, presentes hasta en un 5- 10% de los CEO, ni la afectación de otros genes implicados en el proceso de RH diferentes de BRCA1, BRCA2, RAD51C y RAD51D. La presencia de otras alteraciones genéticas diferentes de las incluídas en nuestro trabajo podría variar los resultados obtenidos.

Por último hay que tener en cuenta que al tratarse de un estudio retrospectivo, las diferencias en supervivencia observadas podrían deberese a factores pronósticos latentes o que no se han tenido en cuenta a la hora del análisis. Por ejemplo, carecemos de registros relativos al tratamiento recibido por las pacientes tras la primera progresión, lo que puede repercutir sobre la SG.

VI. Conclusiones

VI. Conclusiones

1. Según los resultados de nuestro estudio, la presencia de mutaciones germinales en BRCA1 y BRCA2 es un factor pronóstico independiente asociado a una mayor supervivencia libre de progresión y supervivencia global.

2. El 54% de la población de nuestro estudio es portadora de una variante patogénica en alguno de los genes estudiados. El 41,3% es portadora de una mutación patogénica en BRCA1 o BRCA2. Un 9,2% es portadora de una variante en un gen MMR asociado al síndrome de Lynch, un 3,5% de una mutación en RAD51C o RAD51D.

3. El fenotipo del cáncer de ovario difiere en función de la mutación genética subyacente. Los carcinomas de ovario asociados a síndrome de Lynch se caracterizan por tener una histología endometriode y son diagnosticados en estadios iniciales, a una edad más temprana. Las portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA2 presentan carcinomas serosos de alto grado diagnosticados en estadios avanzados a una edad menor que los carcinomas esporádicos.

4. Las pacientes con cáncer de ovario que cumplen criterios de síndrome de hereditario de predisposición al cáncer en las que no se detecta alteración patogénica, presentan un pronóstico similar a las que resultan portadoras de mutaciones germinales. Esto sugiere que ambas entidades podrían compartir ciertas características biológicas, lo que podría tener implicaciones terapéuticas en el futuro.

VI. Conclusiones

VII. Anexos

**ANEXO I. ESCALA ECOG DE VALORACIÓN DEL ESTADO
FUNCIONAL**

Grado	Valoración
0	Asintomático. Sin restricción para desempeñar actividad.
1	Escasa sintomatología. Restricción de la actividad intensa. Capaz de realizar actividad ordinaria leve /moderada.
2	Sintomático. Ambulatorio y capaz de cuidados propios, pero incapaz de realizar actividad física alguna. Pasa menos del 50% acostado o sentado.
3	Muy sintomático. Capaz de realizar sólo actividades básicas. Encamado o sentado >50% del tiempo
4	Completamente limitado. Encamado el 100% del tiempo
5	Muerte

Tomado de Oken et al .1982 (359)

ANEXO II. ESTADIAJE TUMORAL FIGO 2014

TNM	FIGO	
T1N0M0	I	Limitado a ovarios o trompa de Falopio.
T1a	IA	Tumor limitado a un ovario (cápsula intacta) o trompa de Falopio; sin tumor en la superficie del ovario o la trompa; sin células malignas en líquido ascítico o lavado peritoneal.
T1b	IB	Tumor limitado a ambos ovarios (cápsula intacta) o trompas; sin tumor en la superficie del ovario o la trompa; sin células malignas en líquido ascítico o lavado peritoneal.
T1c	IC	Tumor limitado a uno o ambos ovarios o trompas, con cualquiera de los siguientes:
T1c1	IC1	Ruptura del tumor durante el acto quirúrgico.
T1c2	IC2	Ruptura capsular previa a la cirugía o tumor en la superficie de ovario o trompas.
T1c3	IC3	Células malignas en el líquido de ascitis o lavado peritoneal.
T2N0M0	II	Enfermedad con extensión pélvica, con afectación de uno o ambos ovarios o trompas
T2a	IIA	Afectación de útero, ovarios o trompas
T2b	IIB	Extensión a otros tejidos pélvicos intraperitoneales.
T3 y/o N1	III	Enfermedad con diseminación peritoneal extrapélvica y/o afectación ganglionar retroperitoneal
T1/2 N1	IIIA1	Afectación ganglionar retroperitoneal exclusiva (confirmado con citología o histología)
	IIIA1(i)	Metástasis ganglionar de hasta 10mm de diámetro mayor
	IIIA1(ii)	Metástasis ganglionar de >10 mm de diámetro mayor
T3a2N0/N1	IIIA2	Afectación peritoneal extrapélvica microscópica con/sin afectación ganglionar retroperitoneal
T3b N0/N1	IIIB	Afectación peritoneal extrapélvica macroscópica hasta 2 cm con o sin afectación ganglionar retroperitoneal
T3c N0/N1	IIIC	Afectación peritoneal extrapélvica macroscópica >2 cm con o sin afectación ganglionar retroperitoneal
M1	IV	Metástasis a distancia, excepto las peritoneales
	IVA	Derrame pleural con citología positiva
	IVB	Metástasis parenquimatosas y metástasis a órganos extraabdominales (incluido adenopatías fuera de la cavidad abdominal)

Tomado de Prat et al. 2015 (360)

ANEXO III. ESTADIAJE QUIRÚRGICO DEL CÁNCER DE OVARIO**Estadaje quirúrgico del cáncer de ovario avanzado:**

- Laparotomía media supra infra umbilical.
- Histerectomía abdominal total con salpingo-ooforectomía bilateral.
- Aspiración de ascitis o lavado peritoneal para estudio citológico.
- Inspección cuidadosa y palpación de todas las superficies peritoneales.
- Biopsia de cualquier lesión sospechosa de metástasis tumoral.
- Omentectomía
- Apendicectomía
- Biopsia o resección de cualquier adherencia adyacente al tumor primario.
- Biopsias a ciegas (>2) del peritoneo vesical y fondo de saco.
- Biopsias a ciegas (>3) de los repliegues paracólicos derecho e izquierdo.
- Biopsias a ciegas (>2) o extensiones para citología del hemidiafragma derecho.
- Biopsias a ciegas (>2) del peritoneo de la pared pélvica adyacente al tumor primario (fosa ovárica).
- Linfadenectomía pélvica si existen ganglios macroscópicamente afectados (a lo largo de las arterias y venas ilíacas externas y comunes).
- Linfadenectomía para aórtica si existen ganglios macroscópicamente afectados (a lo largo de la aorta y de la vena cava, incluyendo el nivel entre la arteria mesentérica inferior y la vena renal izquierda).
- Procedimientos para conseguir una citorreducción óptima que pueden estar indicados: resección intestinal, gastrectomía, hepatectomía parcial, esplenectomía, cistectomía...

Tomado de Morgan et al. 2016 (361)

ANEXO IV. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS (CRD)

VARIABLE	VALOR	CODIFICACIÓN
NHC		
ECOG		0-1:0 2-3:2
EDAD		
AP		SEROSO=0 ENDOMETR=1 CEL.CLARAS=2 MUCINOSO=3 GERMINAL=4 DESC=5
GRADO		G1=1 G2=2 G3=3 G4=4 DESC=5
GRADO (CLASIFICACIÓN DUAL)		BAJO GRADO=0 ALTO GRADO=1
ESTADIO		I-II=0 III-IV=1
FECHA DIAGNÓSTICO		
TUMORES EXTRAGINECOLÓGICOS		SI=0 NO=1
TUMORES GINECOLÓGICOS		SI=0 NO=1
CIRUGÍA		OPTIMA=0 SUBOPTIMA=1
QMT NEOADYUVANTE		SI=0 NO=1
ESQUEMA DE QMT		NO QMT: 1 QMT CON PLATINO:2 QMT SIN PLATINOS:3
FECHA ULTIMO CICLO DE QMT		
FECHA RECAÍDA		
SENSIBILIDAD A PLATINO		PLATINO SENSIBLE=0 PLATINO RESISTENTE=1
SUPERV LIBRE PROGRESIÓN (MESES)		
SUPERV LIBRE PLATINO (MESES)		
FECHA ULTIMO SEGUIMIENTO		
FECHA DE EXITUS		
SUPERV GLOBAL (MESES)		
GEN MUTADO		BRCA1=0 BRCA2=1 RAD51C=2 RAD51D=3 MLH1=4 MSH2=5 MSH6=6 NINGUNO=7 GRUPO CONTROL=8
MUTACIÓN		
TIPO DE MUTACIÓN		PATOGÉNICA: 1 VUS:2

ANEXO V. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIO GENÉTICO



Espacio reservado para la etiqueta identificativa

Consentimiento informado para la realización de pruebas genéticas de cáncer hereditario

UNIDAD DE CONSEJO GENÉTICO DE 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 es posible que usted desee obtener asesoramiento genético antes de firmar este formulario.

El propósito de esta información no es preocuparle ni liberar de responsabilidad al médico. Simplemente representa un esfuerzo para que usted conozca mejor los hechos y pueda tomar la decisión libre y voluntaria, de autorizar o rechazar dicho procedimiento.

Debe saber usted que es una norma de obligado cumplimiento para el/la médico que le atiende, informarle y solicitar su autorización o rechazo siempre que la urgencia lo permita.

¿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, 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 para evitar cuestiones relativas a una posible discriminación por parte de sistemas de seguro médico.

Limitaciones

Esta prueba analiza sólo algunos genes asociados a un síndrome o síndromes específicos de cáncer hereditario. Las pruebas genéticas determinan el riesgo de cáncer sólo para aquellos tipos de cáncer asociados a los genes que se analizan.

Resultados de la prueba e interpretación

Los resultados de su prueba deben evaluarse teniendo en cuenta los antecedentes clínicos personales y familiares, los resultados del examen físico y las pruebas de laboratorio y diagnósticas pertinentes. Los resultados posibles son:

- **Positivo:** se identificó una mutación asociada a un mayor riesgo de cáncer hereditario. Conocer esta información podría ayudarle a usted y a su médico a tomar decisiones sobre su atención médica, tales como pruebas de detección, cirugías para reducir el riesgo y estrategias de tratamiento con fármacos con finalidad preventiva.
- **Negativo:** no se identificó ninguna mutación.
 - Si usted es la primera persona de su familia en someterse a la prueba, corre al menos el mismo riesgo que la población general. Aún así, su riesgo de cáncer hereditario podría ser mayor al promedio debido a una predisposición genética no detectable mediante esta prueba, ya sea en el gen o genes analizados o en cualquier otro gen asociado con el cáncer hereditario.
 - Si obtiene un resultado negativo para una mutación que se sabe existe en su familia, se considera que usted tiene el mismo riesgo que la población general.
- **Incierto:** se detectó un cambio genético pero no se sabe si este cambio está asociado al riesgo de cáncer. Su riesgo de cáncer es al menos igual al de la población general. Además, su riesgo podría ser todavía más elevado que el promedio debido a este cambio o a una predisposición genética no detectable por esta prueba, ya sea en el gen o los genes analizados o en otro gen asociado al cáncer hereditario.

Los resultados de las pruebas genéticas tienen consecuencias para los parientes consanguíneos. Con el respaldo de esta Unidad de Consejo Genético, usted podría evaluar la posibilidad de compartir sus resultados con algunos de sus parientes consanguíneos que podrían también estar en riesgo. Si decide hacerlo debería evaluar la mejor forma de dar a conocer esta información, para lo cual también le ofrecemos nuestro apoyo profesional.

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.

¿Qué alternativas hay?

La alternativa a la realización de estudios genéticos es la aproximación al riesgo basada en el estudio de los antecedentes personales y familiares, aunque los resultados son menos precisos que los proporcionados por estos estudios genéticos cuando están indicados.

Puede usted ampliar la información todo lo que desee, así como consultar cuantas dudas tenga, y además puede revocar el consentimiento en el momento que usted lo considere oportuno.

Yo _____ como paciente.

Yo _____ como representante legal del
paciente _____

AUTORIZO a la Unidad de Consejo Genético del Cáncer Hereditario del Servicio de Oncología Médica a realizar el ESTUDIO GENÉTICO DE CÁNCER HEREDITARIO previamente descrito. He sido informado/a verbalmente y por escrito de su naturaleza, riesgos y posibles alternativas, y he recibido las aclaraciones a mis dudas por parte de mi médico.

El Paciente:

DNI:

El Representante Legal:

DNI:

El Médico:

Nº Colegiado:

Murcia, a de de

ANEXO VI. EVALUACIÓN POR EL COMITÉ DE ÉTICA DE
HCUVA



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

Dr. Antonio Piñero Madrona, Presidente del Comité Ético de Investigación
Clínica (CEIC) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca,

INFORMA

Se ha recibido para evaluación por parte del Comité Ético de Investigación
Clínica del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, el siguiente estudio:

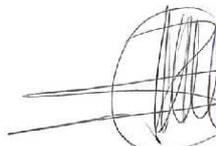
Título: **CARACTERÍSTICAS CLINICO- PATOLÓGICAS DEL CÁNCER DE OVARIO
HEREDITARIO EN LA REGIÓN DE MURCIA. IMPACTO PRONÓSTICO DE LAS
MUTACIONES GERMINALES EN BRCA1 Y BRCA2**

Investigadora: **Pilar Sánchez Henarejos**

Centro: Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca

Consideramos que dadas las características del estudio de referencia, éste no
plantea problemas éticos para su realización.

Murcia, 24 de mayo de 2017

Fdo. Dr. Antonio Piñero

VIII. Bibliografía

VIII. Bibliografía

1. Bast RC, Jr., Hennessy B, Mills GB. The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(6):415-28.
2. Kurman RJ, Shih Ie M. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(3):433-43.
3. Wiegand KC, Shah SP, Al-Agha OM, Zhao Y, Tse K, Zeng T, et al. ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas. *N Engl J Med*. 2010;363(16):1532-43.
4. Helleday T, Petermann E, Lundin C, Hodgson B, Sharma RA. DNA repair pathways as targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(3):193-204.
5. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011;474(7353):609-15.
6. Vang R, Shih Ie M, Kurman RJ. Fallopian tube precursors of ovarian low- and high-grade serous neoplasms. *Histopathology*. 2013;62(1):44-58.
7. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
8. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(2):69-90.
9. Galceran J, Ameijide A, Carulla M, Mateos A, Quiros JR, Rojas D, et al. Cancer incidence in Spain, 2015. *Clin Transl Oncol*. 2017;19(7):799-825.
10. REDECAN: Red Española de Registros en Cáncer. Estimaciones de la incidencia y la supervivencia del cáncer en España y su situación en Europa [Internet]. Octubre 2014 (citado 15 sep 2016). Disponible en: <http://redecana.org/es/page.cfm?id=196&title=estimaciones-de-la-incidencia-y-la-supervivencia-delcancer-en-espana-y-su-situacion-en-europa> [Internet].
11. Chirlaque MD, Tortosa J, Valera I, Párraga E, Salmerón D, Navarro C. Incidencia de cáncer en la Región de Murcia. Periodo 2008-2009. *Boletín Epidemiológico de la Región de Murcia*. Noviembre 2014. p. 103-7.
12. Chirlaque MD, Salmeron DP-R, S.B., Valera I, Tortosa J, Navarro C. Cáncer de ovario en la Región de Murcia. *Boletín Epidemiológico de Murcia*. Abril, 2014. p. 25-32.
13. Hunn J, Rodriguez GC. Ovarian cancer: etiology, risk factors, and epidemiology. *Clin Obstet Gynecol*. 2012;55(1):3-23.
14. Harris R, Whittemore AS, Itnyre J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. III. Epithelial tumors of low malignant potential in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol*. 1992;136(10):1204-11.
15. Whiteman DC, Siskind V, Purdie DM, Green AC. Timing of pregnancy and the risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003;12(1):42-6.
16. Rostgaard K, Wohlfahrt J, Andersen PK, Hjalgrim H, Frisch M, Westergaard T, et al. Does pregnancy induce the shedding of premalignant ovarian cells? *Epidemiology*. 2003;14(2):168-73.

VIII. Bibliografía

17. Tworoger SS, Fairfield KM, Colditz GA, Rosner BA, Hankinson SE. Association of oral contraceptive use, other contraceptive methods, and infertility with ovarian cancer risk. *Am J Epidemiol*. 2007;166(8):894-901.
18. Lerner-Geva L, Geva E, Lessing JB, Chetrit A, Modan B, Amit A. The possible association between in vitro fertilization treatments and cancer development. *Int J Gynecol Cancer*. 2003;13(1):23-7.
19. van Leeuwen FE, Klip H, Mooij TM, van de Swaluw AM, Lambalk CB, Kortman M, et al. Risk of borderline and invasive ovarian tumours after ovarian stimulation for in vitro fertilization in a large Dutch cohort. *Hum Reprod*. 2011;26(12):3456-65.
20. 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 Biomarkers Prev*. 2012;21(8):1282-92.
21. Asante A, Leonard PH, Weaver AL, Goode EL, Jensen JR, Stewart EA, et al. Fertility drug use and the risk of ovarian tumors in infertile women: a case-control study. *Fertil Steril*. 2013;99(7):2031-6.
22. Cibula D, Widschwendter M, Majek O, Dusek L. Tubal ligation and the risk of ovarian cancer: review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2011;17(1):55-67.
23. Cibula D, Widschwendter M, Zikan M, Dusek L. Underlying mechanisms of ovarian cancer risk reduction after tubal ligation. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2011;90(6):559-63.
24. 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*. 2008;371(9609):303-14.
25. Danforth KN, Tworoger SS, Hecht JL, Rosner BA, Colditz GA, Hankinson SE. Breastfeeding and risk of ovarian cancer in two prospective cohorts. *Cancer Causes Control*. 2007;18(5):517-23.
26. Jordan SJ, Siskind V, A CG, Whiteman DC, Webb PM. Breastfeeding and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Causes Control*. 2010;21(1):109-16.
27. 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*. 2014;15(12):4829-37.
28. Cramer DW, Hutchison GB, Welch WR, Scully RE, Ryan KJ. Determinants of ovarian cancer risk. I. Reproductive experiences and family history. *J Natl Cancer Inst*. 1983;71(4):711-6.
29. Choi JH, Wong AS, Huang HF, Leung PC. Gonadotropins and ovarian cancer. *Endocr Rev*. 2007;28(4):440-61.
30. 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.
31. Rodriguez GC, Nagarsheth NP, Lee KL, Bentley RC, Walmer DK, Cline M, et al. Progestin-induced apoptosis in the Macaque ovarian epithelium: differential regulation of transforming growth factor-beta. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(1):50-60.
32. Schildkraut JM, Calingaert B, Marchbanks PA, Moorman PG, Rodriguez GC. Impact of progestin and estrogen potency in oral contraceptives on ovarian cancer risk. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(1):32-8.

33. Risch HA. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90(23):1774-86.
34. Beral V, Gaitskell K, Hermon C, Moser K, Reeves G, Peto R. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant meta-analysis of 52 epidemiological studies. *Lancet.* 2015;385(9980):1835-42.
35. 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.* 2007;109(4):933-41.
36. 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 Biomarkers Prev.* 2011;20(5):799-810.
37. Jensen JT, Speroff L. Health benefits of oral contraceptives. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2000;27(4):705-21.
38. Sayasneh A, Tsivos D, Crawford R. Endometriosis and ovarian cancer: a systematic review. *ISRN Obstet Gynecol.* 2011;2011:140310.
39. Ness RB. Endometriosis and ovarian cancer: thoughts on shared pathophysiology. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(1):280-94.
40. Al-Sabbagh M, Lam EW, Brosens JJ. Mechanisms of endometrial progesterone resistance. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;358(2):208-15.
41. Kondi-Pafiti A, Papakonstantinou E, Iavazzo C, Grigoriadis C, Salakos N, Gregoriou O. Clinicopathological characteristics of ovarian carcinomas associated with endometriosis. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(2):479-83.
42. Cramer DW, Liberman RF, Titus-Ernstoff L, Welch WR, Greenberg ER, Baron JA, et al. Genital talc exposure and risk of ovarian cancer. *Int J Cancer.* 1999;81(3):351-6.
43. Terry KL, Karageorgi S, Shvetsov YB, Merritt MA, Lurie G, Thompson PJ, et al. Genital powder use and risk of ovarian cancer: a pooled analysis of 8,525 cases and 9,859 controls. *Cancer Prev Res (Phila).* 2013;6(8):811-21.
44. Gertig DM, Hunter DJ, Cramer DW, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC, et al. Prospective study of talc use and ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(3):249-52.
45. Wentzensen N, Wacholder S. Talc use and ovarian cancer: epidemiology between a rock and a hard place. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(9).
46. 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.* 2011;12(9):900-4.
47. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(8):579-91.
48. Olsen CM, Nagle CM, Whiteman DC, Purdie DM, Green AC, Webb PM. Body size and risk of epithelial ovarian and related cancers: a population-based case-control study. *Int J Cancer.* 2008;123(2):450-6.
49. Schouten LJ, Rivera C, Hunter DJ, Spiegelman D, Adami HO, Arslan A, et al. Height, body mass index, and ovarian cancer: a pooled analysis of 12 cohort studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(4):902-12.

VIII. Bibliografía

50. Ovarian cancer and body size: individual participant meta-analysis including 25,157 women with ovarian cancer from 47 epidemiological studies. *PLoS Med.* 2012;9(4):e1001200.
51. 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.* 2013;20(2):251-62.
52. Yan-Hong H, Jing L, Hong L, Shan-Shan H, Yan L, Ju L. Association between alcohol consumption and the risk of ovarian cancer: a meta-analysis of prospective observational studies. *BMC Public Health.* 2015;15:223.
53. Cannioto RA, Moysich KB. Epithelial ovarian cancer and recreational physical activity: A review of the epidemiological literature and implications for exercise prescription. *Gynecol Oncol.* 2015;137(3):559-73.
54. Terry PD, Miller AB, Jones JG, Rohan TE. Cigarette smoking and the risk of invasive epithelial ovarian cancer in a prospective cohort study. *Eur J Cancer.* 2003;39(8):1157-64.
55. Gates MA, Rosner BA, Hecht JL, Tworoger SS. Risk factors for epithelial ovarian cancer by histologic subtype. *Am J Epidemiol.* 2010;171(1):45-53.
56. Gram IT, Lukanova A, Brill I, Braaten T, Lund E, Lundin E, et al. Cigarette smoking and risk of histological subtypes of epithelial ovarian cancer in the EPIC cohort study. *Int J Cancer.* 2012;130(9):2204-10.
57. Faber MT, Kjaer SK, Dehlendorff C, Chang-Claude J, Andersen KK, Hogdall E, et al. Cigarette smoking and risk of ovarian cancer: a pooled analysis of 21 case-control studies. *Cancer Causes Control.* 2013;24(5):989-1004.
58. Piver MS, Goldberg JM, Tsukada Y, Mettlin CJ, Jishi MF, Natarajan N. Characteristics of familial ovarian cancer: a report of the first 1,000 families in the Gilda Radner Familial Ovarian Cancer Registry. *Eur J Gynaecol Oncol.* 1996;17(3):169-76.
59. 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.* 1998;105(5):493-9.
60. Tung KH, Goodman MT, Wu AH, McDuffie K, Wilkens LR, Nomura AM, et al. Aggregation of ovarian cancer with breast, ovarian, colorectal, and prostate cancer in first-degree relatives. *Am J Epidemiol.* 2004;159(8):750-8.
61. Pennington KP, Swisher EM. Hereditary ovarian cancer: beyond the usual suspects. *Gynecol Oncol.* 2012;124(2):347-53.
62. Heintz AP, 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.* 2006;95 Suppl 1:S161-92.
63. Ahmed FY, Wiltshaw E, A'Hern RP, Nicol B, Shepherd J, Blake P, et al. Natural history and prognosis of untreated stage I epithelial ovarian carcinoma. *J Clin Oncol.* 1996;14(11):2968-75.
64. Chan JK, Tian C, Monk BJ, Herzog T, Kapp DS, Bell J, et al. Prognostic factors for high-risk early-stage epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer.* 2008;112(10):2202-10.
65. Schueler JA, Cornelisse CJ, Hermans J, Trimbos JB, van der Burg ME, Fleuren GJ. Prognostic factors in well-differentiated early-stage epithelial ovarian cancer. *Cancer.* 1993;71(3):787-95.

66. Vergote I. Prognostic factors in stage I ovarian carcinoma. *Verh K Acad Geneeskd Belg.* 2001;63(3):257-71; discussion 72-6.
67. Vergote I, De Brabanter J, Fyles A, Bertelsen K, Einhorn N, Sevelde P, et al. Prognostic importance of degree of differentiation and cyst rupture in stage I invasive epithelial ovarian carcinoma. *Lancet.* 2001;357(9251):176-82.
68. Tognon G, Carnazza M, Ragnoli M, Calza S, Ferrari F, Gambino A, et al. Prognostic factors in early-stage ovarian cancer. *Ecancermedalscience.* 2013;7:325.
69. Zanussi S, Serraino D, Dolcetti R, Berretta M, De Paoli P. Cancer, aging and immune reconstitution. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013;13(9):1310-24.
70. Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. *Am J Pathol.* 2010;177(3):1053-64.
71. Obermair A, Fuller A, Lopez-Varela E, van Gorp T, Vergote I, Eaton L, et al. A new prognostic model for FIGO stage 1 epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2007;104(3):607-11.
72. du Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Harter P, Ray-Coquard I, Pfisterer J. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). *Cancer.* 2009;115(6):1234-44.
73. Elattar A, Bryant A, Winter-Roach BA, Hatem M, Naik R. Optimal primary surgical treatment for advanced epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011(8):Cd007565.
74. Winter WE, 3rd, Maxwell GL, Tian C, Carlson JW, Ozols RF, Rose PG, et al. Prognostic factors for stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol.* 2007;25(24):3621-7.
75. Bamias A, Sotiropoulou M, Zagouri F, Trachana P, Sakellariou K, Kostouros E, et al. Prognostic evaluation of tumour type and other histopathological characteristics in advanced epithelial ovarian cancer, treated with surgery and paclitaxel/carboplatin chemotherapy: cell type is the most useful prognostic factor. *Eur J Cancer.* 2012;48(10):1476-83.
76. Meinhold-Heerlein I, Fotopoulou C, Harter P, Kurzeder C, Mustea A, Wimberger P, et al. The new WHO classification of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer and its clinical implications. *Arch Gynecol Obstet.* 2016;293(4):695-700.
77. Gronlund B, Hogdall C, Hansen HH, Engelholm SA. Performance status rather than age is the key prognostic factor in second-line treatment of elderly patients with epithelial ovarian carcinoma. *Cancer.* 2002;94(7):1961-7.
78. 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.* 2016;57(3):580-7.
79. de Graeff P, Crijns AP, de Jong S, Boezen M, Post WJ, de Vries EG, et al. Modest effect of p53, EGFR and HER-2/neu on prognosis in epithelial ovarian cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2009;101(1):149-59.
80. 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.* 2005;102(51):18538-43.

VIII. Bibliografía

81. 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-analysis. *Clin Cancer Res.* 2015;21(1):211-20.
82. Andrews L, Mutch DG. Hereditary Ovarian Cancer and Risk Reduction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017;41:31-48.
83. Norquist BM, Harrell MI, Brady MF, Walsh T, Lee MK, Gulsuner S, et al. Inherited Mutations in Women With Ovarian Carcinoma. *JAMA Oncol.* 2016;2(4):482-90.
84. 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.* 2012;30(21):2654-63.
85. 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 carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(44):18032-7.
86. 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.
87. Ciccia A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell.* 2010;40(2):179-204.
88. Walsh CS. Two decades beyond BRCA1/2: Homologous recombination, hereditary cancer risk and a target for ovarian cancer therapy. *Gynecol Oncol.* 2015.
89. KS O, KI S. The BRCA1 and BRCA2 Breast and Ovarian Cancer Susceptibility Genes — Implications for DNA Damage Response, DNA Repair and Cancer Therapy, *Advances in DNA Repair*, Prof. Clark Chen (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/59996. Available from: <http://www.intechopen.com/books/advances-in-dna-repair/the-brca1-and-brca2-breast-and-ovarian-cancer-susceptibility-genes-implications-for-dna-damage-respo>. 2015.
90. Narod SA, Foulkes WD. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(9):665-76.
91. Mylavaram S, Das A, Roy M. Role of BRCA Mutations in the Modulation of Response to Platinum Therapy. *Front Oncol.* 2018;8:16.
92. Couch FJ, Nathanson KL, Offit K. Two decades after BRCA: setting paradigms in personalized cancer care and prevention. *Science.* 2014;343(6178):1466-70.
93. Smith MJ, Urquhart JE, Harkness EF, Miles EK, Bowers NL, Byers HJ, et al. The Contribution of Whole Gene Deletions and Large Rearrangements to the Mutation Spectrum in Inherited Tumor Predisposing Syndromes. *Hum Mutat.* 2016;37(3):250-6.
94. Plon SE, Eccles DM, Easton D, Foulkes WD, Genuardi M, Greenblatt MS, et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat.* 2008;29(11):1282-91.
95. 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.* 2015;313(12):1347-61.
96. Hollis RL, Churchman M, Gourley C. Distinct implications of different BRCA mutations: efficacy of cytotoxic chemotherapy, PARP inhibition and clinical outcome in ovarian cancer. *Onco Targets Ther.* 2017;10:2539-51.

97. Whittemore AS, Gong G, Itnyre J. Prevalence and contribution of BRCA1 mutations in breast cancer and ovarian cancer: results from three U.S. population-based case-control studies of ovarian cancer. *Am J Hum Genet.* 1997;60(3):496-504.
98. Bahar AY, Taylor PJ, Andrews L, Proos A, Burnett L, Tucker K, et al. The frequency of founder mutations in the BRCA1, BRCA2, and APC genes in Australian Ashkenazi Jews: implications for the generality of U.S. population data. *Cancer.* 2001;92(2):440-5.
99. Diez O, Osorio A, Duran M, Martinez-Ferrandis JI, de la Hoya M, Salazar R, et al. Analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in Spanish breast/ovarian cancer patients: a high proportion of mutations unique to Spain and evidence of founder effects. *Hum Mutat.* 2003;22(4):301-12.
100. 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.* 2013;105(11):812-22.
101. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol.* 2007;25(11):1329-33.
102. Boyd J, Sonoda Y, Federici MG, Bogomolny F, Rhei E, Maresco DL, et al. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *Jama.* 2000;283(17):2260-5.
103. 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.* 2005;96(1):222-6.
104. 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.* 2014;106(6):dju091.
105. Fentiman IS, Fourquet A, Hortobagyi GN. Male breast cancer. *Lancet.* 2006;367(9510):595-604.
106. Thompson D, Easton DF. Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94(18):1358-65.
107. Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(15):1310-6.
108. Auerbach AD. Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat Res.* 2009;668(1-2):4-10.
109. Vaidehi Krishnan LSTaYITFAPoDRaHC, Advances in DNA Repair, Prof. Clark Chen (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/59995. Available from: <https://www.intechopen.com/books/advances-in-dna-repair/the-fanconi-anemia-pathway-of-dna-repair-and-human-cancer>. The Fanconi Anemia Pathway of DNA Repair and Human Cancer, Advances in DNA Repair. 2015.
110. Vaidehi Krishnan LSTaYITFAPoDRaHC, Advances in DNA Repair, Prof. Clark Chen (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/59995. Available from: <https://www.intechopen.com/books/advances-in-dna-repair/the-fanconi-anemia-pathway-of-dna-repair-and-human-cancer>.
111. Ceccaldi R, Liu JC, Amunugama R, Hajdu I, Primack B, Petalcorin MI, et al. Homologous-recombination-deficient tumours are dependent on Poltheta-mediated repair. *Nature.* 2015;518(7538):258-62.
112. D'Andrea AD. Susceptibility pathways in Fanconi's anemia and breast cancer. *N Engl J Med.* 2010;362(20):1909-19.
113. Xia B, Sheng Q, Nakanishi K, Ohashi A, Wu J, Christ N, et al. Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. *Mol Cell.* 2006;22(6):719-29.

VIII. Bibliografía

114. Rahman N, Seal S, Thompson D, Kelly P, Renwick A, Elliott A, et al. PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet.* 2007;39(2):165-7.
115. Casadei S, Norquist BM, Walsh T, Stray S, Mandell JB, Lee MK, et al. Contribution of inherited mutations in the BRCA2-interacting protein PALB2 to familial breast cancer. *Cancer Res.* 2011;71(6):2222-9.
116. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pylkas K, Roberts J, et al. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med.* 2014;371(6):497-506.
117. 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.* 2014;20(3):764-75.
118. 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.* 2015;107(11).
119. Peng M, Litman R, Jin Z, Fong G, Cantor SB. BACH1 is a DNA repair protein supporting BRCA1 damage response. *Oncogene.* 2006;25(15):2245-53.
120. Rafnar T, Gudbjartsson DF, Sulem P, Jonasdottir A, Sigurdsson A, Besenbacher S, et al. Mutations in BRIP1 confer high risk of ovarian cancer. *Nat Genet.* 2011;43(11):1104-7.
121. Dosanjh MK, Collins DW, Fan W, Lennon GG, Albala JS, Shen Z, et al. Isolation and characterization of RAD51C, a new human member of the RAD51 family of related genes. *Nucleic Acids Res.* 1998;26(5):1179-84.
122. Vaz F, Hanenberg H, Schuster B, Barker K, Wiek C, Erven V, et al. Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder. *Nat Genet.* 2010;42(5):406-9.
123. Pelttari LM, Heikkinen T, Thompson D, Kallioniemi A, Schleutker J, Holli K, et al. RAD51C is a susceptibility gene for ovarian cancer. *Hum Mol Genet.* 2011;20(16):3278-88.
124. Meindl A, Hellebrand H, Wiek C, Erven V, Wappenschmidt B, Niederacher D, et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet.* 2010;42(5):410-4.
125. 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.* 2015;33(26):2901-7.
126. Loveday C, Turnbull C, Ramsay E, Hughes D, Ruark E, Frankum JR, et al. Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet.* 2011;43(9):879-82.
127. Loveday C, Turnbull C, Ruark E, Xicola RM, Ramsay E, Hughes D, et al. Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet.* 44. United States 2012. p. 475-6; author reply 6.
128. Cybulski C, Gorski B, Huzarski T, Masojc B, Mierzejewski M, Debniak T, et al. CHEK2 is a multiorgan cancer susceptibility gene. *Am J Hum Genet.* 2004;75(6):1131-5.
129. Szymanska-Pasternak J, Szymanska A, Medrek K, Imyanitov EN, Cybulski C, Gorski B, et al. CHEK2 variants predispose to benign, borderline and low-grade invasive ovarian tumors. *Gynecol Oncol.* 2006;102(3):429-31.

130. Baysal BE, DeLoia JA, Willett-Brozick JE, Goodman MT, Brady MF, Modugno F, et al. Analysis of CHEK2 gene for ovarian cancer susceptibility. *Gynecol Oncol.* 2004;95(1):62-9.
131. Krylova NY, Ponomariova DN, Sherina NY, Ogorodnikova NY, Logvinov DA, Porhanova NV, et al. CHEK2 1100 delC mutation in Russian ovarian cancer patients. *Heredit Cancer Clin Pract.* 2007;5(3):153-6.
132. Brzovic PS, Rajagopal P, Hoyt DW, King MC, Klevit RE. Structure of a BRCA1-BARD1 heterodimeric RING-RING complex. *Nat Struct Biol.* 2001;8(10):833-7.
133. Ratajska M, Antoszewska E, Piskorz A, Brozek I, Borg A, Kusmierek H, et al. Cancer predisposing BARD1 mutations in breast-ovarian cancer families. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;131(1):89-97.
134. Couch FJ, Hart SN, Sharma P, Toland AE, Wang X, Miron P, et al. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol.* 2015;33(4):304-11.
135. Heikkinen K, Karppinen SM, Soini Y, Makinen M, Winqvist R. Mutation screening of Mre11 complex genes: indication of RAD50 involvement in breast and ovarian cancer susceptibility. *J Med Genet.* 2003;40(12):e131.
136. 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 Biomarkers Prev.* 2012;21(1):134-47.
137. 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.* 2013;12(4):719-40.
138. Soegaard M, Kjaer SK, Cox M, Wozniak E, Hogdall E, Hogdall C, et al. BRCA1 and BRCA2 mutation prevalence and clinical characteristics of a population-based series of ovarian cancer cases from Denmark. *Clin Cancer Res.* 2008;14(12):3761-7.
139. 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.* 2018;24(4):777-83.
140. Weiderpass E, Tyczynski JE. Epidemiology of Patients with Ovarian Cancer with and Without a BRCA1/2 Mutation. *Mol Diagn Ther.* 2015;19(6):351-64.
141. 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-defective ovarian cancer: an extension of the ovarian BRCAness phenotype. *J Clin Oncol.* 2010;28(15):2505-11.
142. Coleman RL, Monk BJ, Sood AK, Herzog TJ. Latest research and treatment of advanced-stage epithelial ovarian cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2013;10(4):211-24.
143. Ledermann JA, Raja FA, Fotopoulou C, Gonzalez-Martin A, Colombo N, Sessa C. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2013;24 Suppl 6:vi24-32.
144. 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.* 2001;19(14):3312-22.

VIII. Bibliografía

145. Pectasides D, Pectasides E, Papaxoinis G, Psyri A, Pliarchopoulou K, Koumariou A, et al. Carboplatin/gemcitabine alternating with carboplatin/pegylated liposomal doxorubicin and carboplatin/cyclophosphamide in platinum-refractory/resistant paclitaxel - pretreated ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2010;118(1):52-7.
146. 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.* 2015;139(1):10-6.
147. 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.* 2012;307(4):382-90.
148. Yang D, Khan S, Sun Y, Hess K, Shmulevich I, Sood AK, et al. Association of BRCA1 and BRCA2 mutations with survival, chemotherapy sensitivity, and gene mutator phenotype in patients with ovarian cancer. *Jama.* 2011;306(14):1557-65.
149. 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.* 2012;366(15):1382-92.
150. 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.* 2014;15(11):1207-14.
151. Safra T, Borgato L, Nicoletto MO, Rolnitzky L, Pelles-Avraham S, Geva R, et al. BRCA mutation status and determinant of outcome in women with recurrent epithelial ovarian cancer treated with pegylated liposomal doxorubicin. *Mol Cancer Ther.* 2011;10(10):2000-7.
152. Brody LC. Treating cancer by targeting a weakness. *N Engl J Med.* 2005;353(9):949-50.
153. Sousa FG, Matuo R, Soares DG, Escargueil AE, Henriques JA, Larsen AK, et al. PARPs and the DNA damage response. *Carcinogenesis.* 2012;33(8):1433-40.
154. Scott CL, Swisher EM, Kaufmann SH. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors: recent advances and future development. *J Clin Oncol.* 2015;33(12):1397-406.
155. Murai J, Zhang Y, Morris J, Ji J, Takeda S, Doroshow JH, et al. Rationale for poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors in combination therapy with camptothecins or temozolomide based on PARP trapping versus catalytic inhibition. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014;349(3):408-16.
156. Murai J, Huang SY, Das BB, Renaud A, Zhang Y, Doroshow JH, et al. Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors. *Cancer Res.* 2012;72(21):5588-99.
157. Li M, Yu X. Function of BRCA1 in the DNA damage response is mediated by ADP-ribosylation. *Cancer Cell.* 2013;23(5):693-704.
158. 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.* 2011;108(8):3406-11.
159. Konstantinopoulos PA, Ceccaldi R, Shapiro GI, D'Andrea AD. Homologous Recombination Deficiency: Exploiting the Fundamental Vulnerability of Ovarian Cancer. *Cancer Discov.* 2015;5(11):1137-54.
160. Liu JF, Konstantinopoulos PA, Matulonis UA. PARP inhibitors in ovarian cancer: current status and future promise. *Gynecol Oncol.* 2014;133(2):362-9.

161. Patel AG, De Lorenzo SB, Flatten KS, Poirier GG, Kaufmann SH. Failure of iniparib to inhibit poly(ADP-Ribose) polymerase in vitro. *Clin Cancer Res.* 2012;18(6):1655-62.
162. Audeh MW, Carmichael J, Penson RT, Friedlander M, Powell B, Bell-McGuinn KM, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet.* 2010;376(9737):245-51.
163. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(8):852-61.
164. Ang JE, Gourley C, Powell CB, High H, Shapira-Frommer R, Castonguay V, et al. Efficacy of chemotherapy in BRCA1/2 mutation carrier ovarian cancer in the setting of PARP inhibitor resistance: a multi-institutional study. *Clin Cancer Res.* 2013;19(19):5485-93.
165. Oza AM, Cibula D, Benzaquen AO, Poole C, Mathijssen RH, Sonke GS, et al. Olaparib combined with chemotherapy for recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(1):87-97.
166. Ibrahim YH, Garcia-Garcia C, Serra V, He L, Torres-Lockhart K, Prat A, et al. PI3K inhibition impairs BRCA1/2 expression and sensitizes BRCA-proficient triple-negative breast cancer to PARP inhibition. *Cancer Discov.* 2012;2(11):1036-47.
167. Coleman RL, Oza AM, Lorusso D, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A, et al. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2017.
168. 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.* 2017;18(9):1274-84.
169. Bewtra C, Watson P, Conway T, Read-Hippee C, Lynch HT. Hereditary ovarian cancer: a clinicopathological study. *Int J Gynecol Pathol.* 1992;11(3):180-7.
170. 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.* 2006;101(2):238-43.
171. Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mech Ageing Dev.* 2008;129(7-8):391-407.
172. Seifert M, Reichrath J. The role of the human DNA mismatch repair gene hMSH2 in DNA repair, cell cycle control and apoptosis: implications for pathogenesis, progression and therapy of cancer. *J Mol Histol.* 2006;37(5-7):301-7.
173. Xiao X, Melton DW, Gourley C. Mismatch repair deficiency in ovarian cancer -- molecular characteristics and clinical implications. *Gynecol Oncol.* 2014;132(2):506-12.
174. Kenta Masuda KB, Megumi Yanokura, Iori Kisu, Arisa Ueki, Asuka Ono, Yusuke Kobayashi, Hiroyuki Nomura, Akira Hirasawa, Nobuyuki Susumu and Daisuke Aoki (2011). DNA Mismatch Repair (MMR) Genes and Endometrial Cancer, DNA Repair and Human Health, Dr. Sonya Vengrova (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/23995. Available from: <https://www.intechopen.com/books/dna-repair-and-human-health/dna-mismatch-repair-mmr-genes-and-endometrial-cancer>.

VIII. Bibliografía

175. Gras E, Catusas L, Arguelles R, Moreno-Bueno G, Palacios J, Gamallo C, et al. Microsatellite instability, MLH-1 promoter hypermethylation, and frameshift mutations at coding mononucleotide repeat microsatellites in ovarian tumors. *Cancer*. 2001;92(11):2829-36.
176. Pal T, Permeth-Wey J, Kumar A, Sellers TA. Systematic review and meta-analysis of ovarian cancers: estimation of microsatellite-high frequency and characterization of mismatch repair deficient tumor histology. *Clin Cancer Res*. 2008;14(21):6847-54.
177. V S, Bhagat R, C SP, V RP, Krishnamoorthy L. Microsatellite instability, promoter methylation and protein expression of the DNA mismatch repair genes in epithelial ovarian cancer. *Genomics*. 2014;104(4):257-63.
178. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998;58(22):5248-57.
179. Pal T, Permeth-Wey J, Sellers TA. A review of the clinical relevance of mismatch-repair deficiency in ovarian cancer. *Cancer*. 2008;113(4):733-42.
180. Coppola D, Nicosia SV, Doty A, Sellers TA, Lee JH, Fulp J, et al. Uncertainty in the utility of immunohistochemistry in mismatch repair protein expression in epithelial ovarian cancer. *Anticancer Res*. 2012;32(11):4963-9.
181. Lee JH, Cragun D, Thompson Z, Coppola D, Nicosia SV, Akbari M, et al. Association between IHC and MSI testing to identify mismatch repair-deficient patients with ovarian cancer. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2014;18(4):229-35.
182. Carethers JM, Stoffel EM. Lynch syndrome and Lynch syndrome mimics: The growing complex landscape of hereditary colon cancer. *World J Gastroenterol*. 2015;21(31):9253-61.
183. Kuiper RP, Vissers LE, Venkatachalam R, Bodmer D, Hoenselaar E, Goossens M, et al. Recurrence and variability of germline EPCAM deletions in Lynch syndrome. *Hum Mutat*. 2011;32(4):407-14.
184. Espenschied CR, LaDuca H, Li S, McFarland R, Gau CL, Hampel H. Multigene Panel Testing Provides a New Perspective on Lynch Syndrome. *J Clin Oncol*. 2017;35(22):2568-75.
185. Senter L, Clendenning M, Sotamaa K, Hampel H, Green J, Potter JD, et al. The clinical phenotype of Lynch syndrome due to germ-line PMS2 mutations. *Gastroenterology*. 2008;135(2):419-28.
186. Plaschke J, Engel C, Kruger S, Holinski-Feder E, Pagenstecher C, Mangold E, et al. Lower incidence of colorectal cancer and later age of disease onset in 27 families with pathogenic MSH6 germline mutations compared with families with MLH1 or MSH2 mutations: the German Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Consortium. *J Clin Oncol*. 2004;22(22):4486-94.
187. Hampel H, Stephens JA, Pukkala E, Sankila R, Aaltonen LA, Mecklin JP, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: later age of onset. *Gastroenterology*. 2005;129(2):415-21.
188. Watson P, Vasen HF, Mecklin JP, Bernstein I, Aarnio M, Jarvinen HJ, et al. The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome. *Int J Cancer*. 2008;123(2):444-9.
189. Barrow E, Hill J, Evans DG. Cancer risk in Lynch Syndrome. *Fam Cancer*. 2013;12(2):229-40.

190. Grindedal EM, Renkonen-Sinisalo L, Vasen H, Evans G, Sala P, Blanco I, et al. Survival in women with MMR mutations and ovarian cancer: a multicentre study in Lynch syndrome kindreds. *J Med Genet.* 2010;47(2):99-102.
191. Ryan NA, Evans DG, Green K, Crosbie EJ. Pathological features and clinical behavior of Lynch syndrome-associated ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2017;144(3):491-5.
192. Moller P, Seppala 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.* 2017.
193. 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.* 2014;46(2):107-15.
194. Peltomaki P, Vasen H. Mutations associated with HNPCC predisposition -- Update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database. *Dis Markers.* 2004;20(4-5):269-76.
195. Gylling A, Ridanpaa M, Vierimaa O, Aittomaki K, Avela K, Kaariainen H, et al. Large genomic rearrangements and germline epimutations in Lynch syndrome. *Int J Cancer.* 2009;124(10):2333-40.
196. Romero A, Garre P, Valentin O, Sanz J, Perez-Segura P, Llovet P, et al. Frequency and variability of genomic rearrangements on MSH2 in Spanish Lynch Syndrome families. *PLoS One.* 2013;8(9):e72195.
197. Chui MH, Ryan P, Radigan J, Ferguson SE, Pollett A, Aronson M, et al. The histomorphology of Lynch syndrome-associated ovarian carcinomas: toward a subtype-specific screening strategy. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(9):1173-81.
198. Helder-Woolderink JM, Blok EA, Vasen HF, Hollema H, Mourits MJ, De Bock GH. Ovarian cancer in Lynch syndrome; a systematic review. *Eur J Cancer.* 2016;55:65-73.
199. Watson P, Butzow R, Lynch HT, Mecklin JP, Jarvinen HJ, Vasen HF, et al. The clinical features of ovarian cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gynecol Oncol.* 2001;82(2):223-8.
200. Abe A, Minaguchi T, Ochi H, Onuki M, Okada S, Matsumoto K, et al. PIK3CA overexpression is a possible prognostic factor for favorable survival in ovarian clear cell carcinoma. *Hum Pathol.* 2013;44(2):199-207.
201. Niskakoski A, Kaur S, Renkonen-Sinisalo L, Lassus H, Jarvinen HJ, Mecklin JP, et al. Distinct molecular profiles in Lynch syndrome-associated and sporadic ovarian carcinomas. *Int J Cancer.* 2013;133(11):2596-608.
202. Ercoli A, Ferrandina G, Raspaglio G, Marone M, Maggiano N, Del Mastro P, et al. hMSH2 and GTBP expression in advanced stage epithelial ovarian cancer. *Br J Cancer.* 1999;80(10):1665-71.
203. Marcellis CL, van der Putten HW, Tops C, Lutgens LC, Moog U. Chemotherapy resistant ovarian cancer in carriers of an hMSH2 mutation? *Fam Cancer.* 2001;1(2):107-9.
204. Martin SA, McCarthy A, Barber LJ, Burgess DJ, Parry S, Lord CJ, et al. Methotrexate induces oxidative DNA damage and is selectively lethal to tumour cells with defects in the DNA mismatch repair gene MSH2. *EMBO Mol Med.* 2009;1(6-7):323-37.
205. Martin SA, Hewish M, Sims D, Lord CJ, Ashworth A. Parallel high-throughput RNA interference screens identify PINK1 as a potential therapeutic target for the treatment of DNA mismatch repair-deficient cancers. *Cancer Res.* 2011;71(5):1836-48.

VIII. Bibliografía

206. Martin SA, McCabe N, Mullarkey M, Cummins R, Burgess DJ, Nakabeppu Y, et al. DNA polymerases as potential therapeutic targets for cancers deficient in the DNA mismatch repair proteins MSH2 or MLH1. *Cancer Cell*. 2010;17(3):235-48.
207. Dolcetti R, Viel A, Doglioni C, Russo A, Guidoboni M, Capozzi E, et al. High prevalence of activated intraepithelial cytotoxic T lymphocytes and increased neoplastic cell apoptosis in colorectal carcinomas with microsatellite instability. *Am J Pathol*. 1999;154(6):1805-13.
208. Dudley JC, Lin MT, Le DT, Eshleman JR. Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clin Cancer Res*. 2016;22(4):813-20.
209. Lemery S, Keegan P, Pazdur R. First FDA Approval Agnostic of Cancer Site - When a Biomarker Defines the Indication. *N Engl J Med*. 2017;377(15):1409-12.
210. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2509-20.
211. Li FP, Fraumeni JF, Jr., Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfus MG, Tucker MA, et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res*. 1988;48(18):5358-62.
212. 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*. 2013;17(1):31-47.
213. Frebourg T, Barbier N, Yan YX, Garber JE, Dreyfus M, Fraumeni J, Jr., et al. Germ-line p53 mutations in 15 families with Li-Fraumeni syndrome. *Am J Hum Genet*. 1995;56(3):608-15.
214. Pluquet O, Hainaut P. Genotoxic and non-genotoxic pathways of p53 induction. *Cancer Lett*. 2001;174(1):1-15.
215. Levine AJ, Oren M. The first 30 years of p53: growing ever more complex. *Nat Rev Cancer*. 9. England2009. p. 749-58.
216. Kleihues P, Schauble B, zur Hausen A, Esteve J, Ohgaki H. Tumors associated with p53 germline mutations: a synopsis of 91 families. *Am J Pathol*. 1997;150(1):1-13.
217. Bell DW, Varley JM, Szydlo TE, Kang DH, Wahrer DC, Shannon KE, et al. Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. *Science*. 1999;286(5449):2528-31.
218. Tinat J, Bougeard G, Baert-Desurmont S, Vasseur S, Martin C, Bouvignies E, et al. 2009 version of the Chompret criteria for Li Fraumeni syndrome. *J Clin Oncol*. 27. United States2009. p. e108-9; author reply e10.
219. Hisada M, Garber JE, Fung CY, Fraumeni JF, Jr., Li FP. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90(8):606-11.
220. Hwang SJ, Lozano G, Amos CI, Strong LC. Germline p53 mutations in a cohort with childhood sarcoma: sex differences in cancer risk. *Am J Hum Genet*. 2003;72(4):975-83.
221. Gonzalez KD, Noltner KA, Buzin CH, Gu D, Wen-Fong CY, Nguyen VQ, et al. Beyond Li Fraumeni Syndrome: clinical characteristics of families with p53 germline mutations. *J Clin Oncol*. 2009;27(8):1250-6.
222. Mouchawar J, Korch C, Byers T, Pitts TM, Li E, McCredie MR, et al. Population-based estimate of the contribution of TP53 mutations to subgroups of early-onset breast cancer: Australian Breast Cancer Family Study. *Cancer Res*. 2010;70(12):4795-800.

223. Masciari S, Dillon DA, Rath M, Robson M, Weitzel JN, Balmana J, et al. Breast cancer phenotype in women with TP53 germline mutations: a Li-Fraumeni syndrome consortium effort. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;133(3):1125-30.
224. Birch JM, Alston RD, McNally RJ, Evans DG, Kelsey AM, Harris M, et al. Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations. *Oncogene.* 2001;20(34):4621-8.
225. Olivier M, Goldgar DE, Sodha N, Ohgaki H, Kleihues P, Hainaut P, et al. Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. *Cancer Res.* 2003;63(20):6643-50.
226. Pharoah PD, Easton DF, Stockton DL, Gayther S, Ponder BA. Survival in familial, BRCA1-associated, and BRCA2-associated epithelial ovarian cancer. United Kingdom Coordinating Committee for Cancer Research (UKCCCR) Familial Ovarian Cancer Study Group. *Cancer Res.* 1999;59(4):868-71.
227. Johannsson OT, Ranstam J, Borg A, Olsson H. Survival of BRCA1 breast and ovarian cancer patients: a population-based study from southern Sweden. *J Clin Oncol.* 1998;16(2):397-404.
228. Ben David Y, Chetrit A, Hirsh-Yechezkel G, Friedman E, Beck BD, Beller U, et al. Effect of BRCA mutations on the length of survival in epithelial ovarian tumors. *J Clin Oncol.* 2002;20(2):463-6.
229. Cass I, Baldwin RL, Varkey T, Moslehi R, Narod SA, Karlan BY. Improved survival in women with BRCA-associated ovarian carcinoma. *Cancer.* 2003;97(9):2187-95.
230. Majdak EJ, Debniak J, Milczek T, Cornelisse CJ, Devilee P, Emerich J, et al. Prognostic impact of BRCA1 pathogenic and BRCA1/BRCA2 unclassified variant mutations in patients with ovarian carcinoma. *Cancer.* 2005;104(5):1004-12.
231. Chetrit A, Hirsh-Yechezkel G, Ben-David Y, Lubin F, Friedman E, Sadetzki S. Effect of BRCA1/2 mutations on long-term survival of patients with invasive ovarian cancer: the national Israeli study of ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(1):20-5.
232. Tan DS, Rothermundt C, Thomas K, Bancroft E, Eeles R, Shanley S, et al. "BRCAness" syndrome in ovarian cancer: a case-control study describing the clinical features and outcome of patients with epithelial ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Clin Oncol.* 2008;26(34):5530-6.
233. Xu K, Yang S, Zhao Y. Prognostic significance of BRCA mutations in ovarian cancer: an updated systematic review with meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8(1):285-302.
234. Sun C, Li N, Ding D, Weng D, Meng L, Chen G, et al. The role of BRCA status on the prognosis of patients with epithelial ovarian cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(5):e95285.
235. Candido-dos-Reis FJ, Song H, Goode EL, Cunningham JM, Fridley BL, Larson MC, et al. Germline mutation in BRCA1 or BRCA2 and ten-year survival for women diagnosed with epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(3):652-7.
236. McLaughlin JR, Rosen B, Moody J, Pal T, Fan I, Shaw PA, et al. Long-term ovarian cancer survival associated with mutation in BRCA1 or BRCA2. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(2):141-8.
237. Kotsopoulos J, Rosen B, Fan I, Moody J, McLaughlin JR, Risch H, et al. Ten-year survival after epithelial ovarian cancer is not associated with BRCA mutation status. *Gynecol Oncol.* 2016;140(1):42-7.
238. Vencken PM, Kriege M, Hoogwerf D, Beugelink S, van der Burg ME, Hooning MJ, et al. Chemosensitivity and outcome of BRCA1- and BRCA2-associated ovarian cancer patients after first-line chemotherapy compared with sporadic ovarian cancer patients. *Ann Oncol.* 2011;22(6):1346-52.

VIII. Bibliografía

239. Pal T, Permuth-Wey J, Kapoor R, Cantor A, Sutphen R. Improved survival in BRCA2 carriers with ovarian cancer. *Fam Cancer*. 2007;6(1):113-9.
240. Taniguchi T, Tischkowitz M, Ameziane N, Hodgson SV, Mathew CG, Joenje H, et al. Disruption of the Fanconi anemia-BRCA pathway in cisplatin-sensitive ovarian tumors. *Nat Med*. 2003;9(5):568-74.
241. Strickland KC, Howitt BE, Shukla SA, Rodig S, Ritterhouse LL, Liu JF, et al. Association and prognostic significance of BRCA1/2-mutation status with neoantigen load, number of tumor-infiltrating lymphocytes and expression of PD-1/PD-L1 in high grade serous ovarian cancer. *Oncotarget*. 2016;7(12):13587-98.
242. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol*. 2005;23(3):609-18.
243. Radman M, Wagner R. Carcinogenesis. Missing mismatch repair. *Nature*. 1993;366(6457):722.
244. Scartozzi M, De Nictolis M, Galizia E, Carassai P, Bianchi F, Berardi R, et al. Loss of hMLH1 expression correlates with improved survival in stage III-IV ovarian cancer patients. *Eur J Cancer*. 2003;39(8):1144-9.
245. Trepanier A, Ahrens M, McKinnon W, Peters J, Stopfer J, Grumet SC, et al. Genetic cancer risk assessment and counseling: recommendations of the national society of genetic counselors. *J Genet Couns*. 2004;13(2):83-114.
246. Riley BD, Culver JO, Skrzynia C, Senter LA, Peters JA, Costalas JW, et al. Essential elements of genetic cancer risk assessment, counseling, and testing: updated recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns*. 2012;21(2):151-61.
247. Stuckey AR, Onstad MA. Hereditary breast cancer: an update on risk assessment and genetic testing in 2015. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213(2):161-5.
248. National Collaborating Centre for C. National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance. *Familial Breast Cancer: Classification and Care of People at Risk of Familial Breast Cancer and Management of Breast Cancer and Related Risks in People with a Family History of Breast Cancer*. Cardiff (UK): National Collaborating Centre for Cancer (UK) National Collaborating Centre for Cancer.; 2013.
249. Goldgar DE, Easton DF, Byrnes GB, Spurdle AB, Iversen ES, Greenblatt MS. Genetic evidence and integration of various data sources for classifying uncertain variants into a single model. *Hum Mutat*. 2008;29(11):1265-72.
250. 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*. 2015;17(5):405-24.
251. 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*. 2010;46(12):2275-84.
252. Mørch LS, Skovlund CW, Hannaford PC, Iversen L, Fielding S, Lidegaard O. Contemporary Hormonal Contraception and the Risk of Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(23):2228-39.
253. Weiss NS, Sayvetz TA. Incidence of endometrial cancer in relation to the use of oral contraceptives. *N Engl J Med*. 1980;302(10):551-4.

254. Lu KH, Loose DS, Yates MS, Nogueras-Gonzalez GM, Munsell MF, Chen LM, et al. Prospective multicenter randomized intermediate biomarker study of oral contraceptive versus depo-provera for prevention of endometrial cancer in women with Lynch syndrome. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2013;6(8):774-81.
255. 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*. 2015;33(18):2062-71.
256. Skates SJ. Ovarian cancer screening: development of the risk of ovarian cancer algorithm (ROCA) and ROCA screening trials. *Int J Gynecol Cancer*. 2012;22 Suppl 1:S24-6.
257. Jacobs IJ, Menon U, Ryan A, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Kalsi JK, et al. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10022):945-56.
258. Hogg R, Friedlander M. Biology of epithelial ovarian cancer: implications for screening women at high genetic risk. *J Clin Oncol*. 2004;22(7):1315-27.
259. Rosenthal AN, Fraser LSM, Philpott S, Manchanda R, Burnell M, Badman P, et al. Evidence of Stage Shift in Women Diagnosed With Ovarian Cancer During Phase II of the United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screening Study. *J Clin Oncol*. 2017;35(13):1411-20.
260. 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 Canc Netw*. 2017;15(1):9-20.
261. 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*. 2016;27(suppl 5):v103-v10.
262. 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*. 2014;14:150.
263. 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*. 2009;101(2):80-7.
264. Finch AP, Lubinski J, Moller 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*. 2014;32(15):1547-53.
265. Sherman ME, Piedmonte M, Mai PL, Ioffe OB, Ronnett BM, Van Le L, et al. Pathologic findings at risk-reducing salpingo-oophorectomy: primary results from Gynecologic Oncology Group Trial GOG-0199. *J Clin Oncol*. 2014;32(29):3275-83.
266. Mingels MJ, van Ham MA, de Kievit IM, Snijders MP, van Tilborg AA, Bulten J, et al. Mullerian precursor lesions in serous ovarian cancer patients: using the SEE-Fim and SEE-End protocol. *Mod Pathol*. 2014;27(7):1002-13.
267. Swanson CL, Bakkum-Gamez JN. Options in Prophylactic Surgery to Prevent Ovarian Cancer in High-Risk Women: How New Hypotheses of Fallopian Tube Origin Influence Recommendations. *Curr Treat Options Oncol*. 2016;17(5):20.

VIII. Bibliografía

268. Shu CA, Pike MC, Jotwani AR, Friebel TM, Soslow RA, Levine DA, et al. Uterine Cancer After Risk-Reducing Salpingo-oophorectomy Without Hysterectomy in Women With BRCA Mutations. *JAMA Oncol.* 2016;2(11):1434-40.
269. Schmeler KM, Lynch HT, Chen LM, Munsell MF, Soliman PT, Clark MB, et al. Prophylactic surgery to reduce the risk of gynecologic cancers in the Lynch syndrome. *N Engl J Med.* 2006;354(3):261-9.
270. Lachiewicz MP, Kravochuck SE, O'Malley MM, Heald B, Church JM, Kalady MF, et al. Prevalence of occult gynecologic malignancy at the time of risk reducing and nonprophylactic surgery in patients with Lynch syndrome. *Gynecol Oncol.* 2014;132(2):434-7.
271. Shuster LT, Rhodes DJ, Gostout BS, Grossardt BR, Rocca WA. Premature menopause or early menopause: long-term health consequences. *Maturitas.* 2010;65(2):161-6.
272. Cunningham JM, Cicek MS, Larson NB, Davila J, Wang C, Larson MC, et al. Clinical characteristics of ovarian cancer classified by BRCA1, BRCA2, and RAD51C status. *Sci Rep.* 2014;4:4026.
273. Osorio A, Endt D, Fernandez 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.* 2012;21(13):2889-98.
274. Gutierrez-Enriquez S, Bonache S, de Garibay GR, Osorio A, Santamarina M, Ramon 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.* 2014;134(9):2088-97.
275. Rustin GJ, Vergote I, Eisenhauer E, Pujade-Lauraine E, Quinn M, Thigpen T, et al. Definitions for response and progression in ovarian cancer clinical trials incorporating RECIST 1.1 and CA 125 agreed by the Gynecological Cancer Intergroup (GCIIG). *Int J Gynecol Cancer.* 2011;21(2):419-23.
276. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer.* 2009;45(2):228-47.
277. Hannibal CG, Vang R, Junge J, Kjaerbye-Thygesen A, Kurman RJ, Kjaer SK. A binary histologic grading system for ovarian serous carcinoma is an independent prognostic factor: a population-based study of 4317 women diagnosed in Denmark 1978-2006. *Gynecol Oncol.* 2012;125(3):655-60.
278. Stuart GC, Kitchener H, Bacon M, duBois A, Friedlander M, Ledermann J, et al. 2010 Gynecologic Cancer InterGroup (GCIIG) consensus statement on clinical trials in ovarian cancer: report from the Fourth Ovarian Cancer Consensus Conference. *Int J Gynecol Cancer.* 2011;21(4):750-5.
279. 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.* 2011;21(4):771-5.
280. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat.* 2016;37(6):564-9.
281. http://www.cultek.com/aplicaciones.asp?p=Aplicacion_Secuenciacion_Masiva&opc=introduccion&idap=36 [
282. Metcalfe KA, Fan I, McLaughlin J, Risch HA, Rosen B, Murphy J, et al. Uptake of clinical genetic testing for ovarian cancer in Ontario: a population-based study. *Gynecol Oncol.* 2009;112(1):68-72.

283. Bellcross CA, Peipins LA, McCarty FA, Rodriguez JL, Hawkins NA, Hensley Alford S, et al. Characteristics associated with genetic counseling referral and BRCA1/2 testing among women in a large integrated health system. *Genet Med*. 2015;17(1):43-50.
284. Bellcross CA, Kolor K, Goddard KA, Coates RJ, Reyes M, Khoury MJ. Awareness and utilization of BRCA1/2 testing among U.S. primary care physicians. *Am J Prev Med*. 2011;40(1):61-6.
285. Grana B, Lastra E, Llorc G, Brunet J, Isla D. SEOM clinical guidelines for hereditary cancer. *Clin Transl Oncol*. 2011;13(8):580-6.
286. Eccles DM. Hereditary cancer: guidelines in clinical practice. Breast and ovarian cancer genetics. *Ann Oncol*. 2004;15 Suppl 4:iv133-8.
287. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, 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*. 2006;98(23):1694-706.
288. Vergote I, Banerjee S, Gerdes AM, van Asperen C, Marth C, Vaz F, et al. Current perspectives on recommendations for BRCA genetic testing in ovarian cancer patients. *Eur J Cancer*. 2016;69:127-34.
289. Zhang S, Royer R, Li S, McLaughlin JR, Rosen B, Risch HA, et al. Frequencies of BRCA1 and BRCA2 mutations among 1,342 unselected patients with invasive ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2011;121(2):353-7.
290. Eccles DM, Balmana J, Clune J, Ehlken B, Gohlke A, Hirst C, et al. Selecting Patients with Ovarian Cancer for Germline BRCA Mutation Testing: Findings from Guidelines and a Systematic Literature Review. *Adv Ther*. 2016;33(2):129-50.
291. Llorc G, Chirivella I, Morales R, Serrano R, Sanchez AB, Teule A, et al. SEOM clinical guidelines in Hereditary Breast and ovarian cancer. *Clin Transl Oncol*. 2015;17(12):956-61.
292. Goodman MT, Shvetsov YB. Incidence of ovarian, peritoneal, and fallopian tube carcinomas in the United States, 1995-2004. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(1):132-9.
293. SEER Cancer Stat Facts: Ovarian Cancer. National Cancer Institute. Bethesda, MD, <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html> [Internet].
294. Jelovac D, Armstrong DK. Recent progress in the diagnosis and treatment of ovarian cancer. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(3):183-203.
295. Hart WR. Mucinous tumors of the ovary: a review. *Int J Gynecol Pathol*. 2005;24(1):4-25.
296. Chan JK, Teoh D, Hu JM, Shin JY, Osann K, Kapp DS. Do clear cell ovarian carcinomas have poorer prognosis compared to other epithelial cell types? A study of 1411 clear cell ovarian cancers. *Gynecol Oncol*. 2008;109(3):370-6.
297. Tewari K, Cappuccini F, Disaia PJ, Berman ML, Manetta A, Kohler MF. Malignant germ cell tumors of the ovary. *Obstet Gynecol*. 2000;95(1):128-33.
298. McCluggage WG. Morphological subtypes of ovarian carcinoma: a review with emphasis on new developments and pathogenesis. *Pathology*. 2011;43(5):420-32.
299. Lutke Holzik MF, Rapley EA, Hoekstra HJ, Sleijfer DT, Nolte IM, Sijmons RH. Genetic predisposition to testicular germ-cell tumours. *Lancet Oncol*. 2004;5(6):363-71.
300. Mai PL, Chen BE, Tucker K, Friedlander M, Phillips KA, Hogg D, et al. Younger age-at-diagnosis for familial malignant testicular germ cell tumor. *Fam Cancer*. 2009;8(4):451-6.

VIII. Bibliografía

301. Rapley EA, Crockford GP, Teare D, Biggs P, Seal S, Barfoot R, et al. Localization to Xq27 of a susceptibility gene for testicular germ-cell tumours. *Nat Genet.* 2000;24(2):197-200.
302. Giambartolomei C, Mueller CM, Greene MH, Korde LA. A mini-review of familial ovarian germ cell tumors: an additional manifestation of the familial testicular germ cell tumor syndrome. *Cancer Epidemiol.* 2009;33(1):31-6.
303. Werness BA, Ramus SJ, Whittemore AS, Garlinghouse-Jones K, Oakley-Girvan I, DiCioccio RA, et al. Primary ovarian dysgerminoma in a patient with a germline BRCA1 mutation. *Int J Gynecol Pathol.* 2000;19(4):390-4.
304. Frank TS, Deffenbaugh AM, Reid JE, Hulick M, Ward BE, Lingenfelter B, et al. Clinical characteristics of individuals with germline mutations in BRCA1 and BRCA2: analysis of 10,000 individuals. *J Clin Oncol.* 2002;20(6):1480-90.
305. Negri E, Pelucchi C, Franceschi S, Montella M, Conti E, Dal Maso L, et al. Family history of cancer and risk of ovarian cancer. *Eur J Cancer.* 2003;39(4):505-10.
306. Esteban Cardenosa E, Bolufer Gilabert P, de Juan Jimenez I, Palanca Suela S, Barragan Gonzalez E, Gonzalez Anguix V, et al. Relationship of BRCA1 and BRCA2 mutations with cancer burden in the family and tumor incidence. *Fam Cancer.* 2010;9(3):291-5.
307. Azzollini J, Scuvera G, Bruno E, Pasanisi P, Zaffaroni D, Calvello M, et al. Mutation detection rates associated with specific selection criteria for BRCA1/2 testing in 1854 high-risk families: A monocentric Italian study. *Eur J Intern Med.* 2016;32:65-71.
308. Ewald IP, Ribeiro PL, Palmero EI, Cossio SL, Giugliani R, Ashton-Prolla P. Genomic rearrangements in BRCA1 and BRCA2: A literature review. *Genet Mol Biol.* 2009;32(3):437-46.
309. de la Hoya M, Gutierrez-Enriquez 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.* 2006;52(8):1480-5.
310. Gutierrez-Enriquez S, de la Hoya M, Martinez-Bouzas C, Sanchez de Abajo A, Ramon y Cajal T, Llorca G, et al. Screening for large rearrangements of the BRCA2 gene in Spanish families with breast/ovarian cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;103(1):103-7.
311. Diez O, Gutierrez-Enriquez S, Balmana J. Heterogeneous prevalence of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Spain according to the geographical area: implications for genetic testing. *Fam Cancer.* 2010;9(2):187-91.
312. Miramar MD, Calvo MT, Rodriguez A, Anton A, Lorente F, Barrio E, et al. Genetic analysis of BRCA1 and BRCA2 in breast/ovarian cancer families from Aragon (Spain): two novel truncating mutations and a large genomic deletion in BRCA1. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;112(2):353-8.
313. de Juan Jimenez I, Garcia Casado Z, Palanca Suela S, Esteban Cardenosa E, Lopez Guerrero JA, Segura Huerta A, et al. Novel and recurrent BRCA1/BRCA2 mutations in early onset and familial breast and ovarian cancer detected in the Program of Genetic Counseling in Cancer of Valencian Community (eastern Spain). Relationship of family phenotypes with mutation prevalence. *Fam Cancer.* 2013;12(4):767-77.
314. Gabaldo Barrios X, Sarabia Meseguer MD, Marin Vera M, Sanchez Bermudez AI, Macias Cerrolaza JA, Sanchez 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.* 2017;16(4):477-89.

315. Neuhausen SL, Mazoyer S, Friedman L, Stratton M, Offit K, Caligo A, et al. Haplotype and phenotype analysis of six recurrent BRCA1 mutations in 61 families: results of an international study. *Am J Hum Genet.* 1996;58(2):271-80.
316. Lee E, McKean-Cowdin R, Ma H, Spicer DV, Van Den Berg D, Bernstein L, et al. Characteristics of triple-negative breast cancer in patients with a BRCA1 mutation: results from a population-based study of young women. *J Clin Oncol.* 2011;29(33):4373-80.
317. Esteban Cardenosa E, Bolufer Gilabert P, Palanca Suela S, Oltra Soler S, Barragan Gonzalez E, Velasco Sampedro E, et al. Twenty-three novel BRCA1 and BRCA2 sequence alterations in breast and/or ovarian cancer families of Eastern Spain. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;112(1):69-73.
318. Salazar R, Cruz-Hernandez JJ, Sanchez-Valdivieso E, Rodriguez CA, Gomez-Bernal A, Barco E, et al. BRCA1-2 mutations in breast cancer: identification of nine new variants of BRCA1-2 genes in a population from central Western Spain. *Cancer Lett.* 2006;233(1):172-7.
319. Gabaldo Barrios X, Sarabia Meseguer MD, Alonso Romero JL, Marin Vera M, Marin Zafra G, Sanchez Henarejos P, et al. Novel BRCA1 deleterious mutation (c.1918C>T) in familial breast and ovarian cancer syndrome who share a common ancestry. *Fam Cancer.* 2014;13(3):431-5.
320. Llort G, Munoz CY, Tuser MP, Guillermo IB, Lluch JR, Bale AE, et al. Low frequency of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Spain. *Hum Mutat.* 2002;19(3):307.
321. Ruiz de Garibay G, Gutierrez-Enriquez S, Garre P, Bonache S, Romero A, Palomo L, et al. Characterization of four novel BRCA2 large genomic rearrangements in Spanish breast/ovarian cancer families: review of the literature, and reevaluation of the genetic mechanisms involved in their origin. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;133(1):273-83.
322. Eggington JM, Bowles KR, Moyes K, Manley S, Esterling L, Sizemore S, et al. A comprehensive laboratory-based program for classification of variants of uncertain significance in hereditary cancer genes. *Clin Genet.* 2014;86(3):229-37.
323. Baudhuin LM, Ferber MJ, Winters JL, Steenblock KJ, Swanson RL, French AJ, et al. Characterization of hMLH1 and hMSH2 gene dosage alterations in Lynch syndrome patients. *Gastroenterology.* 2005;129(3):846-54.
324. Vargas-Parra GM, Gonzalez-Acosta M, Thompson BA, Gomez C, Fernandez A, Damaso E, et al. Elucidating the molecular basis of MSH2-deficient tumors by combined germline and somatic analysis. *Int J Cancer.* 2017;141(7):1365-80.
325. Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, et al. Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(35):5783-8.
326. Mills AM, Longacre TA. Lynch Syndrome Screening in the Gynecologic Tract: Current State of the Art. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(4):e35-44.
327. Hampel H, Frankel W, Panescu J, Lockman J, Sotamaa K, Fix D, et al. Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res.* 2006;66(15):7810-7.
328. Liu J, Cristea MC, Frankel P, Neuhausen SL, Steele L, Engelstaedter V, et al. Clinical characteristics and outcomes of BRCA-associated ovarian cancer: genotype and survival. *Cancer Genet.* 2012;205(1-2):34-41.
329. Gevensleben H, Bossung V, Meindl A, Wappenschmidt B, de Gregorio N, Osorio A, et al. Pathological features of breast and ovarian cancers in RAD51C germline mutation carriers. *Virchows Arch.* 2014;465(3):365-9.

VIII. Bibliografía

330. Sopik V, Akbari MR, Narod SA. Genetic testing for RAD51C mutations: in the clinic and community. *Clin Genet*. 2015;88(4):303-12.
331. Brown J, Frumovitz M. Mucinous tumors of the ovary: current thoughts on diagnosis and management. *Curr Oncol Rep*. 2014;16(6):389.
332. Domchek SM, Jhaveri K, Patil S, Stopfer JE, Hudis C, Powers J, et al. Risk of metachronous breast cancer after BRCA mutation-associated ovarian cancer. *Cancer*. 2013;119(7):1344-8.
333. Safra T, Rogowski O, Muggia FM. The effect of germ-line BRCA mutations on response to chemotherapy and outcome of recurrent ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2014;24(3):488-95.
334. Bookman MA, Brady MF, McGuire WP, Harper PG, Alberts DS, Friedlander M, et al. Evaluation of new platinum-based treatment regimens in advanced-stage ovarian cancer: a Phase III Trial of the Gynecologic Cancer Intergroup. *J Clin Oncol*. 2009;27(9):1419-25.
335. Bookman MA, Tyczynski JE, Espirito JL, Wilson TW, Fernandes AW. Impact of primary platinum-free interval and BRCA1/2 mutation status on treatment and survival in patients with recurrent ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2017;146(1):58-63.
336. Liu G, Yang D, Sun Y, Shmulevich I, Xue F, Sood AK, et al. Differing clinical impact of BRCA1 and BRCA2 mutations in serous ovarian cancer. *Pharmacogenomics*. 2012;13(13):1523-35.
337. Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell*. 2002;108(2):171-82.
338. Xia F, Taghian DG, DeFrank JS, Zeng ZC, Willers H, Iliakis G, et al. Deficiency of human BRCA2 leads to impaired homologous recombination but maintains normal nonhomologous end joining. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(15):8644-9.
339. Lacour RA, Westin SN, Meyer LA, Wingo SN, Schorge JO, Brooks R, et al. Improved survival in non-Ashkenazi Jewish ovarian cancer patients with BRCA1 and BRCA2 gene mutations. *Gynecol Oncol*. 2011;121(2):358-63.
340. Gallagher DJ, Konner JA, Bell-McGuinn KM, Bhatia J, Sabbatini P, Aghajanian CA, et al. Survival in epithelial ovarian cancer: a multivariate analysis incorporating BRCA mutation status and platinum sensitivity. *Ann Oncol*. 2011;22(5):1127-32.
341. Armstrong DK, Bundy B, Wenzel L, Huang HQ, Baergen R, Lele S, et al. Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2006;354(1):34-43.
342. Teramukai S, Ochiai K, Tada H, Fukushima M. PIEPOC: a new prognostic index for advanced epithelial ovarian cancer--Japan Multinational Trial Organization OC01-01. *J Clin Oncol*. 2007;25(22):3302-6.
343. Rauh-Hain JA, Melamed A, Wright A, Gockley A, Clemmer JT, Schorge JO, et al. Overall Survival Following Neoadjuvant Chemotherapy vs Primary Cytoreductive Surgery in Women With Epithelial Ovarian Cancer: Analysis of the National Cancer Database. *JAMA Oncol*. 2017;3(1):76-82.
344. Bristow RE, Eisenhauer EL, Santillan A, Chi DS. Delaying the primary surgical effort for advanced ovarian cancer: a systematic review of neoadjuvant chemotherapy and interval cytoreduction. *Gynecol Oncol*. 2007;104(2):480-90.
345. Vergote I, Trope CG, Amant F, Kristensen GB, Ehlen T, Johnson N, et al. Neoadjuvant chemotherapy or primary surgery in stage IIIC or IV ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(10):943-53.

346. Kehoe S, Hook J, Nankivell M, Jayson GC, Kitchener H, Lopes T, et al. Primary chemotherapy versus primary surgery for newly diagnosed advanced ovarian cancer (CHORUS): an open-label, randomised, controlled, non-inferiority trial. *Lancet*. 2015;386(9990):249-57.
347. Mahdi H, Gockley A, Esselen K, Marquard J, Nutter B, Yang B, et al. Outcome of neoadjuvant chemotherapy in BRCA1/2 mutation positive women with advanced-stage Mullerian cancer. *Gynecol Oncol*. 2015;139(3):407-12.
348. Gorodnova TV, Sokolenko AP, Ivantsov AO, Iyevleva AG, Suspitsin EN, Aleksakhina SN, et al. High response rates to neoadjuvant platinum-based therapy in ovarian cancer patients carrying germ-line BRCA mutation. *Cancer Lett*. 2015;369(2):363-7.
349. da Costa AA, Valadares CV, Baiocchi G, Mantoan H, Saito A, Sanches S, et al. Neoadjuvant Chemotherapy Followed by Interval Debulking Surgery and the Risk of Platinum Resistance in Epithelial Ovarian Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2015;22 Suppl 3:S971-8.
350. Petrillo M, Marchetti C, De Leo R, Musella A, Capoluongo E, Paris I, et al. BRCA mutational status, initial disease presentation, and clinical outcome in high-grade serous advanced ovarian cancer: a multicenter study. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(3):334.e1-.e9.
351. Leiserowitz GS, Lin JF, Tergas AI, Cliby WA, Bristow RE. Factors Predicting Use of Neoadjuvant Chemotherapy Compared With Primary Debulking Surgery in Advanced Stage Ovarian Cancer-A National Cancer Database Study. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(4):675-83.
352. Wimberger P, Lehmann N, Kimmig R, Burges A, Meier W, Du Bois A. Prognostic factors for complete debulking in advanced ovarian cancer and its impact on survival. An exploratory analysis of a prospectively randomized phase III study of the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group (AGO-OVAR). *Gynecol Oncol*. 2007;106(1):69-74.
353. Hyman DM, Long KC, Tanner EJ, Grisham RN, Arnold AG, Bhatia J, et al. Outcomes of primary surgical cytoreduction in patients with BRCA-associated high-grade serous ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2012;126(2):224-8.
354. Safra T, Grisaru D, Inbar M, Abu-Abeid S, Dayan D, Matcyevesky D, et al. Cytoreduction surgery with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in recurrent ovarian cancer improves progression-free survival, especially in BRCA-positive patients- a case-control study. *J Surg Oncol*. 2014;110(6):661-5.
355. Sabatier R, Lavit E, Moretta J, Lambaudie E, Noguchi T, Eisinger F, et al. Ovarian cancer patients at high risk of BRCA mutation: the constitutional genetic characterization does not change prognosis. *Fam Cancer*. 2016;15(4):497-506.
356. Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers. *Nat Rev Cancer*. 4. England2004. p. 814-9.
357. 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*. 2006;66(16):8109-15.
358. Eoh KJ, Park HS, Park JS, Lee ST, Han J, Lee JY, et al. Comparison of Clinical Outcomes of BRCA1/2 Pathologic Mutation, Variants of Unknown Significance, or Wild Type Epithelial Ovarian Cancer Patients. *Cancer Res Treat*. 2017;49(2):408-15.
359. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982;5(6):649-55.

VIII. Bibliografía

360. Prat J. FIGO's staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: abridged republication. *J Gynecol Oncol.* 2015;26(2):87-9.

361. Morgan RJ, Jr., Armstrong DK, Alvarez RD, Bakkum-Gamez JN, Behbakht K, Chen LM, et al. Ovarian Cancer, Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2016;14(9):1134-63.