



TESIS DOCTORAL

**TRASMISIÓN GENÉTICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONÓSTICO DEL CONSEJO GENÉTICO.**

RAQUEL MACIAS MONTERO

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

Conformidad de los directores:

Fdo: D. Enrique Galán Gómez Fdo: Dña.Raquel Rodriguez López

2015

*A mi familia, los pilares de mi fortaleza.
A mis hijos, Gonzalo y Quique, el motivo de mi existencia.
A mi marido, Enrique, mi apoyo incondicional.*

AGRADECIMIENTOS

]

]

Comenzar agradeciendo, es la mejor manera de presentar el fruto de un enorme esfuerzo, que si bien ,pretende ser una pequeña muestra de lo aprendido, no hubiera sido posible sin la inestimable ayuda de quienes asoman en estas sencillas líneas.

Sin orden ni prioridad, tal y como a la mente asoman...

Gracias a mis Directores, RaquelRodriguez y Enrique Galán por su inestimable apoyo.

A Enrique por ser un ejemplo diario de trabajo y tesón. Fuente inagotable de conocimientos, de energía, de vitalidad.

A Raquel, por todo lo que me enseñaste y lo que me legaste....que ha sido el comienzo de mi sueño profesional. Por abrirme la mente en la diversidad de la ciencia, y los ojos en la complejidad de la vida.

A todos aquellos que confiaron en mi y me dieron la oportunidad de ejercer la Oncología a diario.

A mis chicas de Inmunología, que me alegraban la mañana de los jueves cuando llovía....A Montse, que siempre esta ahí, a Esther, por tantas horas de trabajo, a Patricia por su incansable paciencia.

A Luisa, porque sin tu ayuda, no estaríamos aquí. Por interesarte tanto y facilaterme la vida....con lo compleja que puede resultar a veces....

A Rafi, Rosa, Vanesa...por ayudarme a diario sin una sola protesta, a Carmen, por tanta paciencia y constancia, que hace posible que salga el trabajo adelante.

A Marta por escucharme.....

A todos y cada uno de los enfermeros,auxiliares, celadores, voluntarios....del equipo de oncología por su excelente talante.

A nuestros pacientes, que son un ejemplo diario de lucha, superación y valentía, el espejo donde mirarse cuando caemos en la autocomplacencia.

]

Quiero dar las gracias a mis padres, por enseñarme a luchar por conseguir mis metas con honestidad y esfuerzo, a mis hermanos por ser mis mejores amigos y un apoyo incondicional. A mis abuelos que tan dulcemente me trataron.

Finalmente agradecer a Dios y a la Vida por ayudarme a formar mi preciosa familia. A mis niños, Gonzalo y Quique, energía inagotable, alegría inconmesurable, el motor de mi existencia, el motivo de mi tesón, la fuerza que me levanta....y a mi querido Enrique, por su paciencia, su honestidad, su apoyo inquebrantable, por enseñarme a pelear y no callar, por ser un ejemplo diario de Justicia, voluntad y generosidad...GRACIAS.

]

RESUMEN

]

]

INTRODUCCIÓN:

El avance en el conocimiento del Genoma humano y en los mecanismos genéticos asociados a la predisposición a desarrollar tumores malignos, permite explicar la aparición de determinados cánceres agrupados en una misma familia.

En la actualidad, estamos asistiendo a una reorientación de la medicina basándose en la predicción y la prevención, donde las implicaciones genéticas de las enfermedades y las intervenciones preventivas tienen un papel fundamental en el proceso asistencial.

La identificación, de manera precoz, de éste grupo de personas de alto riesgo permite que sean atendidas de forma diferente, desde una valoración individualizada del riesgo de desarrollar cáncer hasta estrategias de prevención, tratamiento y seguimiento adecuado a sus riesgos.

El Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario es el más frecuente de los SPCs. Los tumores de mama debidos a mutaciones heredadas en BRCA1 o BRCA2 difieren de los esporádicos y de los familiares no causados por estos genes en sus características morfológicas, inmunofenotípicas y moleculares y por tanto, es necesaria la selección de individuos y familias en las que existe una probabilidad razonable de detectar una alteración o en los que las consecuencias del estudio pueden ser clínicamente beneficiosas.

]

MÉTODOS Y RESULTADOS:

Se analizaron los genes BRCA1 y BRCA2 en pacientes (probandus) con cáncer de mama y/u ovario con historia familiar de CM o CO, atendidos en la consulta de Alto riesgo y Cancer Hereditario del Hospital Universitario Infanta Cristina de Badajoz. Los estudios se realizaron en aquellos casos que cumplían los criterios de inclusión de alto riesgo para CMOH, seleccionando el miembro de la familia mas optimo según criterios de susceptibilidad. Si todos los familiares afectados de cáncer han fallecido, no se realizará el estudio genético en sanos, por la baja probabilidad de detectar una mutacion patogénica.

Se realiza un estudio descriptivo de la población de riesgo de nuestro área de salud. Destacando las principales características definatorias y los posibles sesgos de información.

CONCLUSIONES:

No es posible identificar la mutación responsable en un 75-80% de las familias que cumplen criterios sugestivos de una predisposición hereditaria al Síndrome de cáncer de mama-ovario hereditario. Las mujeres que pertenecen a familias de alto riesgo en las que no se ha logrado detectar una mutación en BRCA ti se deberá individualizar en función de su riesgo acumulado a lo largo de la vida, que se podrá valorar con un modelo de estimación del riesgo.

La población estudiada cumple criterios establecidos por las guias actuales.

Destaca la baja proporción de casos diagnosticados a través de pruebas de screening (mamografía/ecografía), lo que se traduce en la posibilidad de que el calendario o edad de inicio de éste no esté ajustado a la edad de riesgo de nuestra población.

GLOSARIO

TERMINOS Y ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO:

ADN: Abreviación de Ácido Deoxirribonucleico. Es la forma de almacenamiento de nuestro material genético. Todas las instrucciones para la producción de nuestras proteínas está codificada en nuestro ADN.

APC: Gen de la Poliposis Adenomatosa Familiar. Rara enfermedad hereditaria autosómica dominante. Se localiza en el cromosoma 5q21-q22.

ASCO: American Society of Clinical Oncology.

ATM: Gen localizado en el cromosoma 11q22 y cuya mutación produce la Ataxia Telangiectasa, enfermedad neurológica progresiva autosómica recesiva.

AD: Autosómico dominante. Un gen en uno de los autosomas, que si está presente producirá casi siempre una enfermedad o rasgo específico. La probabilidad de pasar el gen (y por lo tanto la enfermedad) a los hijos, es de 50:50 en cada embarazo

BRAF: Codifica una serina/treonina quinasa que, inducida por factores de crecimiento y mediada por RAS, activa la cascada RAS/RAF/MEK/ERK implicada en la proliferación celular.

Brazo p: El brazo corto de un cromosoma.

Brazo q: El brazo largo de un cromosoma.

BRCAPRO: Programa informático que emplea las estadísticas para predecir si una persona va a tener una mutación (cambio) hereditaria en los genes BRCA1 y BRCA2.

BRCA1: Gen 1 del cáncer familiar de mama/ovario. Implicado en cáncer de mama hereditario y en el cáncer ovárico. Se localiza en el cromosoma 17q21.

BRCA2: Gen 2 del cáncer familiar de mama/ovario. Implicado en el cáncer de mama hereditario. Se localiza en el cromosoma 13q12.3.

CDH1: Gen de la caderina 1 (caderina epitelial o E-caderina). Está implicado en el carcinoma gástrico familiar. Se localiza en el cromosoma 16q22.1.

CGO: Consejo Genético oncológico..Proceso para asesorar a individuos y familias que tienen una enfermedad genética o el riesgo de tenerla.

CM: Cancer de mama.

CMOH: Cancer de mama y ovario hereditario.

CO: Cancer de ovario.

Codón: Un triplete de nucleótidos que codifican para un aminoácido.

Cr: Cromosoma. Una cadena larga de ADN que contiene información genética. Nuestros cromosomas (46 en los humanos) residen en el núcleo dentro de cada una de nuestras células.

E: Exón. Región del ADN de un gen que codifica para una parte de la proteína. Están intercalados entre secuencias no codificantes o intrones.

Fenocopia: Un individuo que padece la enfermedad pero que no tiene la mutación que la predispone (caso esporádico).

Fenotipo: Rasgos o características visibles de un organismo. Los rasgos fenotípicos no son necesariamente genéticos.

Gen: La unidad física y funcional de la herencia, que se pasa de padres a hijos. Los genes están compuestos por ADN y la mayoría de ellos contiene la información para elaborar una proteína específica.

Heterocigoto: Que posee dos formas diferentes de un gen en particular; cada una heredada de cada uno de los progenitores.

Hereditario: Transmitido a través de los genes, de padres a hijos.

HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer): Cáncer colorrectal hereditario no polipósico que engloba al Síndrome de Lynch I y II. Autosómica dominante.

Homocigoto: Que posee dos formas idénticas de un gen específico heredadas de cada uno de los progenitores.

I: Intrón. Es una secuencia no codificadora de DNA que separa a dos exones.

LIB: Ley de Investigación Biomédica.

Microsatélite: Secuencias de ADN de longitud variable formada por repeticiones de una secuencia corta de nucleótidos.

MLH1: Gen implicado en cánceres colorectales, endometriales y ová-ricos. Se localiza en el cromosoma 3p21.3.

MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification): consiste en el cribado de determinadas regiones del ADN mediante el estudio de sondas que hibridarán en diferentes puntos de la región de interés, se ligarán 2 a 2 y posteriormente se amplificarán utilizando el mismo par de primers. Mediante un análisis de fragmentos y aprovechando la diferencia de tamaño de cada una de las sondas debido a un fragmento cebador de tamaño, se podrán identificar pérdidas o ganancias de material genético, atendiendo a la normalización de las áreas de cada pico con respecto a un control sano.

MMRPRO: Modelo estadístico que calcula la posibilidad de un individuo de ser portador de una mutación en los genes MLH1, MSH2 y MSH6.

Mosaico: Presencia de diferentes genotipos.

MSH2: Gen implicado en los cánceres colorectal, endometriales, y ová-ricos. Se localiza en el cromosoma 2p22-p21.

Mutación: El cambio de un gen de una forma normal a otra alterada.

Oncogen: Un gen defectivo que ha sufrido mutaciones y toma parte en la causa del crecimiento tumoral. Son formas alteradas de genes que normalmente están involucrados en estimular la división celular.

PARP: poli ADP-ribosa polimerasa; enzima implicada en la reparación de excisión de bases, principal mecanismo de reparación de roturas de cadenas simples de ADN.

PCR (Polymerase Chain Reaction): Proceso de amplificación de secuencias específicas de ADN mediante una técnica específica.

“Pedigree”: Árbol familiar.

Penetrancia: La probabilidad (alta o baja) de que una enfermedad pueda ocurrir como resultado de la presencia de una mutación predisponente.

Probandus : El caso inicial en un árbol familiar a través del cual se determina una familia con un trastorno genético.

Protooncogen: Un gen que funciona para promover la división celular. Cuando estos genes están mutados ellos producen varios productos que promueven la división celular de una manera anormal.

PTEN: Gen implicado en el síndrome de Cowden, algunos hamartomas, gliomas, y cánceres de próstata y endometrio. Se localiza en el cromosoma 10q23.3.

Recesivo: Un desorden en el que el gen solo puede ejercer un efecto fenotípico si ambos alelos están alterados.

SNPs (Single Nucleotide Polimorphism): Polimorfismos de un solo nucleótido. Son variaciones comunes de una sola base que ocurren en el ADN humano y que se pueden emplear para rastrear patrones de herencia familiar.

Transcripción: Proceso de síntesis de una cadena de ARN a partir de una cadena de ADN y llevado a cabo por ARN polimerasa.

Translocación: Ruptura y reunión de un segmento de ADN de un cromosoma a otro.

ÍNDICE

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	7
RESUMEN	11
GLOSARIO	15
ÍNDICE	21

1. INTRODUCCIÓN **27**

1.1. HISTORIA DEL CANCER HEREDITARIO.

1.2. BASES GENÉTICAS DE SUSCEPTIBILIDAD AL CANCER.

1.2.1. CRITERIOS DIAGNOSTICOS EN LOS SINDROMES DE CANCER HEREDITARIO.

1.2.2. ONCOGENES Y GENES SUPRESORES.

1.2.3. TECNICAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR.

1.2.4. GENES DE BAJA PENETRANCIA Y CANCER.

1.3. DETECCION E IDENTIFICACION DE SINDROMES HEREDITARIOS DE SUSCEPTIBILIDAD AL CANCER.

1.4. ASESORAMIENTO GENÉTICO COMO HERRAMIENTA EN EL MANEJO DE LAS FAMILIAS CON SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CANCER.

1.4.1. ASPECTOS ETICOS Y LEGALES.

1.4.2. VALORACION PSICOLOGICA DEL CONSEJO GENETICO ONCOLOGICO.

1.5. SINDROMES HEREDITARIOS EN ONCOLOGIA.

1.5.1. SÍNDROME DE CÁNCER DE MAMA-OVARIO HEREDITARIO.

1.5.2. SÍNDROME DE CÁNCER DE COLON HEREDITARIO POLIPOSICO.

1.5.3. SÍNDROME DE CÁNCER DE COLON HEREDITARIO NO POLIPOSICO

1.5.4. SINDROME DE CÁNCER DE PÁNCREAS HEREDIATRIO.

1.5.5. SINDROME DE MELANOMA FAMILIAR.

1.5.6. OTROS SINDROMES.

1.6. RESUMEN DE LA INTRODUCCIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO.

2. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION

97

2.1. OBJETIVOS

2.1.1. OBJETIVOS PRINCIPALES

2.1.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

2.2. JUSTIFICACIÓN.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

101

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

3.2. ÁMBITO DEL ESTUDIO

3.3. SELECCIÓN DE PACIENTES

3.4 .PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

4. RESULTADOS

107

4.1. ANÁLISIS CLÍNICO

4.2. ANÁLISIS POR SUBGRUPOS.

4.3. RESUMEN DE LOS RESULTADOS

5. DISCUSIÓN. 137

5.1. SINDROME DE CANCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO

5.2. IMPORTANCIA DEL DIAGNOSTICO GENETICO.

5.3.RESULTADOS EN FUNCIÓN DEL ESTILO DE VIDA Y FACTORES DE RIESGO

5.4. MUTACIONES POBLACIONALES ESTUDIADAS

5.5 TRASCENDENCIA DEL ESTUDIO.

6. CONCLUSIONES 153

6.1. CONCLUSIONES GENERALES.

6.2. CONCLUSIONES FINALES DEL ESTUDIO.

7. BIBLIOGRAFÍA 157

8. ANEXOS 183

1.INTRODUCCIÓN

1.1. HISTORIA DEL CANCER HEREDITARIO:

Los básicos datos de la variación en la incidencia de tumores sugiere la importancia de la susceptibilidad étnica e individual ligada a la herencia. En sus escritos sobre la historia del cáncer de mama, Donegan¹ sugiere que el cáncer no ha sido una causa fundamental de fallecimiento antes de la historia documentada, ya que la esperanza de vida era demasiado corta para que se desarrollase la enfermedad.

Los estudios de aquellos tiempos primitivos nos indican que la enfermedad se consideraba provocada por los malos espíritus o por la cólera de los dioses.

Magos, brujos y curanderos emplearon rituales y pócimas contra la enfermedad.

El primer caso registrado de cáncer de mama aparece en un papiro egipcio que se remonta a 3000 años AC aproximadamente. Resulta interesante, ya que dicho papiro registra tratamientos de pacientes masculinos, por lo tanto ha debido tratarse de un, poco frecuente, cáncer de mama en un varón. El médico describía dichos tumores como no tratables.

La historia del cáncer hereditario comenzó con las observaciones de agrupaciones familiares de pacientes quienes a menudo manifestaron fenotipos exóticos y peculiares, tales como el tipo que puede manifestarse en formas graves de neurofibromatosis. El extraño aspecto de algunos miembros de la familia, hizo que frecuentemente sus médicos e incluso los propios miembros de dicha familia afectados, consideraran que su destino era una maldición de Dios^{2,3}.

Una interpretación científica de la etiología fue desarrollada en la era de la medicina moderna, cuando los médicos y los genetistas empezaron ya a considerar que las causas se debían a factores biológicos o genéticos⁴.

En los tiempos de los antiguos griegos y romanos, se desarrollaron conocimientos sobre la historia natural de los cánceres. Los tratamientos habituales fueron la cirugía y la cauterización. Sin embargo, la causa del cáncer seguía siendo un misterio. La teoría humoral sobre la enfermedad era la que gozaba de mayor credibilidad, lo cual condujo a falsas suposiciones en cuanto a los tratamientos a realizar, tales como el sangrado y el purgado.

Durante la Edad Media no hubo grandes progresos en los conocimientos médicos, pero el Renacimiento conllevó un renovado interés por la historia griega y latina así como un enfoque más científico de la medicina como nunca antes había existido. Sin embargo, durante esta época, todavía los humores circulantes se consideraban causantes de las metástasis, y casos anecdóticos de familias con numerosos miembros afectados por el cáncer, dieron pie a la hipótesis de que el cáncer era un proceso contagioso y no una etiología hereditaria.

Fue necesario el descubrimiento y el progreso de la técnica de la microscopía para poder demostrar finalmente el papel desempeñado por las células en el cáncer, y se requirió el desarrollo de genética para empezar a considerar el posible papel del factor hereditario.

Una comprensión científica de la etiología del cáncer fue progresando en la era de la medicina moderna, momento en el cual los médicos y genetistas empezaron ya a plantearse que los factores causales podrían ser factores biológicos o genéticos⁴. Los nuevos descubrimientos médicos, con solidez científica, deberán permitir a los científicos básicos y a los clínicos el aprender de la historia de la medicina y modificar las creencias del pasado, con el fin de mejorar el cuidado de los pacientes. De hecho, numerosos descubrimientos médicos acumulados a lo largo de varios milenios, proceden de investigadores quienes “se han apoyado en los logros” de aquellos que a su vez ya habían contribuido al conocimiento médico. Resulta importante señalar que en esta cadena de acontecimientos históricos, ha habido un aplastante número de progresos en genética molecular, tipificados por el descubrimiento de innumerables mutaciones de líneas germinales que producen cáncer. Estos recientes descubrimientos permiten alcanzar un grado sin igual de certeza en el diagnóstico, limitados únicamente por la penetrancia de la mutación..

1.2 BASES GENÉTICAS DE SUSCEPTIBILIDAD AL CANCER:

La enfermedad oncológica o desarrollo tumoral se caracteriza por un crecimiento excesivo y descontrolado de un grupo de células que invaden y dañan tejidos y

órganos. Es una de las causas más frecuentes de mortalidad ocupando un segundo puesto en los países desarrollados siguiendo a las enfermedades cardiovasculares o coronarias. La incidencia del cáncer ha aumentado en las últimas décadas; aunque en aquellos países donde el control sanitario es mayor ha habido una disminución de los casos de mortalidad, en los últimos años, debido a los grandes avances en los tratamientos terapéuticos y en el diagnóstico precoz.

El cáncer es el resultado de dos procesos sucesivos: el aumento de la proliferación de un grupo de células formando un tumor o neoplasia y la posterior adquisición por parte de estas células de capacidad invasiva permitiéndoles migrar desde su lugar de origen a otros tejidos u órganos, proceso conocido como metástasis.

Para entender o estudiar la carcinogénesis hay que tener en cuenta su alta complejidad, la cual se refleja en la gran heterogeneidad y variabilidad morfológica y pronóstica de los tumores y el gran número de alteraciones moleculares oncogénicas descritas. Estas seguirán aumentando conforme se avance en el conocimiento de nuevas moléculas o nuevas funciones de moléculas ya conocidas, cuya activación o inactivación puedan afectar a los procesos de proliferación y diferenciación celular, ya sea a nivel del ciclo celular, a nivel de apoptosis⁵.... El cáncer se considera una enfermedad genética esporádica, excepcionalmente hereditaria. El proceso de formación de un tumor consiste en la acumulación de múltiples alteraciones en el genoma de las células que forman dicho tumor. Existen dos posibles conjuntos de alteraciones genéticas: cambios en la secuencia del ADN y cambios epigenéticos que afectan a la expresión de genes. Las alteraciones a nivel de secuencia pueden ser deleciones de regiones cromosómicas, que implican pérdida de genes que pueden estar relacionados con la regulación negativa del ciclo celular, como es el caso de los genes supresores de tumores; mutaciones génicas que pueden activar o inactivar distintas proteínas; amplificaciones génicas que conllevan la sobreexpresión de genes específicos; e incluso, pérdidas y ganancias de cromosomas enteros. En cuanto a alteraciones epigenéticas nos encontramos con el silenciamiento de genes causado por hipermetilación de las islas CpG localizadas en sus promotores, como es caso de p16INK4a , el gen MLH1 o el gen BRCA1. Cuando estas alteraciones se encuentran en las células de la línea

germinal se transmiten a la descendencia. Este es el caso del cáncer de mama, patología en la que aproximadamente un 5-10% de los afectados son consecuencia de la herencia por vía germinal de mutaciones en los genes BRCA1⁶ y BRCA2⁷. También en este grupo encontramos alteraciones genéticas que transmiten una predisposición a desarrollar un tipo o varios tipos de tumores, como es el caso de la ataxia telangiectasia, cuya mutación afecta al gen ATM⁷ que esta implicado en los procesos de reparación del ADN, y sus pacientes desarrollan linfomas de tipo no Hodgkin, leucemias linfocíticas agudas, carcinoma de estómago y, además, poseen una alta predisposición para el cáncer de mama. Estas alteraciones genéticas en el cáncer hereditario pueden afectar a genes supresores y a genes de reparación del ADN. Ejemplos de mutaciones en genes reparadores del ADN aparecen en algunos casos como el cáncer colorrectal hereditario de tipo no polipósico (HNPCC)⁸ con mutaciones fundamentalmente en los genes MSH2 y MLH1. En cuanto a mutaciones en genes supresores de tumores encontramos, un tipo de cáncer muy conocido es el retinoblastoma, donde el gen alterado es el gen supresor de tumores Rb; la poliposis familiar adenomatosa, donde el gen afectado es APC⁹; el tumor de Wilms, con el gen Wt1 mutado; las neurofibromatosis de tipo 1 y 2 con alteraciones en los genes NF1 y NF2.

Las causas del cáncer residen en:

- a) fallos endógenos en procesos celulares
- b) agentes externos que pueden alterar nuestros genes.

Estos agentes externos se pueden dividir en tres grupos: agentes químicos, algunos naturales, pero la mayoría producidos por la actividad industrial que causan entre un 80-90% de los casos; agentes físicos como radiaciones ionizantes, luz ultravioleta y fibras minerales (asbestos) que constituyen el 5% de los casos; y los virus responsables de un 5-10% de los cánceres (tales como HPV-16, HPV-18 y otros).

Hay muy pocos casos de tumores que posean alteraciones constantes. Los distintos procesos moleculares que se asocian con la formación y progresión tumoral son:

- a) activación de oncogenes
- b) inactivación de genes supresores
- c) alteración en los genes de reparación del ADN
- d) alteración de genes relacionados con la apoptosis
- e) otros mecanismos tales como la activación de telomerasa, de genes interruptores, reparación de la oxidación mediada por radicales libres procedentes del metabolismo celular, reacciones de depurinación, de desaminación, etc.
- f) inestabilidad genética (microsatélites y cromosómica)

1.2.1 CRITERIOS DIAGNOSTICOS EN LOS SINDROMES DE CANCER HEREDITARIO

En la definición de un síndrome de cáncer hereditario no hay que olvidar las nuevas perspectivas que nos brindan las últimas identificaciones de la base molecular de un buen número de neoplasias hereditarias (TP53, hMLH1, BRCA1...) El conocimiento del defecto genético subyacente clarifica, por un lado, los hallazgos clínicos que se asocian con las alteraciones de determinados genes. Por otro, permite demostrar el espectro de manifestaciones clínicas asociado a cada síndrome, y además, muestra la heterogeneidad genética existente en muchas de estas enfermedades.

Estas aportaciones han permitido enunciar nuevos criterios diagnósticos y reevaluar los antiguos. En algunos de estos criterios figuran referencias a la historia familiar y al tipo de herencia observado del análisis del pedigrí.

Sin embargo, al contemplar estos criterios, no conviene ignorar la presencia de otros factores que modifican la herencia mendeliana como son, historia familiar parcialmente desconocida, penetrancia, expresividad variable, manifestaciones en heterocigotos de patologías recesivas, mutaciones de novo..., que pueden variar la exigencia en el cumplimiento de este tipo de criterios. En los criterios de tipo resultado de exploraciones complementarias (analíticos radiológicos, etc) y en los

que incluyen terminología referente a rasgos dismórficos, se hace imprescindible contar con rangos y definiciones de normalidad que, en ocasiones sólo pueden ser aportados por el especialista adecuado, a quien se debe consultar sobre ese determinado criterio.

También es necesario tener en cuenta que estos criterios, como herramienta clínica, incluirán pacientes en los que, en ocasiones, no será posible encontrar la alteración genética responsable asociada con el síndrome clínico. Tampoco todos los pacientes con mutaciones en un gen específico cumplirán siempre los criterios diagnósticos para el síndrome asociado, demostrando que, salvo excepciones, la relación entre el síndrome clínico (normalmente identificado con prioridad) y la base molecular no es ni mucho menos unívoca para estas enfermedades.

La seguridad diagnóstica no depende sólo del cumplimiento de reglas enunciadas por grupos de expertos, sino del conocimiento extenso del síndrome.

Los tratados en la Consulta de Cáncer familiar serían:

- 1- Birt-Hogg-Dubé, Síndrome de.
- 2- Colon Hereditario no Asociado a Poliposis, Cáncer de.
- 3- Cowden, Síndrome de.
- 4- Gástrico, Cáncer.
- 5- Gorlin, Síndrome de.
- 6- Leiomiomatosis Hereditaria y Carcinoma Renal.
- 7- Li-Fraumeni, Síndrome de.
- 8- Mama y Ovario Hereditario, Cáncer de.
- 9- Medular de Tiroides Familiar, Carcinoma.
- 10- Melanoma Familiar.
- 11- Neoplasia Endocrina Múltiple Tipo 1.
- 12- Neoplasia Endocrina Múltiple Tipo 2A.

- 13- Neoplasia Endocrina Múltiple Tipo 2B.
- 14- Neurofibromatosis 1 y 2.
- 15- Páncreas Hereditario, Cáncer de.
- 16- Peutz-Jeghers, Síndrome de.
- 17- Poliposis Adenomatosa.
- 18- Próstata Hereditario, Cáncer de.
- 19- Renal Papilar Hereditario, Carcinoma.
- 20- Von Hippel Lindau, Enfermedad de.

1.2.2.ONCOGENES Y GENES SUPRESORES:

ONCOGENES:

Los ONCOGENES son las formas mutadas de los proto-oncogenes, que son genes que intervienen en las rutas de proliferación celular, y originan proteínas con funciones anómalas que estimulan el crecimiento y alteración de la transformación celular. Los primeros oncogenes descubiertos eran virales, pero los virus sólo son responsables de un porcentaje muy pequeño de los procesos tumorales. Se pueden clasificar según su mecanismo de acción y en función de la ruta bioquímica en la que se encuentran. Así tenemos oncogenes que codifican factores de crecimiento, receptores tirosina-quinasa, receptores sin actividad tirosina-quinasa, proteínas que intervienen en las vías de señalización de determinadas señales mitógenas y proteínas nucleares que regulan los procesos de transcripción.

Sis El oncogén sis, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), es un regulador que tiene un papel crítico en los procesos de migración y proliferación de células del mesénquima. Se ha visto que induce quimiotaxis y reorganización de actina protegiendo a las células de la muerte por apoptosis. Este factor contribuye al cáncer mediante mecanismos autocrinos y paracrinos a través de los tejidos circundantes o de otras células presentes en tumores como

macrófagos y células endoteliales, además de estar implicado en angiogénesis y en las interacciones entre tumor y estroma

erbB Los oncogenes *erbB* codifican para receptores tirosina-quinasa de la familia del factor de crecimiento epidérmico (EGF). Particularmente los receptores *erbB2* y *erbB3* están implicados en el desarrollo de cánceres humanos. En un 25-30% de los tumores de mama hay una sobreexpresión y activación constitutiva del receptor *erbB2* y se asocia con procesos de metástasis en ganglios linfáticos correlacionando, por tanto, con mal pronóstico. *erbB3* también se expresa en tumores humanos en donde hay sobreexpresión de *erbB2* como mama, vejiga y otros. Recientemente, se ha demostrado que la sobreexpresión independiente de cada uno no promueve transformación celular, pero el heterodímero *erbB2/erbB3* es el que posee funciones oncogénicas¹⁰.

Se han descrito muchos más oncogenes que son homólogos de receptores con actividad tirosina-quinasa como el oncogén *fms*, receptor para el factor estimulante de la formación de colonias de macrófagos (CSF-1); *c-kit*, el receptor y su ligando; el factor de crecimiento de células hematopoyéticas o stem cell factor cuya expresión está aumentada en distintos tumores como leucemia mieloide aguda, mastocitosis, seminomas, tumores gastrointestinales y carcinomas de ovario y útero; *c-ret*, que codifica uno de los componentes del receptor para el factor neurotrófico derivado de la glía o GDNF y se encuentra activado en las neoplasias múltiples endocrinas, carcinomas medulares familiares de tiroides (FMTC) y carcinomas papilares esporádicos de tiroides (PTC).

Ras Entre los oncogenes que codifican proteínas citoplasmáticas que traducen señales mitogénicas encontramos la superfamilia Ras. Esta superfamilia codifica para un grupo de proteínas monoméricas de bajo peso molecular con actividad GTPasa. En humanos hay más de cien miembros y se pueden clasificar en seis subfamilias Ras, Rho, Arf, Rab, Ran, y Rad e intervienen en procesos de transmisión de señales en los procesos de control del ciclo celular y apoptosis, regulación de citoesqueleto y transporte membranal. Las proteínas Ras unen GTP (estado activo, normalmente asociadas a membrana e interacciona con sus moléculas efectoras) o GDP (estado inactivo) y poseen actividad intrínseca de GTP

hidrolasa y una mayor afinidad por GTP. Este ciclo es regulado por activadores (GAPs) que aumentan la hidrólisis de GTP y factores de intercambio de guanina (GEFs) que estimula el cambio de GDP por GTP. Los miembros de las familias Rho, Rab y Ran también son regulados por inhibidores de la disociación de GDP (GDIs).

Rho Familia Rho: Su implicación en cáncer es bastante reciente. Sus mutaciones son muy raras pero su sobreexpresión es bastante común. RhoA se sobreexpresa en carcinomas de cuello, cabeza, pulmón, colón y mama. La sobreexpresión de RhoC se ha encontrado en carcinoma de mama y páncreas. Otros miembros de esta familia también están sobreexpresados en cáncer de mama como Rac1 y cdc42. Una desregulación de la activación de los miembros de esta familia puede contribuir a la progresión del cáncer. Algunos rhoGEF poseen propiedades transformantes y otros actúan como supresores de tumores, como es el caso p190 rho GAP.

Jun y Fos Los oncogenes jun y fos fueron descubiertos en retrovirus animales: el virus del sarcoma aviar 17 (ASV-17) y dos virus que producen osteosarcomas en ratones (Finkel-Biskis-Jenkins o FBJ y Finkel-Biskis-Reilly o FBR) respectivamente. c-jun pertenece a la familia jun junto a junB y junD, y c-fos a la familia fos con fosB, fra-1 y fra-2. Las proteínas poseen homologías estructurales. Tienen dos dominios: uno responsable de activar la transcripción, y otro de unión al ADN que contiene una región rica en leucinas que forma una cremallera necesaria para la dimerización. La actividad biológica de c-jun está regulada por fosforilación por la enzima jun-quinasa JNK (SAPK), que es activada por distintos factores como citoquinas y estrés. Otras quinasas que regulan c-jun son la casein-quinasa II (CSII) que la inhibe y PKC que la activa. La expresión c-fos está regulada transcripcionalmente por el elemento de respuesta al suero (SRE) al que se unen los factores de transcripción ELK-1, que se activa por ERK1 (vía) y JNK (vía de estrés celular), y por el factor SRF (serum response e factor) activado por ERK-1 y 2, AMPc y calcio. La actividad biológica de c-jun reside en procesos de proliferación celular, tumorigénesis, apoptosis y morfogénesis embrionaria. v-erbA El oncogén nuclear v-erbA causa eritroleucemias y sarcomas en aves y hepatocarcinomas en ratones transgénicos. No posee gran actividad transformante por sí solo, pero potencia la actividad oncogénica de v-erbB. Es una forma mutada de un receptor

nuclear de alta afinidad de las hormonas tiroideas TR β 1/c-erbA, que actúa como represor constitutivo de los genes regulados por T3. En los últimos años se han descrito numerosas alteraciones, como mutaciones y expresión anómala en los genes de los receptores de las hormonas tiroideas^{11,12}. En cáncer de mama, se ha considerado al receptor de hormonas tiroideas como marcador e incluso como diana terapéutica tanto a los receptores de estrógenos como a los de progesterona. Algunos autores han descrito casos de hipermetilación del promotor con su consecuente reducida expresión de transcritos de TR β 1, y sugieren que este proceso ocurre en los primeros estadios del tumor. También se han descrito alteraciones a nivel del ARNm de TR β 1 y TR β 2, además de la aparición de transcritos anormales de TR β 1. En otros cánceres, como el de hígado, hay una mayor expresión de TR β 1, formas truncadas de β 1 y β 2; mutaciones puntuales, todas estas proteínas mutantes son dominantes negativos de la actividad normal de la forma silvestre. En cáncer de tiroides los niveles de ARNm TR β 2 son menores mientras que los niveles de las proteínas son mayores, aunque la mayoría son formas mutantes. En otros cánceres, como colon, hay una reducción o pérdida total del ARNm de TR β pero no deleción a nivel de ADN. Varios estudios han propuesto que estos genes pueden funcionar como genes supresores de tumores ya que las formas mutantes pueden alterar otras rutas de señalización de control celular como en la expresión de ciclina D1, interacción con p53¹³.

MYC: El oncogén c-myc, que codifica para un factor de transcripción, pertenece a la familia de los genes myc que incluye su homólogo v-myc, N-myc y L-myc. En un gran número de cánceres humanos se ha visto una expresión anormal asociada a tumores poco diferenciados y muy agresivos. c-myc se expresa durante la embriogénesis y en tejidos con alta capacidad proliferativa. Su actividad está controlada por distintos agentes externos como factores de crecimiento, mitógenos y β -catenina, que lo activan, o factores como TGF β que lo inhibe. Su actividad es debida a que activa o reprime genes implicados en ciclo celular. c-myc aumenta la expresión de CCND2 (ciclina D2) y CDK4, las cuales son secuestradas por el inhibidor de quinasa p27KIP1 degradable por Cul-1 y CKS, también dianas de myc.

De este modo evita la unión de p27KIP1 al complejo cdk2-ciclinaE y éste fosforila retinoblastoma (Rb) y se liberan los factores de transcripción E2F.

También c-myc reprime los inhibidores de ciclinas p15 y p21 a través de la interacción de los heterodímero myc-max con otros factores de transcripción MIZ-1 y SP1. También myc es importante en procesos de diferenciación y apoptosis. La activación oncogénica de c-myc causa aumento de la proliferación, pero la transformación celular requiere otras lesiones oncogénicas. Los tres genes c-myc, N-myc y L-myc son frecuentemente sobreexpresados en una gran variedad de tumores. A veces se sobreexpresan por amplificación como en los neuroblastomas, carcinomas microcíticos de pulmón, carcinomas de mama, estomago, pulmón y colón, o por translocaciones como ocurre en el 100% de los linfomas de Burkitt.

GENES SUPRESORES DE TUMORES

La pérdida de función de los genes supresores de tumores es crucial para la transformación celular. Estos genes controlan la proliferación celular principalmente a nivel de ciclo celular y de la reparación del ADN. Entre ellos encontramos genes tan importantes como Rb, p53, p16, APC, BRCA1 y 2.

Rb (gen supresor de susceptibilidad al retinoblastoma) El retinoblastoma es un tumor de las células nerviosas de la retina embrionaria que aparece en humanos antes de los cinco años de edad. Su origen puede ser hereditario o esporádico. Los pacientes con origen hereditario han heredado una mutación por línea germinal, preexistente en algún progenitor o que aparece durante la gametogénesis. Esta mutación les hace más susceptibles a contraer la enfermedad, tras adquirir una segunda mutación por vía somática. La enfermedad de aparición esporádica es menos frecuente y de aparición más tardía ya que se requiere la acumulación de dos mutaciones por vía somática. El gen que confiere la susceptibilidad a contraer esta enfermedad fue localizado en la banda q14 de la rama larga del cromosoma 13 y presenta un carácter recesivo. El producto de expresión de este gen es una proteína de 105 kDa de peso molecular que se conoce con las siglas Rb 11. La ausencia total de dicha proteína o la presencia de una proteína mutada sin actividad biológica provoca la aparición de retinoblastoma

pero además está implicada en muchos procesos no retinianos como en los tumores microcíticos de pulmón, carcinoma de mama, vejiga y próstata. Rb inhibe la proliferación celular. El mecanismo por el cuál ejerce su función consiste en reprimir los genes que se requieren para la síntesis de factores de transcripción E2F. La inactivación de Rb es necesaria para la proliferación celular.

Hay cuatro mecanismos de inactivación:

- 1) inactivación genética.
- 2) oncoproteínas virales como el antígeno T del SV40, E1A de adenovirus y E7 de papiloma virus secuestran el Rb impidiendo su función.
- 3) inactivación por fosforilación por proteínas quinasa dependientes de ciclinas durante el ciclo celular y una vez fosforilado impide la asociación con E2F.
- 4) degradación por caspasas en respuesta a estímulos apoptóticos¹².

La sobreexpresión de Rb produce paro en fase G1 en ciclo celular lo que indica que actúa como inhibidor de proliferación. Además de su papel en ciclo celular está implicado en la regulación de otros procesos celulares como replicación de ADN, diferenciación y apoptosis p53 Es otro gen supresor de tumores muy importante ya que está mutado en más de la mitad de los tumores humanos. Se considera como el guardián del genoma. Las mutaciones de p53 en cada tipo de cáncer son diferentes, pueden ser deleciones totales o parciales o mutaciones puntuales. Las formas mutantes de p53 se sobreexpresan en las células tumorales, pero son inactivas. La proteína p53 es un factor de transcripción que controla la expresión de genes cuyos productos median parada del ciclo celular o inducción de apoptosis^{13,14}. Este gen se desarrolla con más profundidad en el capítulo de Oncogenes y Genes Supresores.

APC: El análisis genético de las familias FAP (poliposis adenomatosa familiar) llevó a la identificación del gen APC y estudios posteriores demostraron su interacción con β -catenina, lo que señala su implicación en la vía de señalización de Wnt¹⁵. Es una proteína de 312 kDa de peso molecular que forma homodímeros y presenta

diversas funciones en procesos de migración y adhesión celular, regulación del ciclo celular y inestabilidad genómica. Su papel como gen supresor de tumores reside en el hecho de que actúa como un regulador negativo de la vía Wnt ya que controla el nivel intracelular de β -catenina. El gen está localizado en el cromosoma 5q y se encuentra mutado en el 85% de los cánceres colorrectales humanos, lo que indica su papel crítico en la carcinogénesis. Además de su función principal, que consiste en formar complejos de degradación de β -catenina junto a axina y la enzima serina-treonín quinasa GSK3 β que hacen susceptible a β -catenina a la degradación por proteosoma, APC es importante en la regulación del transporte de β -catenina del núcleo al citoplasma para su destrucción. En ausencia de señal de la vía Wnt las células regulan los niveles de β -catenina por la formación de dicho complejo que fosforila β -catenina preparándola para su ubiquitinación y degradación. Cuando existe un ligando Wnt que activa dicha vía, ocurren una serie de eventos intracelulares que finalmente el ADN a través de su interacción con los desestabilizan el complejo β -catenina/APC/ GSK3/axina, β -catenina no fosforilada se transloca al núcleo y actúa como coactivador de los factores de transcripción de TCF/LEF (T-cell factor/limphoid enhancing factor) favoreciendo la transcripción de genes que regulan la proliferación celular. Así pues alteraciones en la vía Wnt afectan a procesos de proliferación y diferenciación celular y, por tanto, prueban su implicación en los procesos de carcinogénesis humana, sobre todo a nivel colorrectal¹⁴. Hay mutaciones inactivantes monoalélicas hereditarias de carácter autosómico dominante en APC en pacientes con FAP que poseen una predisposición al desarrollo de adenomas en colon. Es un típico supresor de tumores, por tanto, los dos alelos deben estar afectados. La mayoría de los casos descritos presentan un alelo con mutaciones, que dan lugar a proteínas truncadas, y otro con pérdidas de heterogigosidad u otras mutaciones.

BRCA 1 y 2 : Aproximadamente el 10% de todos los casos de cáncer de mama tienen un componente familiar. Numerosos estudios han conseguido identificar las bases moleculares de dicho aspecto con la clonación de los dos genes BRCA 1 y 2 (breast-cancer-susceptibility genes), cuya delección es responsable de más de un 60% de los casos familiares, y corresponde a un 5% de los todos los casos. Estos

genes se caracterizan por tener herencia autosómica dominante, alta penetrancia y baja frecuencia. Mutaciones en BRCA1 o 2 no están solamente asociados con un aumento del riesgo del cáncer, sino que también incrementan la susceptibilidad a cánceres de ovario, próstata, páncreas, y mama en hombres. BRCA 1 y BRCA2 tienen secuencias muy diferentes. BRCA1 es una proteína de 1863 residuos, con un extremo amino-terminal implicado en interacciones proteína-proteína, un dominio C-terminal (BRCT) que contiene 95 aminoácidos que se encuentran en proteínas implicadas en reparación del ADN. Estudios cristalográficos de la estructura de esta proteína muestran que las mutaciones asociadas con tumores en BRCA1 afectarían a la estabilidad o conformación del dominio BRCT o alterarían el dominio de dimerización. El gen BRCA2 de 3418 residuos tiene 8 repeticiones de 30-40 residuos (BRC) cuya función es la unión de BRCA2 a la proteína RAD51 que es esencial para los procesos de reparación del ADN y recombinación genética¹⁵. Ratones deficientes para cada una de ellas presentan una mayor sensibilidad a genotoxinas lo que indica su implicación en las respuestas celulares al daño del ADN. A pesar de que no presentan ninguna similitud en la secuencia hay muchas evidencias que demuestran que poseen funciones biológicas comunes, tales como la presencia del mismo patrón de expresión y la misma localización celular. De hecho, los niveles de expresión de ambas son más elevados durante la fase S, durante la cual tiene lugar las funciones de reparación del ADN. Su localización y expresión la comparten con la proteína RAD51, proteína con la que interaccionan físicamente formando complejos.

MECANISMOS DE REPARACION DEL ADN Y CANCER:

Mecanismos de reparación del ADN: El ADN genómico de todos los organismos está constantemente sometido a la acción de agentes exógenos y endógenos que provocan modificaciones en el mismo. Además, algunas vías del metabolismo del ADN, como es el proceso de replicación, también provocan alteraciones en su estructura debido a la introducción de errores durante la síntesis de las nuevas cadenas. Por otro lado, resulta esencial el mantenimiento de

la integridad del genoma, con objeto de que éste se transmita sin alteraciones entre las distintas generaciones. Por ello, las células superiores disponen de distintos sistemas de reparación, cuya actuación está encaminada básicamente al mantenimiento de la integridad del ADN. Entre estos sistemas de reparación cabe citar los siguientes: mecanismos de reparación por escisión de bases (Base Escisión Repair o BER), mecanismos de reparación por escisión de nucleótidos (Nucleotide Escision Repair o NER), mecanismos de reparación de errores de replicación (MisMatch Repair System o MMR), y mecanismos de reparación por recombinación.

Parece lógico pensar que cualquier alteración en las proteínas que intervienen en el correcto funcionamiento de los sistemas de reparación citados, tendría que conducir a un incremento en la frecuencia de mutaciones en el ADN y, por tanto, estaría íntimamente relacionada con el cáncer. Sin embargo, únicamente algunos genes codificantes de proteínas reparadoras del ADN se han encontrado mutados en el cáncer. Entre estos destacan aquellos que codifican para las proteínas del sistema MMR.

Sistema MMR y Cáncer: El correcto funcionamiento del sistema de reparación de errores de replicación, o de apareamientos incorrectos, es crítico para el mantenimiento de la integridad del genoma. Este sistema actúa a través de proteínas que, en un primer paso, se encargan de reconocer las distorsiones originadas en la estructura del ADN como consecuencia de la existencia de apareamientos incorrectos de bases. Seguidamente, proceden a la eliminación de la zona de ADN dañada y promueven la nueva síntesis de la misma. Por tanto, las alteraciones que afectan a las proteínas del sistema MMR (proteínas "Mut") conducen a un acúmulo de mutaciones en el ADN¹⁶. Este hecho ocasiona lo que ha dado en denominarse "Fenotipo Mutador". En humanos, las alteraciones en el sistema MMR se detectaron por primera vez en 1993, en tumores de colon, endometrio, ovario y otros órganos relacionados con el Síndrome del Cáncer de colon hereditario sin poliposis (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer o HNPCC). El estudio de estos tumores reveló que sus células tienen un elevado número de mutaciones y presentan, además, una gran inestabilidad en los

microsatélites o secuencias cortas repetidas que se localizan a lo largo de todo el genoma. Si bien los microsatélites no son genes, sus alteraciones implican que los genes en los que se encuentran están sufriendo mutaciones. Sin embargo, se ha observado que la inestabilidad de microsatélites en células de cánceres humanos se asocia a alteraciones en ciertos genes codificantes para las proteínas que reparan los errores ocurridos durante la replicación del ADN. Son los genes MMR y se ha calculado que estos genes proporcionan al genoma humano un nivel de protección de 100 a 1000 veces frente a la aparición de mutaciones durante la replicación del ADN.

Además del ya mencionado síndrome HNPCC, el modelo tumorigénico del fenotipo mutador se ha demostrado en otros tipos de cánceres humanos, entre los que cabe destacar el cáncer de colon esporádico. Aproximadamente entre 12-15% de estos últimos cursan por la vía carcinogénica del fenotipo mutador y también en estos la inestabilidad en microsatélites puede considerarse un indicador de alta tasa de mutación génica. Entre los genes del sistema MMR implicados, hasta la fecha, en el desarrollo de tumores humanos a través de la vía del fenotipo mutador cabe destacar a hMSH2, hMLH1, hMSH6, hPMS1 y hPMS2.

A pesar de que la posibilidad de que todos los casos con fenotipo mutador sean consecuencia de mutaciones en los genes MMR no está confirmada, lo cierto es que la presencia de estas alteraciones incrementa la tasa de mutaciones en todo el genoma y, serían responsables del desarrollo tumoral cuando estas alteraciones afectan a secuencias directamente relacionadas con la proliferación celular. Por tanto, el proceso puede iniciarse con la mutación de algún gen MMR, lo cual aumentaría enormemente la frecuencia de mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores, favoreciéndose la adquisición del fenotipo canceroso. Si bien el mecanismo molecular permanece hoy día sin dilucidar completamente, lo cierto es que estos tumores confieren una menor agresividad y los pacientes afectados presentan un pronóstico claramente más favorable.

1.2.3. TECNICAS DE DIAGNOSTICO MOLECULAR

Las técnicas de Diagnóstico Molecular, que comprenden el estudio y análisis de las moléculas de la herencia, los ácidos nucleicos ADN y ARN, desempeñan un papel cada vez más importante en el diagnóstico en Medicina.

Los ácidos nucleicos son el ADN o ácido desoxirribonucleico y el ARN o ácido ribonucleico, del que hay a su vez tres tipos: ARN ribosómico (ARNr), ARN de transferencia (ARNt) y ARN mensajero (ARNm).

La especie humana tiene 23 pares de cromosomas, orgánulos en los que se empaqueta el ADN en el núcleo de las células, aunque también hay ADN en las mitocondrias.

En el ADN genómico nuclear se encuentran los genes (unos 22-25.000 en la especie humana), que a su vez presentan intrones y exones, siendo estos últimos los fragmentos codificantes.

El ARN mensajero resulta de la transcripción de esos exones y, a su vez, se traduce en proteínas, moléculas que finalmente realizarán su función tanto en la célula como en el organismo, tanto de tipo estructural como funcional y metabólico.

El ADN genómico está en todas las células nucleadas del organismo, por el contrario el ARN mensajero se encuentra sólo en las células en las que ese gen se expresa. Por ello, al realizar un diagnóstico estudiando el ADN, se obtendrá información de las características estructurales de un gen (por ejemplo si existe o no una mutación) pero no de cómo esa mutación está implicada en el trastorno celular.

El estudio del ARN mensajero nos indicará en cambio una información más funcional de la célula, o sea, nos permitirá saber cómo influye en la producción de proteína, y de esta forma, veremos las consecuencias de una mutación, es decir, los cambios en la cantidad o tamaño del ARN y consecuentemente de la proteína. Para trabajar en Diagnóstico Molecular, el ARNm se puede transformar en el laboratorio en otra muestra que es el ADN complementario (ADNc). Se trata de una molécula que se produce In Vitro, utilizando una reacción de retrotranscripción a partir del ARN mensajero. Como el ADNc deriva del ARNm su estructura estará formada

solamente por exones del gen, sin intrones.

En un laboratorio de Diagnóstico molecular, no sólo es importante conocer en cada caso cuál es la molécula de elección, sino también cuál es la muestra biológica más adecuada para obtener esa molécula. En el caso del cáncer hereditario, si lo que queremos por ejemplo es averiguar si en un paciente hay mutaciones germinales (aquellas que están en todas las células y se transmiten a la generación siguiente), una simple muestra de sangre nos bastará para el diagnóstico, esté donde esté el tumor. En cambio, las mutaciones somáticas (aquellas que aparecen de novo en un individuo y que sólo están en algún tipo celular del mismo) generalmente no se transmiten (salvo que el tipo celular en el que se hayan producido de novo sean los gametos) porque la única manera de estudiarlas es tomando la muestra del tejido afectado.

En la práctica diaria, los genetistas y expertos en el laboratorio de Diagnóstico molecular deben indicar a los clínicos en cada caso, cuál es la muestra que se necesita, para qué, en qué condiciones las tienen que enviar y qué técnicas se van a realizar con ellas^{17,18}

Desde que se conoció la longitud del ADN (6×10^9 pares de bases en unos 2 m de longitud por célula), se supo que para analizar esta molécula, se tenía que solventar de alguna manera su tremenda longitud. Además, se sabe hoy día que sólo una parte muy pequeña es codificante: se estima que alrededor del 1% del ADN corresponde a los aproximadamente 25.000 genes existentes, y todo ello se encuentra “junto y revuelto” en esa “sopa” que es la suspensión del ADN una vez extraído.

Para individualizar los genes, desde el principio fue evidente que sólo se podría hacer estudiándolos por fragmentos. El primer paso se dio gracias al descubrimiento, a principios de los años 70, de unos enzimas que actúan como “tijeras” cortando el ADN: las endonucleasas de restricción. Pronto se descubrió que los fragmentos resultantes se podían estudiar por medio de sondas, describiéndose una técnica fundamental todavía en uso: El Southern Blot. Quince años más tarde, otro hallazgo de vital importancia fue el descubrimiento de otro enzima: la Taq polimerasa, que esta vez, lo que permitía era amplificar “In Vitro”

fragmentos muy concretos. Con ella llegó la técnica que “revolucionó” los estudios genéticos, la Reacción en cadena de la Polimerasa o PCR. Estas dos familias de enzimas son auténticas herramientas en la Biología molecular, como lo son también las electroforesis, las sondas, etc..., gracias a las cuales es posible hoy día realizar todas las técnicas diagnósticas disponibles.

Para cambios de una o unas pocas bases, la secuenciación es considerada como la técnica última, la definitiva (Gold Standard), aquella por la cual se sabe exactamente si un fragmento está o no alterado y qué cambio lleva. Aunque utilizada en algunos laboratorios como método directo de búsqueda de mutaciones, no es norma general, debido a su alto coste y al equipamiento que requiere. Por ello se recurre a la secuenciación sólo en aquellos casos en los que se ha visto, mediante cualquiera de las técnicas previamente explicadas, que hay una alteración en la secuencia.

La técnica utilizada hoy día se basa en la ideada por el equipo de Sanger y colaboradores en el año 1977¹⁹ utilizando ADN polimerasa y los terminadores de cadenas llamados didesoxinucleótidos. Se trata de una síntesis enzimática que, por acción de una ADN polimerasa y a partir de un primer u oligonucleótido cebador de secuencia complementaria a la molécula del ADN a estudio y convenientemente marcado, va incorporando al extremo 3' de la cadena en crecimiento dNTPs (2'-desoxinucleótidos) y ddNTPs (2',3'-didesoxinucleótidos) que se encuentran juntos en la mezcla de reacción. Los ddNTPs difieren de los dNTPs en que les falta el grupo hidroxilo del carbono 3' del azúcar, de manera que su incorporación evita la formación del enlace fosfodiéster entre la cadena en crecimiento y el siguiente nucleótido a incorporar, y esto consigue que no se incorporen más nucleótidos por lo que la cadena que se está sintetizando se detiene. Con ello, se generan al azar fragmentos de ADN de todos los tamaños de forma controlada en posiciones específicas. Con el gran desarrollo tecnológico que ha habido en los últimos años, las técnicas de secuenciación han mejorado sensiblemente y se han automatizado. Hoy día, las reacciones de secuencia se llevan a cabo en termocicladores y la separación de los fragmentos generados se realiza en un secuenciador automático. La utilización de termocicladores permite controlar las temperaturas automáticamente y poder repetir los ciclos tantas veces como sea necesario, a

diferencia del método original en el que solo se realizaba un ciclo. De esta manera se obtiene una elevada sensibilidad al ser necesaria una menor cantidad de ADN. Otra ventaja importante es que se puede llevar a cabo la secuenciación directa a partir de los productos de PCR del fragmento a estudio, mientras que las primeras moléculas secuenciadas con la técnica de Sanger eran a partir de productos clonados cuya obtención era muy costosa y laboriosa. Otra mejora importante con respecto al método inicial ha sido la referente al tipo y forma de marcaje de los oligonucleótidos ya que al principio, había que trabajar con radiactividad y con cuatro tubos diferentes. Hoy día se utiliza el llamado método de secuenciación de terminadores marcados, en el que se marcan los cuatro ddNTPs con una molécula fluorescente –fluorocromo- diferente cada uno, por lo que la reacción se realiza en un único tubo. Los fragmentos obtenidos se identifican por el último nucleótido de cada fragmento gracias al tipo de molécula fluorescente que tiene ligada. Además, en el mismo secuenciador automático se realiza la separación electroforética de los fragmentos y la detección de los productos. Los secuenciadores contienen un láser que excitan las moléculas fluorescentes en una longitud de onda y la fluorescencia es detectada por una cámara de detección. Los datos obtenidos por esta cámara son transmitidos a un software adecuado que los interpreta y les asigna el nucleótido. Con ello, los resultados se muestran en forma de electroferogramas que presentan a los fragmentos de ADN marcados en forma de picos en el eje de las “Y”, con el tiempo de la electroforesis en el eje de las “X”. Cada pico es identificado según el fluorocromo usado para los cuatro nucleótidos: A, T, G, o C.

Concluyendo, podría resumirlo en los siguientes puntos:

- Las técnicas de Diagnóstico molecular del Cáncer hereditario se realizan a partir de muestras biológicas del paciente con cáncer, pudiéndose también estudiar a sus familiares asintomáticos.
- Los estudios han de partir preferiblemente de sangre periférica, aunque también puede ser útil el estudio de muestra tumoral. En cualquier caso, es importante que el clínico consulte siempre al laboratorio las condiciones de la toma de muestra pues de ella se puede obtener tanto ADN como ARN.
- Las técnicas de análisis del material Genético se basan desde hace unos 30

años en una serie de “herramientas”, -como son las enzimas (de restricción, polimerasas, etc.) y las sondas-, con las que se realizan toda una serie de reacciones (PCR, Southern, hibridaciones, marcajes diversos, etc.).

- Las técnicas de detección de mutaciones son hoy día muy diversas, pero en cualquier caso, lo más importante es utilizar en cada laboratorio aquellas que den una mayor sensibilidad en un cribado inicial, para posteriormente secuenciar y determinar exactamente el cambio en el ADN.
- Para los reordenamientos más complejos, novedosas y prometedoras técnicas como el MLPA y los microarrays están logrando descubrir hoy día nuevos y diferentes tipos de mutaciones responsables de la producción de cánceres hereditarios. y se están implantando con rapidez en los laboratorios.

1.2.4. GENES DE BAJA PENETRANCIA Y CANCER COMO FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD EN EL CANCER ESPORÁDICO.

Hasta finales del XX, la investigación sobre los factores causantes de la susceptibilidad heredada a padecer cáncer, estuvo centrada en la identificación de genes de alta penetrancia o alta susceptibilidad. Mutaciones germinales en estos genes, dan lugar a un patrón de herencia mendeliano, en el que la susceptibilidad a desarrollar la enfermedad se transmite, en general, de forma autosómica dominante, aunque también existen síndromes que presentan un patrón de herencia recesivo²⁰. Ejemplos clásicos de genes de alta penetrancia son BRCA1 y BRCA2, implicados en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario^{21,22}, el gen APC²³ implicado en el cáncer de colon polipósico familiar, MLH1 y MSH2^{24,25} asociados al cáncer de colon no polipósico y muchos otros, ampliamente revisados en otros capítulos de esta publicación. La frecuencia de las mutaciones en estos genes es muy baja en la población general, sin embargo, estos que podemos considerar como claramente hereditarios, globalmente tan sólo representan el 1% de los casos de cáncer, que la mayor parte de las veces aparecen de forma esporádica. Esta mayoría de cánceres, presenta también un componente

hereditario que reside en los genes de baja penetrancia.

A diferencia de los anteriores, las variantes en los genes de baja penetrancia son comunes en la población general (frecuencia >0.05) y el riesgo que confieren a padecer la enfermedad es bajo (incremento del riesgo menor a 1.5 veces el poblacional). A nivel individual, cada variante modificaría muy poco el riesgo, pero en unión con otros factores, tanto genéticos como ambientales, serían responsables de las diferencias en la susceptibilidad a padecer cáncer que existen entre los individuos de la población general.

Actualmente se piensa que existen muchas de estas variantes, que aparecen en diferentes combinaciones en los distintos individuos de la población general, dando lugar a un rango de susceptibilidades que provocaría las diferencias interindividuales a padecer cáncer.

La identificación de estas variantes, así como las interacciones que existen entre los riesgos asociados a las mismas cuando aparecen en un mismo individuo, entraña numerosas dificultades y es un campo en el que queda mucho por explorar. Sin embargo, en los últimos dos años, se ha producido un gran avance en el descubrimiento de algunas de estas variantes a través de los estudios de asociación de genoma completo, conocidos comúnmente como GWAS (Genome Wide Association Studies).

EL MODELO POLIGÉNICO EN LOS PATRONES DE CÁNCER HEREDITARIO. EL CÁNCER DE MAMA COMO MODELO.

En la mayoría de los síndromes de cáncer hereditario, existe un porcentaje de los casos que no se explican por mutaciones en los genes de alta penetrancia conocidos. El síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario, CMOH, es uno de los más llamativos en este sentido, ya que en general, se considera que tan solo entre un 20-25% de los casos de alto riesgo se explican por mutaciones en BRCA1 o BRCA2 .

Esto significa que en la mayoría de los casos, el exceso de riesgo familiar que se observa no tiene una causa genética conocida. A pesar de que se han llevado a cabo varios estudios de ligamiento^{26,27}, no se ha identificado ningún otro gen de alto riesgo específicamente implicado en el síndrome^{28,29}, desde que se descubrieran

BRCA1 y BRCA2 hace ya 15 años³⁰.

Esto ha llevado a la aceptación del modelo poligénico³¹, que explicaría la mayoría del exceso de riesgo familiar observado, por la combinación de variantes de riesgo bajo o moderado que se acumularían en estas familias y serían responsables de la susceptibilidad observada.

Por lo tanto, podemos afirmar que los genes de baja o moderada penetrancia, estarían implicados, no solo en la susceptibilidad genética a desarrollar cáncer de mama esporádico, sino que su acumulación y combinación, también podría dar explicación a muchos de los patrones familiares que se observan.

1.3. DETECCION E IDENTIFICACION DE SINDROMES HEREDITARIOS DE SUSCEPTIBILIDAD AL CANCER.

La primera pregunta que nos planteamos ante un individuo que consulta porque ha tenido cáncer al igual que otros miembros de su familia, si puede estar ante un posible caso de cáncer hereditario. Se han descrito unos 200 síndromes de predisposición al cáncer (SPC). Lo importante es reconocer aquellas circunstancias que caracterizan al cáncer hereditario. El cáncer es una enfermedad frecuente y la mayoría de especialistas trataran en uno u otro momento con pacientes y familias afectadas. Es importante por tanto, identificar un posible caso de cáncer hereditario y poner en marcha el proceso de consejo genético, cuyo objetivo final es reducir el impacto que en estas familias tiene el cáncer.

El término síndrome se utiliza para referirse a un conjunto de alteraciones o síntomas que están patogénicamente relacionados, en el que puede o no conocerse la causa. Hablamos de síndrome cuando identificamos un conjunto de características aisladas, y que asumimos tienen una base común³².

El término espectro fenotípico se refiere al total de alteraciones o signos que pueden observarse en un síndrome y a su frecuencia en la población con el síndrome. Distinguir si un determinado signo o alteración es parte de un síndrome puede no ser sencillo. En general, si su frecuencia en la población de personas con el síndrome es superior a su frecuencia en la población control o general, puede considerarse como parte del síndrome.

En los síndromes de predisposición al cáncer, el cáncer suele ser la alteración fenotípica más severa y, en muchos casos, la más característica del síndrome. En algunos síndromes el cáncer es la única manifestación fenotípica, como en el Li Fraumeni, en el Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (el síndrome de predisposición al cáncer más frecuente), o en el Cáncer Gástrico Difuso Hereditario.

En otros síndromes se observa un conjunto de tumores benignos y malignos afectando a diferentes órganos o tejidos, como ocurre en el síndrome de von Hippel Lindau, o en la Neurofibromatosis.

En un tercer tipo de SPCs, el cáncer es un signo más, dentro de un conjunto de manifestaciones fenotípicas complejas, como ocurre en el síndrome de Cowden, en el Peutz Jeghers, o en el síndrome de Rothmund-Thompson. En estos síndromes se observan múltiples defectos del desarrollo, tumores benignos y cánceres.

PREDISPOSICIÓN HEREDITARIA AL CÁNCER:

Aproximadamente un 5-10% de todos los cánceres tiene una base hereditaria³³. Dentro de este 5-10%, se engloban todos los síndromes de predisposición al cáncer. El cáncer hereditario es consecuencia de mutaciones en proto-oncogenes, genes supresores de tumores o genes encargados de la reparación, integridad o estabilidad del ADN. En la mayoría de los casos las mutaciones en estos genes son altamente penetrantes³⁴.

Se suele heredar una copia mutada de uno de estos genes, si bien esta circunstancia no es suficiente para el desarrollo del tumor. El cáncer sólo llegará a manifestarse tras la acumulación de nuevas mutaciones somáticas. Es decir, en la mayoría de los SPCs se hereda la predisposición a desarrollar cáncer de acuerdo a patrones mendelianos.

La mayoría de los Síndromes de predisposición al cáncer son poco frecuentes, y en todos ellos el riesgo para cáncer excede el riesgo poblacional, si bien las cifras de riesgo son muy diferentes de unos a otros. Además, estos síndromes manifiestan una gran variabilidad en su expresividad, de modo que, dentro de una misma familia podemos observar marcadas diferencias en la edad de aparición, el tipo de tumor, su localización, o en la agresividad o tasa de supervivencia. La identificación

de familias con SPCs es clínicamente relevante ya que el riesgo de sus miembros para desarrollar cáncer es muy elevado.

Sin una adecuada historia familiar, muchos SPCs pueden no ser identificados y ser considerados como tumores de carácter esporádico. La historia familiar es sin duda la herramienta más eficaz para determinar la probabilidad de que una determinada familia tenga un SPCs, y para poder llevar a cabo el proceso de asesoramiento genético³⁵.

CARACTERÍSTICAS DEL CÁNCER HEREDITARIO

El cáncer hereditario y, a la postre, los SPCs, presenta una serie de características que lo diferencian del cáncer de ocurrencia esporádica. El cáncer es una enfermedad común. Uno de cada dos varones y una de cada tres mujeres van a desarrollar cáncer a lo largo de su vida en USA³⁶. Esta alta incidencia hace que sea habitual encontrar ocurrencias de tumores en la práctica totalidad de las familias. El 90-95% de todos los tumores van a ser esporádicos, en cuya aparición los factores ambientales van a tener un peso importante (un completo listado de los factores ambientales con efecto carcinogénico conocido o sospechoso, puede encontrarse en el capítulo primero de libro de K. Schneider³⁷).

Sólo un 5-10% de las neoplasias muestran agregación familiar o un marcado carácter hereditario. Reconocer estos casos tiene un enorme interés sanitario ya que a través del asesoramiento genético de las familias puede lograrse una efectiva reducción de la mortalidad por cáncer. En las familias con algún tipo de cáncer hereditario suele observarse alguna o varias de las siguientes características:

- 1.- Alta incidencia de cáncer en la familia. Junto con la edad de aparición, éste suele ser el hecho que más llama la atención y la principal causa de consulta. Suele observarse una agregación de cánceres que va más allá de la mera concurrencia debida al azar.

- 2.- Ocurrencia del mismo tipo de cáncer. Generalmente se observa cómo el mismo

tipo de cáncer (colon, próstata, mama, gástrico o cualquier otro) aparecen en una generación y en la siguiente, de acuerdo a un modelo de herencia autosómica dominante que es la más frecuente en los SPCs. A veces puede observarse una frecuencia anormalmente elevada de tumores en una única generación, cuya explicación podría estar en la existencia en la familia de una posible mutación en un gen autosómico recesivo.

3.- Aparición del cáncer a edad temprana. Suele ser una importante señal de alerta, tanto para pacientes como para profesionales sanitarios. Los SPCs son en su mayoría entidades con expresión en la edad adulta. El cáncer aparece a edades variables aunque es infrecuente observar cánceres congénitos. El cáncer hereditario suele aparecer entre 10-20 años antes de la edad en la que es frecuente ese mismo tipo de cáncer en su forma esporádica. Por ejemplo, la edad media de aparición del cáncer colorrectal esporádico es de 64 años en nuestro medio, mientras que la edad media de aparición del cáncer colorrectal asociado al síndrome de Lynch es de 44 años, es decir, 20 años más joven³⁸. También en nuestro país, la media de aparición del cáncer de mama es de 57-58 años³⁹. Por el contrario, los cánceres de mama asociados a mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 tienen una edad media de aparición de 43 años⁴⁰.

4.- Bilateralidad en el caso de afectación de órganos pares. La bilateralidad es un criterio importante para investigar la heredabilidad de un tumor. Es frecuente observar bilateralidad en los casos hereditarios de retinoblastoma, de cáncer de mama y en los cánceres renales.

5.- Multifocalidad. No es raro observar que los tumores hereditarios se inician de manera independiente en varios focos repartidos por el órgano donde asientan, en vez de aparecer en un único foco. Para considerar que se trata de una multifocalidad asociada a un tumor hereditario sería necesario descartar que se trata de diseminación de un único tumor primario, y demostrar que cada foco constituye un clon independiente.

6.- Aparición de varios cánceres en el mismo individuo. No es frecuente pero, cuando se observa, debe hacer sospechar un cáncer hereditario. En todos los casos va a ser importante determinar si se trata de neoplasias primarias o de recurrencias de un tumor anterior. Sólo cuando se trata de varias neoplasias primarias es más probable que se trate de un síndrome de cáncer hereditario. También tener presente que segundas neoplasias pueden guardar relación con el tratamiento de neoplasias anteriores.

7.- Asociación del cáncer con defectos del desarrollo. Muchos de los síndromes de cáncer hereditario se caracterizan por presentar un fenotipo complejo donde el cáncer es un rasgo más de un fenotipo en el que son comunes defectos del desarrollo mayores y menores. El síndrome de Rothmund-Thompson está caracterizado por una talla pequeña, cataratas juveniles y otros defectos oculares, alteraciones en la erupción de los dientes, defectos por reducción de extremidades, ausencia de rótula, retraso mental en el 10% de los casos, etc. Los pacientes con el síndrome tienen un riesgo incrementado para desarrollar carcinoma basocelular, osteosarcomas o carcinomas de células escamosas⁴¹. Por su parte, el síndrome de Beckwith-Wiedemann se caracteriza por sobrecrecimiento, occipucio prominente, macroglosia, cardiomegalia, hiperplasia pancreática, nefromegalia, edad ósea acelerada, onfalocele, pliegues característicos en los lóbulos de las orejas, y riesgo incrementado para desarrollar tumor de Wilms, carcinoma hepatocelular, hepatoblastoma, carcinoma adrenortical, gonadoblastoma, teratoma gástrico congénito, rabdomiosarcoma o neuroblastoma⁴². Es decir ambos síndromes presentan un amplio espectro fenotípico en el que aparecen múltiples defectos del desarrollo junto al cáncer.

Cuando en una familia se observa alguna o varias de estas características, es conveniente remitirla a una unidad especializada en cáncer hereditario para asesoramiento y realización de pruebas genéticas específicas si procede. La familia podrá conocer los riesgos para cánceres específicos, se podrán establecer las

oportunas medidas de vigilancia y seguimiento y programar aquellas que permitan hacer una prevención primaria de los tumores en los individuos a riesgo. Es decir, la identificación y evaluación de familias con SPCs facilita una efectiva reducción de la mortalidad por cáncer.

1.4. ASESORAMIENTO GENÉTICO COMO HERRAMIENTA EN EL MANEJO DE LAS FAMILIAS CON SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA AL CANCER.

La identificación de mutaciones en ciertos genes asociados a síndromes de predisposición hereditaria al cáncer junto al conocimiento de sus implicaciones clínicas han convertido la realización de ciertos estudios genéticos en una práctica médica habitual. Se trata de un avance hacia la medicina predictiva y preventiva cuya aplicación clínica es compleja y requiere un enfoque multidisciplinar al abarcar distintos aspectos médicos, psicosociales, tecnológicos y éticolegales. El proceso del asesoramiento genético tiene como finalidad reconocer las necesidades médicas, psicológicas, y etnoculturales del individuo y la familia que se realizan un estudio genético. La American Society of Human Genetics⁴³ define el asesoramiento genético como un proceso de comunicación que trata con los problemas asociados con la aparición, o con el riesgo de aparición, de una enfermedad genética en una familia. El proceso del asesoramiento genético requiere la participación de uno o varios profesionales formados en este campo para ayudar al individuo o familia a:

1. Entender los aspectos médicos de la enfermedad o síndrome, incluyendo el diagnóstico, posibles causas, y el manejo médico actual.
2. Diferenciar cómo la herencia puede contribuir a la enfermedad o síndrome y el riesgo de transmisión a familiares.
3. Entender las opciones para enfrentarse al riesgo de transmisión.
4. Escoger la actuación que parece más apropiada en función del riesgo, la dinámica familiar, sus principios éticos y/o religiosos, y actuar de acuerdo a estos principios.
5. Adaptarse de la mejor manera posible a la enfermedad y al riesgo de

transmitirla.

De forma tradicional, el asesoramiento genético se ha definido como un proceso “no directivo”, es decir, destinado a proporcionar suficiente información a los pacientes y sus familiares para la toma de decisiones respecto a la realización de un estudio genético. Para la mayoría de los síndromes de predisposición hereditaria al cáncer, los componentes comunes del proceso del asesoramiento genético incluyen construir y evaluar el árbol genealógico, obtener la historia médica personal y familiar, y proporcionar información sobre el riesgo genético. Si se va a realizar un estudio genético, el proceso incorpora el asesoramiento previo, el estudio, el asesoramiento posterior, y el seguimiento. Este proceso incluye la discusión, la solicitud, y la interpretación clínica de análisis genéticos y requiere una dedicación de tiempo considerable aparte de las visitas para obtener y revisar los informes médicos, hacer diagnósticos diferenciales, búsqueda de grupos de apoyo para los individuos afectados, comunicación con otros especialistas, y documentación de los diagnósticos.

Distintas sociedades científicas y profesionales han publicado guías clínicas sobre los elementos básicos del asesoramiento genético en cáncer basadas en la opinión de expertos. De forma consensuada, coinciden en considerar como individuos candidatos a recibir asesoramiento genético en cáncer a aquellas personas que:

1. Han sido diagnosticadas de cáncer a una edad atípicamente joven
2. Diagnóstico muy inusual (carcinoma adrenocortical en la infancia)
3. Neoplasias múltiples
4. Neoplasias asociadas a defectos congénitos
5. Múltiples miembros de la familia afectados de la misma neoplasia o asociadas.

En algunos casos, el beneficio del asesoramiento no estará vinculado directamente con la realización de un estudio genético sino con informar sobre la estimación de riesgo de cáncer a partir de la historia familiar y posibles medidas de detección precoz y seguimiento para los familiares.

FASES DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO:

Historia personal y familiar:

Uno de los primeros pasos para la valoración del riesgo de cáncer y asesoramiento consiste en la recogida de la historia médica personal y familiar. Obtener y analizar un árbol genealógico es una de las piedras angulares en el asesoramiento genético. Se recomienda recoger información médica de hasta 3 generaciones utilizando la nomenclatura estandarizada e información sobre consanguinidad, adopciones y razas o procedencia de los antecesores⁴⁴.

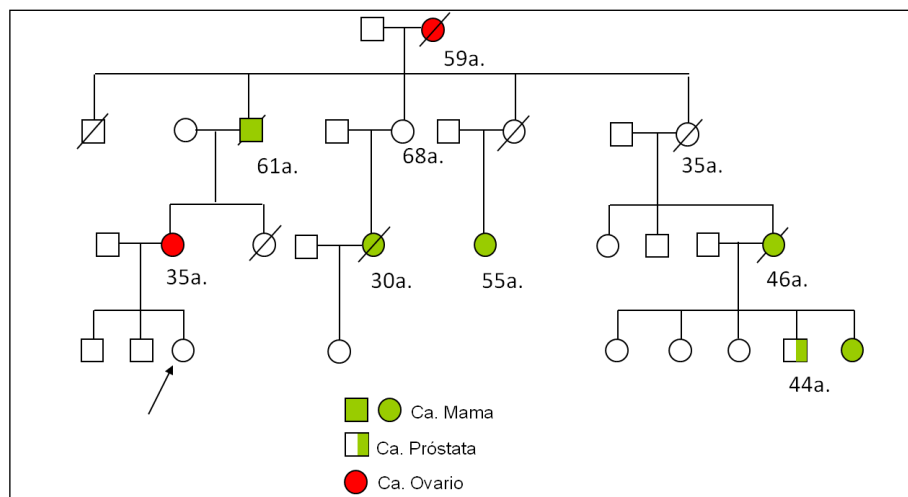


Figura 1. Árbol genealógico de familia con cáncer de mama y ovario.

La información más relevante se obtendrá de los familiares de primer y segundo grado, aunque es recomendable extender el árbol hasta familiares de tercer grado (primos/as, tíos/as abuelos/as...).

Los principales puntos son:

1. Extender el árbol alrededor de cada diagnóstico de cáncer. El objetivo es observar si existe un patrón de transmisión hereditaria de los distintos diagnósticos de cáncer entre los familiares.
2. Confirmación de los diagnósticos. Puede ser especialmente necesario para tumores de la cavidad abdominal, mientras que tumores de mama, próstata, y melanoma suelen ser correctos^{45,46}.
3. Incluir hallazgos no malignos. Algunos de ellos pueden estar asociados a ciertos

síndromes, como los osteomas y quistes epidermoides en la poliposis familiar colónica, o la macrocefalia, triquilemomas y pápulas papilomatosas en el síndrome de Cowden.

4. Considerar los familiares no afectados. La sospecha de un patrón de herencia vendrá determinado por la proporción de familiares afectados/no afectados y evidentemente esta valoración será más difícil en familias pequeñas.
5. Utilizar la construcción del árbol genealógico como una herramienta psicológica. A la vez que se pregunta sobre los antecedentes familiares, se puede ir percibiendo cómo han sido las vivencias de cáncer en la familia, cuál es la percepción del riesgo de desarrollar cáncer, cómo es la dinámica intrafamiliar, y actitudes ante medidas de detección precoz o prevención.

La interpretación del árbol genealógico resultará clave para clasificar a las familias en bajo, moderado y alto riesgo de un síndrome de predisposición hereditaria al cáncer:

1. **Bajo riesgo.** Puede ser que haya varios casos de cáncer en la familia, pero siguen un patrón de presentación equivalente al de la población general y, por lo tanto, poco probable de deberse a una predisposición genética. Las recomendaciones de detección precoz del cáncer serán las mismas que las de la población general.
2. **Moderado riesgo.** Son familias con una agregación moderada de cáncer, sugestiva de un síndrome, pero con algunas características inconsistentes. Puede valorarse un estudio genético del síndrome que se sospecha, a pesar de que la probabilidad de identificar una mutación sea muy baja.
3. **Riesgo alto.** Se clasifican en este grupo aquellas familias con una alta sospecha de una predisposición genética. El estudio genético puede ser una opción para confirmar la sospecha clínica y distinguir individuos portadores de los que no.

Los modelos estadísticos (BRCAPRO, MMRPRO, PREMM ...) estiman la

probabilidad de ser portador o de encontrar una mutación genética patogénica. Pueden ser una ayuda para calcular el riesgo de cáncer hereditario (en cohorte poblacional o previamente seleccionada), y para comunicar dicho riesgo⁴⁷.

Percepción y comunicación del riesgo

Por parte del clínico, es importante valorar los aspectos psicosociales de la persona que busca información genética con el fin de poder apreciar cuáles son los factores que influyen sobre la percepción del riesgo de cáncer y, finalmente, en cómo se va utilizar la información genética⁴⁸. La percepción de riesgo de cáncer que un individuo pueda tener puede ser el factor más importante que determine sus decisiones sobre la adherencia a las recomendaciones de prevención o reducción del riesgo de cáncer. Por este motivo, será importante averiguar esta percepción individual.

Entre la información que se puede recoger para evaluar la percepción de riesgo de cáncer del individuo y los mecanismos para la toma de decisiones se puede destacar:

1. Motivaciones para solicitar asesoramiento genético. Preguntar sobre los objetivos esperados, las motivaciones y las preocupaciones relacionadas con este proceso permite guiar el asesoramiento con el fin de cumplir las necesidades del individuo. En un estudio en el que se compararon las motivaciones y preocupaciones previas al estudio genético de una población a riesgo de cáncer de colon hereditario con las de una población a riesgo de cáncer de mama hereditario se observó que los primeros esperaban más que los segundos que el test genético influyera en su manejo médico y prevención del cáncer. Por otro lado, las personas sanas a riesgo mostraban una mayor preocupación acerca de una potencial discriminación genética que las personas afectas⁴⁹
2. Creencias sobre la etiología del cáncer. Cada individuo y familia puede diferir en sus creencias acerca de porqué se desarrolla el cáncer, alegando motivos ambientales, religiosos, u otros factores, de los cuales dependerá entender una

posible predisposición genética.

3. Factores psicosociales. Identificar las reacciones emocionales ante el riesgo de cáncer, como el miedo, el enfado, o la culpabilidad, ayudarán a prever cómo el individuo o la familia afrontarán la información genética. Niveles elevados de malestar emocional pueden dificultar el proceso de información. Si se sospecha una dificultad en la toma de decisiones o para afrontar este tipo de información puede indicarse una valoración psicológica por un especialista antes de proseguir con el test genético.

Habrá que comunicar dos tipos de riesgo distintos; por un lado, el riesgo de desarrollar cáncer y por otro lado el riesgo de ser portador de una alteración en un gen de predisposición hereditaria al cáncer. En ambos casos, la valoración del árbol genealógico será crucial para determinar estas estimaciones.

El test genético:

Con la excepción de aquellos síndromes en los que la realización del estudio genético puede influir claramente en el manejo médico del individuo mediante una maniobra efectiva en la prevención de un determinado cáncer, el test genético debería ofrecerse como una opción más a considerar en el manejo médico de los individuos. El último consenso publicado de la sociedad americana de oncología clínica (ASCO)⁵⁰ recomienda ofrecer un test genético cuando:

1. El individuo tiene una historia personal o familiar sugestiva de un síndrome de predisposición hereditaria al cáncer.
2. Se pueden interpretar los resultados del estudio genético.
3. Los resultados del estudio genético ayudarán en el diagnóstico o influirán en el manejo médico o quirúrgico del individuo o de sus familiares a riesgo.

Dada la baja prevalencia de mutaciones en la población general actualmente no se considera apropiado utilizar estos tests genéticos en individuos asintomáticos sin

ningún factor de riesgo de una predisposición hereditaria al cáncer.

FASES DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO:

Potenciales beneficios y limitaciones del test:

En general, hay una mayor tendencia a dar más peso a los beneficios potenciales del test genético y no considerar sus posibles limitaciones. El asesoramiento previo al estudio genético es un buen momento para presentar una visión balanceada y puede ser recomendable que el profesional pregunte al individuo sobre los pros y contras que percibe sobre el test genético.

Entre las posibles limitaciones y beneficios hay que destacar:

- 1. Resultado no concluyente o de significado incierto:** es un resultado negativo en ausencia de una mutación conocida en la familia o un resultado del cuál se desconoce su significado patológico. El riesgo de cáncer es el mismo que el valorado previo al estudio genético porque éste no ha resultado informativo. Investigaciones posteriores, sin embargo, pueden ayudar a confirmar el significado patológico o no de las variantes de significado incierto (mutaciones missense, generalmente). En estos casos, puede ser necesario estudiar a otros miembros de la familia con fines de investigación, además de continuar con las recomendaciones de detección precoz de un grupo de alto riesgo y persistir la incertidumbre sobre el riesgo, hecho que puede asociarse a malestar psicológico.
- 2. Resultado positivo en la primera persona estudiada en la familia.** Puede ocasionar preocupación de cómo y cuándo transmitir la información a otros miembros de la familia y cómo afrontar las propias reacciones y las de los demás. Por otro lado, este resultado proporciona una información precisa sobre el riesgo, permite explicar la agregación familiar de cáncer y es una oportunidad para que esta persona pueda informar a otros familiares interesados en clarificar su riesgo (posibilidad de realizar diagnóstico presintomático en el resto de la familia).
- 3. Resultado positivo en una persona sana a riesgo.** Puede ocasionar ansiedad e interferir en las recomendaciones de detección precoz del cáncer, así como un

exceso de preocupación, sensación de culpabilidad ante el riesgo de transmisión a la descendencia, o alterar las relaciones familiares. Sin embargo, también permite que la persona se adhiera a unas medidas de seguimiento más intensivas que permitan una detección precoz o prevención del cáncer, protocolos de quimioprevención o cirugías reductoras de riesgo.

4. Resultado verdadero negativo. En algunos casos, podría ocasionar una negligencia absoluta a cualquier recomendación de detección precoz del cáncer, incluso las recomendadas a la población general y de cuyo riesgo no está exento. También podría ocasionar la llamada culpabilidad de superviviente, prefiriendo ser él/ella la persona portadora en vez de otro familiar cercano. Por el contrario, la persona que sabe que no es portadora puede evitar adherirse a medidas de seguimiento intensivas y sentirse aliviada de que su descendencia no tiene un riesgo incrementado.

Consentimiento informado

Firmar un consentimiento informado por sí solo no constituye el proceso de una elección informada, pero confirma que se ha producido el proceso de asesoramiento apropiado. La Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) aconseja que el consentimiento informado forme parte del proceso de asesoramiento previo al estudio genético. Si se van a realizar estudios con fines de investigación clínica o básica es necesario que los proyectos estén aprobados por el comité de ética correspondiente y se incluya un consentimiento informado específico aparte.

En nuestro ámbito, la Ley de Investigación biomédica de 2007 regula aspectos relativos al consentimiento informado, establece los límites de los estudios genéticos y garantiza la confidencialidad del dato genético⁵¹.

FASES DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO: POSTERIOR AL TEST GENÉTICO

Información de resultados, educación y seguimiento

En la medida de lo posible los resultados deberían comunicarse en persona y dedicar una visita para ello. De esta forma, se pueden ofrecer explicaciones sobre el resultado obtenido, evaluar el impacto emocional, y proporcionar las recomendaciones médicas ajustadas al resultado obtenido. Debido a que las estimaciones de riesgo de cáncer pueden variar a partir de resultados de estudios realizados a largo plazo, y debido a que la interpretación de los resultados genéticos puede también modificarse con el tiempo (por ejemplo, reclasificación de una mutación de significado incierto en una mutación patológica) es recomendable establecer un sistema de registro que permita recontactar a los individuos o familias visitadas recientemente. El seguimiento post estudio genético permite asegurar que ha habido una correcta comprensión e interpretación del resultado del estudio genético, especialmente en el caso de un resultado negativo en una familia sin mutación identificada.

Por otro lado, en el caso de identificarse una mutación, el seguimiento posterior puede facilitar el proceso de comunicación de los resultados a otros familiares a riesgo que puedan beneficiarse de un estudio. A pesar de que empieza a disponerse de resultados a medio plazo de la eficacia del asesoramiento y estudio genéticos, sería útil desarrollar estudios que evaluaran las barreras al cumplimiento de las recomendaciones y la transmisión de la información a otros familiares a riesgo respetando la confidencialidad y autonomía de cada individuo.

1.4.1. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES.

La información genética tiene una serie de características que la hacen objeto de una especial protección. En sentido estricto los datos genéticos no difieren de otros tipos de información médica y forman parte del espectro completo de la

información sanitaria. Para algunos, el denominado “excepcionalismo” genético es incorrecto y todos los datos médicos, incluidos los genéticos, merecen los mismos niveles de confidencialidad⁵². Pero es evidente que la percepción social no es esta, quizás debido a razones históricas y al hecho que todavía existe incerteza sobre las consecuencias de dicha información (especialmente en la predicción de enfermedades como el cáncer) para el individuo y sus familiares. Por este motivo se están elaborando directivas, recomendaciones, textos normativos y leyes específicamente aplicables a los test genéticos y al tratamiento de estos datos^{53,54}

El artículo 4 de la Declaración Internacional de la UNESCO sobre los datos genéticos humanos se refiere precisamente a la singularidad de los datos:

- Los datos genéticos humanos son singulares porque:

- pueden indicar predisposiciones genéticas de los individuos;
- pueden tener para la familia, comprendida la descendencia, y a veces para todo el grupo al que pertenezca la persona en cuestión, consecuencias importantes que se perpetúen durante generaciones;
- pueden contener información cuya relevancia no se conozca necesariamente en el momento de extraer las muestras biológicas;
- pueden ser importantes desde el punto de vista cultural para las personas o los grupos.

- Se debería prestar la debida atención al carácter sensible de los datos genéticos humanos e instituir un nivel de protección adecuado de esos datos y de las muestras biológicas.

Estos esfuerzos responden a preocupaciones públicas concretas. La información genética tiene un carácter único o singular, todo individuo es genéticamente irreplicable (excepto los gemelos monocigotos), es un reflejo de la individualidad de la persona y aporta la información sanitaria más personal dado que está vinculada inherentemente a la misma. Es permanente e inalterable, acompaña al individuo toda su vida y es, en cierta manera, indestructible. Por otro lado es una información no voluntaria dado que no la hemos escogido nosotros. Sin embargo,

las dos características más importantes y que son las que conllevan un debate ético y legal más intenso son: la capacidad predictiva y que establece un vínculo del individuo con su familia de la que también aporta información⁵⁸

En el ámbito internacional, el año 1998 la UNESCO promulgó la Declaración Universal sobre el Genoma y Derechos Humanos donde se prohibía la discriminación por razones genéticas y se establecía la obligación de proteger la confidencialidad de los datos genéticos asociados a un individuo identificable. La misma UNESCO recientemente ha promulgado la Declaración Internacional sobre Datos Genéticos Humanos⁵⁹ donde se trata la recogida, tratamiento, utilización y conservación de los datos genéticos y proteómicos humanos.

En el marco europeo también se prohíbe la discriminación por razones genéticas y se establece que el acceso a esta información y su uso (médico o de investigación) precisa siempre del consentimiento del individuo. Se contemplan estas premisas en la Carta de Derechos Fundamentales de la Unión Europea y sobretodo en el Convenio de Oviedo sobre Derechos Humanos y Biomedicina integrado en el ordenamiento jurídico español en el año 2000. A nivel europeo también encontramos regulación de la protección de datos personales en la Directiva Europea 95/46/CEE y en la Recomendación del Consejo de Europa de 1997.

Como reflejo de la repercusión social que está teniendo la realización de estudios genéticos de predicción de enfermedades de alta incidencia, recientemente la Comisión Europea ha presentado las 25 Recomendaciones sobre las Repercusiones Éticas, Jurídicas y Sociales de los Test Genéticos⁶⁰. En estas recomendaciones tienen un papel fundamental la autonomía, la educación, el respeto a las opciones personales, la información y el consentimiento, la protección de los grupos vulnerables, la protección de la confidencialidad, el derecho a saber y a no saber, el deber de revelar y de advertir sobre la responsabilidad, la igualdad de acceso a la asistencia sanitaria, el control de las muestras biológicas de origen humano y el control del uso de los datos en investigación, entre otros.

El consentimiento informado es también uno de los puntos centrales de la

Declaración Internacional sobre Datos Genéticos Humanos de la UNESCO. Esta Declaración define qué se entiende por datos genéticos, proteómicos y muestras biológicas y con qué finalidades pueden ser tratadas y conservadas. Establece el principio del consentimiento informado tanto para la obtención de los datos, como para la utilización y conservación. Recuerda que los datos genéticos no pueden utilizarse para una finalidad diferente que sea incompatible con el consentimiento original, a no ser que el derecho interno disponga que la utilización propuesta responde a motivos de interés público.

En el ámbito jurídico estatal, aparte de las Declaraciones, Convenios y Recomendaciones antes comentadas, la propia Constitución incluye elementos, explícitos o implícitos, en los cuales el asesoramiento y la información genética pueden ser enmarcados⁵⁸. El asesoramiento genético, especialmente cuando se trata de estudios predictivos, actúa como herramienta de prevención y en este sentido la Constitución encomienda de forma explícita a los poderes públicos a vertebrar la salud pública a través de las medidas preventivas. El asesoramiento genético se contempla dentro del catálogo de prestaciones sanitarias del Sistema Nacional de Salud. El tratamiento de datos de carácter personal, en general, está regulada en la Ley Orgánica 15/1999 y en su reglamento de desarrollo (Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre). Esta normativa instituye ciertos principios como pilares básicos del sistema de protección de datos: pertinencia del tratamiento de los datos, calidad de los datos, información y consentimiento como requisitos previos al tratamiento, y garantía de los derechos de oposición, acceso, rectificación y cancelación.

1.4.2. VALORACION PSICOLOGICA DEL CONSEJO GENETICO ONCOLÓGICO.

El Consejo Genético Oncológico (CGO) es el proceso de comunicación por el cual se informa a los participantes de su riesgo de padecer cáncer, de las posibilidades de transmitirlo a sus hijos, se les ayuda a comprender e interpretar el riesgo, y se les asesora para tomar importantes decisiones sobre el cuidado de su salud, los métodos de prevención disponibles, así como la mejor forma de adaptarse a su situación.

Se trata de un proceso psico-educativo que capacita a los usuarios para tomar decisiones acerca del test genético, el screening y los tratamientos profilácticos disponibles y el seguimiento posterior a través de la adecuada comprensión e integración de la información genética, médica, psicológica y social. La meta es capacitar al participante para usar la información genética en una forma útil que minimice el malestar psicológico e incremente el control personal⁶¹. Son centrales en la filosofía y práctica del CGO los principios de utilización voluntaria de los servicios, la toma de decisión asesorada, la atención a los aspectos psicológicos, la protección de la confidencialidad y la privacidad del paciente.

Lo que las personas buscan en el CGO es obtener alivio de su ansiedad relacionada con el cáncer y sentirse seguros o más seguros tanto en lo que respecta a ellos mismos como para sus hijos, hermanos y otros familiares. El CGO tiene como beneficio principal para los participantes el obtener certidumbre, ser capaz de estimar el riesgo y tomar acciones preventivas, así como ayudar a sus hijos y a sus hermanos⁶². El riesgo percibido juega un importante papel para que una persona se decida a participar en el CGO y en la toma de decisiones posteriores de cara al screening o a la adopción de otras estrategias de reducción del riesgo. En distintos estudios se informa que la percepción de riesgo de cáncer en mujeres con historia familiar de cáncer es muy variable, ya que va del 9 al 57% ⁶³.

La percepción del riesgo está influida, en primer lugar, por la manera en la que se presenta la información, y la dificultad del participante para comprender la probabilidad y la heredabilidad. La capacidad del consultor para administrar la información, asesorar al participantes y sus familiares sobre el riesgo y las opciones preventivas y reasegurar al paciente es fundamental ⁶⁴, y es el factor principal que determina la satisfacción de los participantes en el CGO⁶⁵.

La utilización de materiales educativos de ayuda es altamente útil, debido a las dificultades que entraña la comprensión del CGO. La información ha de ser encuadrada adecuadamente, de forma que cuando se informe al cliente del riesgo de llegar a tener cáncer, también se ha de hacer explícito las posibilidades de no

padecerlo⁶⁶. Además, en el proceso comunicativo se ha de tener en cuenta como esta comprendiendo el probando ambas informaciones. La comprensión del riesgo no solo es una estimación probabilística, sino que depende del contexto vital (edad, hijos, familiares, bienestar...).

El proceso de CGO esta ligado a decisiones que van desde iniciar el consejo genético hasta realizar las medidas profilácticas. La elección de los cursos de acción dependen de los valores de la persona implicada y de su familia, estos valores deben ser incorporados al proceso de toma de decisiones, de forma que no se ha de tener en cuenta sólo la percepción de riesgo, y las posibles consecuencias negativas, sino las implicaciones para la vida diaria y las relaciones interpersonales, considerando no solo la perspectiva de unas semanas o meses sino los efectos a largo plazo. Asimismo, es importante orientar a los participantes a conceptualizar su decisión no en términos de correcto e incorrecto, sino en el de seleccionar el curso más apropiado o ventajoso.

El CGO es eficaz para mejorar la percepción de riesgo, aunque para algunas personas persisten errores de estimación, bien por fallos en la comprensión de la información, bien por creencias erróneas o su estado emocional. Asimismo, es preocupante el que algunos pacientes interpreten los resultados no informativos como un riesgo disminuido de cáncer. La discordancia entre riesgo empírico, riesgo percibido y conductas de salud preventivas es muy importante en cáncer y se detecta con bastante frecuencia. Por esto, es importante al comenzar el proceso de CGO evaluar la percepción del riesgo del participante, sus preocupaciones acerca de ello y como afecta a su vida diaria. Si las respuestas emocionales están interfiriendo habrá de proporcionarse la atención psicológica adecuada. A lo largo del proceso, el médico se debe evaluar la comprensión de lo que está siendo discutido, y como el individuo cuantitativa y cualitativamente conceptualiza la información acerca del riesgo.

La atención a las variables psicológicas es crítica para que el CGO sea efectivo y se optimice la calidad de vida del participante y su familia. La evaluación psicológica es un componente clave que debe realizarse a lo largo de todo el proceso de CGO para determinar las posibles dificultades de adaptación de los

participantes o propias del proceso, con el fin de detectarlas y de llevar a cabo una intervención en caso de ser necesario.

Los objetivos de esta evaluación consisten en conocer:

- a) la idoneidad del inicio o continuación del GGO en cada caso individualmente;
- b) la adaptación de los participantes y sus familiares al proceso: realización del test, afrontamiento de resultados, toma de decisión;
- c) interacción médico-paciente (estrategias de comunicación, manejo de situaciones difíciles, tiempos espera),
- d) la adherencia al screening, adaptación a las intervenciones profilácticas y a sus consecuencias a medio y largo plazo.

El CGO tiene efectos positivos en las preocupaciones y ansiedad ante el cáncer, el distress y ansiedad general, y no tiene efectos negativos en la calidad de vida de los participantes. Mejora la percepción de riesgo, pero la discordancia entre riesgo empírico, riesgo percibido y conductas de salud preventivas se detecta con bastante frecuencia. Es necesario evaluar la percepción del riesgo del participante al comenzar el proceso de CGO.

A lo largo del proceso, el médico debe evaluar la comprensión de lo que está siendo discutido, y cómo el individuo conceptualiza la información acerca del riesgo, cuantitativa y cualitativamente. La preocupación y la percepción de riesgo de cáncer, y la falta de confianza en las medidas de screening predicen una actitud más favorable a la cirugía profiláctica.

1.5. SINDROMES HEREDITARIOS EN ONCOLOGIA

El término síndrome se utiliza para referirse a un conjunto de defectos, alteraciones, o síntomas patogénicamente relacionados, en el que puede o no conocerse la causa, y ésta puede o no ser genética. Hablamos, por tanto, de síndrome cuando identificamos un conjunto de características que diferenciamos de otros conjuntos o características aisladas, y que asumimos tienen una base común⁶⁷.

No todos los signos, anomalías o alteraciones del fenotipo aparecen siempre con la misma frecuencia en el síndrome. Algunos rasgos son comunes, mientras que otros pueden aparecer con poca frecuencia. El término espectro fenotípico se refiere al total de alteraciones o signos que pueden observarse en un síndrome y a su frecuencia en la población con el síndrome. En general, si su frecuencia en la población de personas con el síndrome es superior a su frecuencia en la población control o general, puede considerarse como parte del síndrome.

En los SPCs, el cáncer suele ser la alteración fenotípica más severa y, en muchos casos, la más característica del síndrome. En algunos síndromes el cáncer es la única manifestación fenotípica, por ejemplo en el Síndrome Li-Fraumeni, en el Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (el síndrome de predisposición al cáncer más frecuente), o en el Cáncer Gástrico Difuso Hereditario.

En otros síndromes se observa un conjunto de tumores benignos y malignos afectando a diferentes órganos o tejidos, como ocurre en el síndrome de von Hippel Lindau, o en la Neurofibromatosis.

En un tercer tipo de SPCs, el cáncer es un signo más dentro de un conjunto de manifestaciones fenotípicas complejas, como ocurre en el síndrome de Cowden, en el Peutz Jeghers, o en el síndrome de Rothmund-Thompson. En estos síndromes se observan múltiples defectos del desarrollo, tumores benignos y cánceres.

Aproximadamente un 5-10% de todos los cánceres tiene una base hereditaria, dentro de éste se engloban todos los síndromes de predisposición al cáncer. En los SPCs se hereda la predisposición a desarrollar cáncer de acuerdo a patrones mendelianos. La mayoría de los SPCs son poco frecuentes, y en todos ellos el riesgo para cáncer excede el riesgo poblacional, si bien las cifras de riesgo son muy diferentes de unos a otros. Además, estos síndromes manifiestan una gran variabilidad en su expresividad, de modo que, dentro de una misma familia podemos observar marcadas diferencias en la edad de aparición, el tipo de tumor, su localización, o en la agresividad o tasa de supervivencia.

La identificación de familias con SPCs es clínicamente relevante ya que el riesgo de sus miembros para desarrollar cáncer es muy elevado. Sin una adecuada

historia familiar, muchos SPCs pueden no ser identificados y ser considerados como tumores de carácter esporádico. La historia familiar es sin duda la herramienta más eficaz para determinar la probabilidad de que una determinada familia tenga un SPCs, y para poder llevar a cabo el proceso de asesoramiento genético⁶⁹.

Para averiguar el modelo de herencia es muy útil el dibujo del árbol familiar o pedegree de la familia. Éste consiste en la representación gráfica de las relaciones y de las características que nos interesan de los distintos miembros de la familia.

Para la elaboración del árbol familiar se utilizan una serie de símbolos estandarizados.

Para la construcción de árboles de familias con sospecha de SPCs hay que tener presente:

- 1.- A partir del probandus o del consultante, recoger información de las generaciones posteriores, si las hubiera, y anteriores al mismo, intentando obtener datos de al menos tres generaciones en la rama familiar de nuestro interés.
- 2.- Marcar en el pedegree todos los casos de cáncer y lesiones preneoplásicas ocurridos, indicando:
 - Localización del tumor
 - Tipo de tumor
 - Edad actual del paciente y en el momento del diagnóstico del cáncer.
 - Lugar y fecha de intervención del cáncer y de otros tratamientos, si procede. En la medida que sea posible, debe intentarse documentar los casos de cáncer ocurridos en la familia, mediante informes clínicos, patológicos, necrológicos...
- 3.- Recoger la información de los individuos no afectados y de los ya fallecidos, indicando edad y causa del fallecimiento. Señalar también los abortos o recién nacidos muertos si los hubo, y la causa de los mismos si se conoce.

4.- Obtener la mayor información posible de otras enfermedades de origen genético o de defectos del desarrollo, anomalías congénitas o retraso mental, que pudiera haber en la familia, indicando en el pedigree los individuos afectados.

Observar si alguno de estos problemas segrega con el cáncer en la familia.

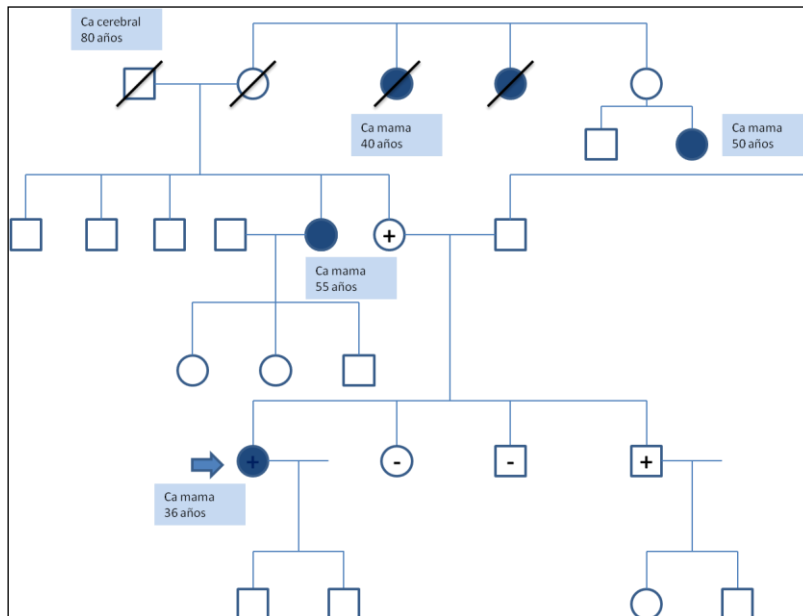


Figura 2 . Arbol genealógico de familia portadora.

Una vez reunida la información y determinada la estructura de la familia con todos los miembros, hay que ver si la aparición de los tumores se ajusta a alguno de los modelos de herencia comentados y cabe pensar en algún SPC.

Hay que tener en cuenta que hoy en día es común encontrar familias de tamaño pequeño y que una gran mayoría de los SPCs sigue una herencia autosómica dominante, que es muy común la penetrancia incompleta y una gran variabilidad en la expresión fenotípica de los SPCs.

Sólo un 5-10% de las neoplasias muestran agregación familiar o un marcado carácter hereditario. Reconocer estos casos tiene un enorme interés sanitario ya que a través del asesoramiento genético de las familias puede lograrse

una efectiva reducción de la mortalidad por cáncer. Los principales síndromes hereditarios valorados en las UCG son:

1.5.1. SINDROME DE CANCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO:

El cáncer de mama (CM), con más de un millón de casos al año en el mundo, es el cáncer más frecuente y una de las principales causas de mortalidad en la mujer en los países industrializados, donde su incidencia es creciente. No obstante, la mortalidad asociada ha descendido desde los años 90 debido al mejor conocimiento de su etiología y a avances en la detección precoz y tratamiento⁷¹.

Por otra parte, en todo el mundo se diagnostican más de 150.000 casos anuales de cáncer de ovario (CO), el cáncer ginecológico con mayor mortalidad, ya que suele diagnosticarse en estadios avanzados.

Los estudios epidemiológicos han identificado múltiples factores de riesgo tanto genéticos como hormonales o medioambientales. Aunque la mayoría de ellos influye ligeramente, destacan especialmente en mujeres premenopáusicas la edad, la densidad de la mama, los antecedentes mamarios previos y el número parientes de primer grado con CM.

En el CO el riesgo se eleva con la edad (con un aumento de la incidencia en la quinta década de la vida) y disminuye con embarazos a término⁷². El mayor factor de riesgo conocido corresponde a los antecedentes familiares de la enfermedad, indicando el predominio del componente genético sobre el medioambiental⁷³.

El riesgo relativo de CM es superior en gemelas monocigóticas que en dicigóticas y estudios epidemiológicos muestran que el riesgo de CM se duplica en parientes de primer grado de mujeres con CM, mientras que el de CO se triplica con parientes afectas de esta enfermedad⁷⁴, comparadas con mujeres sin antecedentes familiares. Ambos tipos de neoplasia comparten factores etiológicos, puesto que el riesgo de padecer CM aumenta en mujeres con CO y viceversa y forman parte de un mismo síndrome oncológico familiar.

En los años 90 se identificaron mediante análisis de ligamiento y clonación posicional dos genes de susceptibilidad mayor, BRCA1 (identificado en familias con

casos de CM y CO) y BRCA2 (especialmente en familias con casos de CM masculino)^{75,76}. La frecuencia poblacional de mutaciones se ha estimado en 1/400-1/800 y el riesgo de CM en portadoras es superior a 10 veces el de las mujeres de la población general.

Por ahora, BRCA1 y BRCA2 son los genes de alta penetrancia asociados a una mayor proporción de casos de CM y CO hereditario.

Se han identificado otros genes con mutaciones de alta penetrancia en síndromes hereditarios que incluyen el CM como parte del fenotipo (como TP53 en el síndrome de Li-Fraumeni o PTEN en el síndrome de Cowden)^{77,78}, pero son alelos extremadamente infrecuentes y causan menos del 1% de los CM⁷⁹. La combinación de todos ellos supone aproximadamente el 20% del componente genético del riesgo de CM. La segunda categoría de alelos de susceptibilidad incluye variantes infrecuentes en ATM, CHEK2, PALB2 y BRIP1, genes candidatos seleccionados por su interacción con BRCA1 y BRCA2 o su participación en las mismas vías de reparación del DNA.

El gen BRCA1 es un gen de gran tamaño localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21). Su secuencia de 5.592 nucleótidos, repartidos en 24 exones (dos de los cuales no se traducen), se extiende a lo largo de 100 kb de DNA genómico. Se transcribe en numerosos tejidos, entre ellos mama y ovario. Se conocen diversos transcritos del gen, aunque el más completo es de unas 7,2 kb, y se traduce a una proteína de 220 kD compuesta por 1.863 aminoácidos^{75,80}.

El gen BRCA2, localizado en el cromosoma 13 (13q12), se compone de 11.385 nucleótidos, distribuidos en 27 exones, el primero de los cuales no se traduce, a lo largo de unas 70 kb de DNA genómico. El transcrito, de unas 12 kb, se halla presente en mama, placenta, testículo, ovario y timo^{76,80}.

Los tumores de mama debidos a mutaciones heredadas en BRCA1 o BRCA2 difieren de los esporádicos y de los familiares no causados por estos genes en sus características morfológicas, inmunofenotípicas y moleculares.

La mayoría de tumores BRCA1 y BRCA2 son carcinomas ductales invasivos. Comparados con los tumores BRCA2 o esporádicos, los tumores BRCA1 se caracterizan por un alto grado histológico e índice mitótico, infiltración linfocítica,

márgenes continuos expansivos y una mayor frecuencia de áreas necróticas. Se asocian además a una mayor proporción de carcinomas medulares (hasta un 11%). Los tumores BRCA2 sólo parecen asociarse a una mayor presencia tubular, menores índices mitóticos y márgenes continuos expansivos. Los tumores de mama no debidos a BRCA1 ni a BRCA2 tienden a presentar grados histológicos e índices mitóticos menores que los asociados a mutación^{81,82}.

Los CM asociados a BRCA1 son más frecuentemente triples negativos (ER-, PRy HER2-) y de fenotipo basal que los BRCA2 y esporádicos. La expresión de marcadores basales o mioepiteliales es más frecuente en tumores BRCA1 que en tumores BRCA2 y esporádicos.

Según estas evidencias, algunos modelos incorporan ER, CK5/7, Ki67, EGFR y otros biomarcadores a las características clínicas y a la historia familiar para mejorar la identificación de pacientes portadoras de mutación⁸³. Los CM por BRCA1 suelen mostrar sobreexpresión de proteínas del ciclo celular (ciclinas A, B1 y E) y ausencia de expresión de genes asociados a ER (Bcl2 y ciclina D1), mientras que los tumores BRCA2 presentan más frecuentemente expresión citoplasmática de RAD51 respecto a la nuclear⁸⁴, dato que concuerda con la necesaria funcionalidad de BRCA2 para la formación de focos nucleares de RAD51.

Los tumores ni BRCA1 ni BRCA2 en pacientes con una intensa historia familiar muestran grados histológicos bajos y son inmunohistoquímicamente similares a los esporádicos. Constituyen un grupo heterogéneo, quizás explicable por un modelo poligénico basado en la interacción de múltiples genes de baja penetrancia.

El análisis molecular de los genes BRCA1 y BRCA2 es de gran laboriosidad debido a su gran tamaño y a la enorme variedad de mutaciones posibles, localizadas en cualquier zona del gen. Al tratarse de mutaciones germinales, presentes en cualquier célula nucleada del organismo, pueden identificarse en DNA de linfocitos de sangre periférica. El análisis puede iniciarse por los fragmentos en los que se haya descrito una mayor frecuencia de mutaciones, pero

si el resultado es negativo debe proseguirse el estudio de la secuencia completa. Las técnicas empleadas deben poseer una capacidad de detección elevada y permitir tanto la identificación de pequeñas alteraciones (electroforesis en gradiente de desnaturalización: DGGE; cromatografía líquida de alta resolución: DHPLC; electroforesis en gel: CSGE; análisis de heterodúplex en electroforesis capilar: HA-CAE, etc.), como duplicaciones o deleciones de exones (amplificación de múltiples sondas ligadas: MLPA, u otras), que requieren una confirmación posterior por otra metodología. En la actualidad existe una variedad de técnicas para realizar un cribado de los segmentos en los que se fragmenta la secuencia de cada gen. La secuenciación constituye el paso definitivo para caracterizar la mutación identificada en el cribado preliminar o bien puede usarse como técnica inicial.

Se han registrado más de mil mutaciones distintas tanto en BRCA1 como en BRCA2, recogidas en la bases de datos BIC⁸⁵ y en múltiples publicaciones. En nuestro país se conocen por ahora un centenar de mutaciones distintas para cada gen, pero no todas se han publicado y la variedad puede ser mayor. Una pequeña proporción de las mutaciones se identifica de forma recurrente (una misma mutación aparece en familias no emparentadas), en ocasiones asociadas con áreas geográficas del país⁸⁶.

La mayoría de las mutaciones en ambos genes consiste en pequeñas inserciones o deleciones que provocan un cambio en el marco de lectura (frameshift) de la secuencia de DNA dando lugar a la aparición de un codón de parada prematuro. También se ha descrito una proporción variable de sustituciones que originan directamente codones de parada (nonsense). Ambos tipos de alteraciones generan presuntamente proteínas no funcionales o bien la degradación (decay) de los mRNA alterados. En ocasiones, variantes generalmente localizadas en los lugares de corte y empalme de exones alteran el proceso de eliminación de intrones (splicing), causando la pérdida completa o parcial de exones o la inserción de secuencias intrónicas en el transcrito generado. Dichas alteraciones deben comprobarse mediante el estudio del mRNA. Se han identificado también grandes deleciones o duplicaciones de fragmentos de la secuencia mediante técnicas capaces de cuantificar la dosis alélica de cada uno de

los fragmentos, aunque su frecuencia supone menos del 10% de todas las mutaciones detectadas.

Se ha estimado una prevalencia de portadores del 0.11– 0.32% para BRCA1 en la población general y 0.12–0.69% para BRCA2 (Reino Unido, Estados Unidos y Canadá). La laboriosidad del estudio de ambos genes y la escasa prevalencia de mutaciones en la población hacen inviables los análisis poblacionales. Por lo tanto, es necesaria la selección de individuos y familias en las que existe una probabilidad razonable de detectar una alteración o en los que las consecuencias del estudio pueden ser clínicamente beneficiosas.

La frecuencia de detección en ambos genes depende del método usado para el análisis y de la probabilidad del individuo analizado de ser portador, según sus antecedentes personales y familiares de cáncer y su origen étnico. Aunque los criterios de selección pueden variar, incluyen los indicios de riesgo de predisposición heredada: número de casos de CM o CO en la familia, menor edad de aparición o presencia de CM bilateral o masculino. Todas estas variables se contemplan en los modelos estadísticos generados para calcular a priori la probabilidad de detectar una mutación.

Los modelos más recientes incluyen estimaciones de las frecuencias y penetrancias alélicas⁸⁷. Existen diversos estudios de BRCA1 y BRCA2 en familias españolas⁸⁸⁻⁸⁹. En general, se identifican mutaciones patogénicas entre un 20 y un 30% de las familias. Los porcentajes más altos corresponden a series de familias con 3 o más casos de CM y CO.

La proporción de mutaciones disminuye en familias sólo con casos de CM (10-15%) o mujeres jóvenes sin antecedentes (<5%). La presencia de CO es un indicador de probabilidad de mutación heredada, con mayor probabilidad en BRCA1. Mas de la mitad de familias con CM masculino presenta mutaciones en BRCA2. Estos resultados concuerdan con estimaciones epidemiológicas que atribuyen la mayoría de agregaciones familiares de CM a múltiples alelos de susceptibilidad, algunos muy infrecuentes y de alta penetrancia y otros comunes en la población y de baja penetrancia, cada uno de los cuales contribuye a una parte del riesgo total y a una proporción considerable de la incidencia global del CM.

Algunas mutaciones se observan repetidamente en familias no emparentadas y en ciertas poblaciones unas pocas mutaciones se presentan con una frecuencia inusualmente alta. Estas mutaciones “fundadoras” aparecen en individuos de una población pequeña y tras generaciones sucesivas con un cierto grado de endogamia aumentan su presencia en la población, pasando a ser alteraciones altamente recurrentes o incluso características de un grupo étnico particular y asociadas a zonas geográficas más o menos definidas. mutaciones frecuentes en familias españolas son 243delA, 330A>G (altera el mRNA), IVS5+1G>A, 3889del4, 5242C>A (p.A1708E) y IVS19-1G>A y 185delAG en BRCA1 y 3036del4, 3492insT, 5374del4, 9206del14 y 9254del5 en BRCA2 (86,88,91,92).

Se estimó inicialmente un riesgo absoluto de CM asociado a mutaciones en BRCA1 y BRCA2 hasta del 80% y de CO de 20-60% para BRCA1 y de 15-27% para BRCA2⁹³. Para los hombres con mutaciones en BRCA2 el riesgo absoluto de CM se estimó en un 6% a los 70 años, unas 100 veces superior al de la población masculina general. En un metanálisis de 22 estudios con más de 8.000 casos no seleccionados por antecedentes familiares de CM o CO (93) y en otro posterior de 10 estudios ⁹⁶se calculó la penetrancia de las mutaciones en ambos genes. Los resultados indicaron que las mutaciones en BRCA1 se asocian a una probabilidad del 57–65% de desarrollar CM y del 39–40% de desarrollar CO a lo largo de la vida. Las probabilidades para mutaciones en BRCA2 se estimaron en 45–49% para CM y 11–18% para CO.

Las mutaciones en BRCA1 también confieren un mayor riesgo, aunqueno muy elevado, de presentar otros tipos de cáncer, especialmente de páncreas, útero y próstata en varones menores de 65 años 47. Para BRCA2, el riesgo relativo de cáncer de próstata en los hombres portadores de mutación se ha estimado en 7,3 veces en menores de 65 años y 3,4 veces si superaban esta edad. Se ha observado un aumento de frecuencia de cáncer de vesícula biliar, páncreas, estómago y melanoma maligno.

VARIANTES DE EFECTO DESCONOCIDO Y POLIMORFISMOS EN BRCA1 Y BRCA2:

Según la base de datos BIC, cerca del 30% de los cambios de secuencia corresponde a sustituciones de nucleótidos que conducen a cambios de aminoácidos en la proteína (missense). Según sus características y localización estos cambios pueden alterar la función de la proteína y estar asociados a riesgo o bien ser poco relevantes. Para averiguar su significado debe examinarse si se hallan ausentes o no en individuos de población sana, si los parientes con cáncer en una familia portan la variante (cosegregación con la enfermedad) y si se localizan en un dominio potencialmente crítico para la función proteica. Deben evaluarse además las diferencias del nuevo aminoácido frente al original y si se localiza en una zona de la proteína muy conservada durante la evolución filogenética, lo que indicaría su importancia funcional. Para ello se han diseñado programas informáticos que intentan predecir de forma teórica las consecuencias biológicas de dicho cambio.

Otro aspecto a tener en cuenta es la presentación de la variante en cis o en trans con alguna mutación reconocidamente patogénica. Teniendo en cuenta que la viabilidad de un embrión doblemente mutado es inexistente para BRCA1 o extremadamente escasa para BRCA2, el hallazgo de individuos portadores de una variante en un cromosoma y de una mutación en su homólogo indicaría que dicha variante carece de patogenicidad. La demostración más consistente de su valor patológico puede obtenerse mediante estudios funcionales, en los que se observa si la proteína con la variante mantiene o no sus funciones en un medio celular. Sin embargo, la complejidad de este tipo de estudios impide su aplicación al diagnóstico rutinario.

Publicaciones recientes, han propuesto la utilización simultánea y sistemática de las distintas variables antes mencionadas en un modelo multifactorial para cuantificar la probabilidad de causalidad de cada variante⁹⁵.

Ambos genes presentan también numerosas variaciones con diversas frecuencias en la población general, denominadas polimorfismos si superan el 1%, y no asociadas a patología. Comparando sus frecuencias en casos y controles se ha sugerido que algunos de los polimorfismos comunes en BRCA1 y BRCA2 pueden

asociarse a riesgos moderados de CM o CO. Sin embargo, existen pocas evidencias consistentes.

El análisis de un individuo afecto es la vía más eficiente para determinar la presencia de una mutación en la familia. Una vez identificada una mutación claramente patogénica, el análisis en otros familiares, afectados o no, es plenamente informativo. El hallazgo de la mutación mejora la estimación del riesgo personal y la toma de decisiones clínicas apropiadas.

Esta estimación es siempre aproximada debido a los factores modificadores genéticos o medioambientales, capaces de generar en cada individuo portador diferencias de expresividad y penetrancia (tipo de cáncer y probabilidad de desarrollarlo, respectivamente) incluso en una misma familia.

Si la mutación previamente hallada en el caso índice no se detecta en un familiar se puede afirmar con certeza que éste no ha heredado la predisposición y no precisa intervenciones médicas más allá de las medidas convencionales de prevención y detección precoz debidas al riesgo poblacional.

Tampoco persiste la posibilidad de transmisión a los hijos y disminuye la angustia personal. Globalmente, aunque el porcentaje varía según el subgrupo de riesgo, en más de dos tercios de las familias estudiadas no se detecta ninguna mutación.

Es un resultado negativo no concluyente que no implica la total ausencia de alteraciones en zonas localizadas fuera de las secuencias exónicas, como las promotoras, reguladoras, intrónicas, etc., habitualmente no analizadas. Además, el estudio se realiza solamente en un único individuo (probando) por cada familia, aunque a ser posible debe escogerse el de mayor probabilidad de ser portador (el de mayor afectación y menor edad al diagnóstico).

También debe tenerse en cuenta que la prevalencia del CM en la población general es alta y por lo tanto, en el seno de algunas familias con CM familiar existen mujeres con CM de causa no hereditaria (fenocopias), que en caso de ser elegidas para el análisis ofrecerán un resultado negativo.

Por otra parte, puede tratarse de un síndrome hereditario de CM, pero debido a una mutación en un gen no conocido de alta penetrancia o bien a variantes de genes de baja penetrancia actuando en combinación junto con factores medioambientales.

PENETRANCIA DE LOS GENES BRCA1 Y BRCA2 :

Las estimaciones de la penetrancia varían considerablemente en función del contexto en el cual se analice. Las estimaciones de la penetrancia de las mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 que se reportaron inicialmente estaban sobreestimadas dado que estaban basadas en familias de alto riesgo seleccionadas por la presencia de múltiples casos afectados por neoplasias de mama y ovario⁹⁶ . En 1995, Easton et al⁹⁷ estimaban un riesgo acumulado a lo largo de la vida de CM superior al 80%. Sin embargo, estas estimaciones probablemente no puedan ser aplicables a familias con agregación familiar de cáncer menos severa o en casos incidentes como se ha ilustrado en estudios realizados en pacientes no seleccionados con CM cuyas estimaciones han sido entre el 40% al 60%⁸ .

RIESGO DE CM Y/O CO EN PORTADORAS DE MUTACIÓN EN LOS GENES BRCA1/BRCA2:

Resultados de un metaanálisis en el que se incluyeron datos de 22 estudios de pacientes con CM o CO no seleccionados por su historia familiar, se ha estimado que el riesgo acumulado a los 70 años para CM es del 65% (95%CI=44-78%) en BRCA1 y del 45% (95%CI=31-56%) en BRCA2 , y para CO del 39% (95%CI=18-54%) para BRCA1 y del 11% (95%CI=2-19%) para BRCA2⁹⁹.

Un estudio colaborativo multicéntrico realizado en familias españolas portadoras de mutación en BRCA1 (n=155) y BRCA2 (n=164) seleccionadas por criterios clínicos de alto riesgo estiman un riesgo acumulado de CM a los 70 años del 52% (95%CI=26-69%) para BRCA1 y del 47% (95%CI=29-60%) para BRCA2.

Para CO las estimaciones fueron del 22% (95%CI=0-40%) y 18% (95%CI=0-35%) respectivamente¹⁰⁰. El riesgo relativo de CO tiene un patrón similar, con HR estimadas superiores antes de los 50 años (HR=32 y 51 para edades 20-29 y 30-39 respectivamente). El RR de padecer CO empieza a incrementarse a partir de los 40 años en BRCA1 y a partir de los 50 años en BRCA2, persistiendo éste riesgo incrementado al menos hasta la 7ª década para ambos genes^{99,100}

1.5.2. SINDROME DE CÁNCER DE COLON HEREDITARIO NO POLIPOSICO:

La incidencia anual de cáncer colorrectal en los países industrializados es muy alta. El riesgo de padecer CCR en este entorno y para la población general oscila entre el 5-6%. La incidencia anual de este cáncer en Estados Unidos es de unos 148000 sujetos anuales, con un total de 56000 muertes debidas a él¹⁰¹.

En nuestro país, las últimas cifras ofrecidas por el Ministerio de Sanidad y Consumo respecto a la incidencia de esta enfermedad en el año 2003 llegaron hasta los 25665 afectados¹⁰².

De todos estos cánceres sabemos que alrededor de un 20% presentan riesgo familiar, es decir, tienen 2 ó más familiares en primer o segundo grado afectados y, además, entre un 5 y 10% presentan un riesgo claramente hereditario debido a un trastorno autosómico dominante. Dentro de estos trastornos las enfermedades más importantes tanto por su volumen como por sus especiales características son la poliposis adenomatosa familiar y el síndrome de Lynch o cáncer de colon hereditario no polipósico.

El CCHNP engloba entre un 5 y 10% de todos los cánceres colorrectales que se diagnostican en la actualidad.

En 1991, el International Collaborative Group for HNPCC desarrolló los denominados criterios de Amsterdam¹⁰³ que definían este síndrome. Sin embargo, 8 años después estos criterios fueron revisados por el mismo grupo para incluir en los mismos la posibilidad de aparición de tumores extracolónicos, los denominados criterios de Amsterdam modificados¹⁰⁴. Además de estos criterios clínicos para la identificación de familias CCHNP existen los denominados criterios

de Bethesda ¹⁰⁵ que nos orientan sobre qué tumores colorrectales requieren ser estudiados para detectar si existe inestabilidad de microsátélites o no.

CRITERIOS DE BETHESDA REVISADOS:

1. Cancer colorrectal (CCR) diagnosticado en un paciente de < 50 años de edad.
2. Presencia de CCR sincronico o metacronico, o de otros tumores relacionados con el Sdr de Lynch, independientemente de la edad.
3. CCR con característica histologica sugestiva de IMS-alta en un paciente de <60años de edad.
4. Paciente con CCR y un familiar de primer grado con un tumor relacionado con el S. de Lynch, uno de los cánceres diagnosticado antes de los 50 años.
5. Paciente con CCR con dos o más familiares de primer o segundo grado con un tumor relacionado con el Sdr de Lynch, independientemente de la edad.

Figura 3. Criterios de Bethesda.

Probablemente los criterios clínicos más importantes en la actualidad son los llamados criterios de Bethesda que fueron propuestos en 1996¹³³. Dichos criterios describen casi todas las condiciones clínicas en las cuales se sospecha la existencia de un síndrome de Lynch. Si un paciente cumple con uno de dichos criterios, está indicado realizar estudios genéticos moleculares adicionales, ya sea mediante análisis de IMS o mediante análisis inmunohistoquímico de las proteínas de reparación de bases desapareadas . Diversos estudios han demostrado que dichos criterios resultan muy útiles para la selección de familias quienes deberán someterse a un análisis de mutaciones¹³⁴. Basándonos en los resultados de estos estudios y los debates celebradas durante la jornada de trabajo sobre IMS organizadas por NC (Instituto Nacional de Cáncer), celebrada en 2002 en Bethesda, Maryland, USA, los criterios han sido actualizados recientemente¹³⁵.

El porcentaje de detección de mutaciones varía en función de los criterios que cumplen cada familia. Para aquellas que cumplen los criterios más restrictivos de Ámsterdam iniciales, las posibilidades de detectar una mutación en los genes hMLH1 o hMSH2 oscila entre el 39% y el 86%; sin embargo, cuando los criterios que se completan son los de Ámsterdam modificados, el porcentaje desciende hasta el 5% al 50%¹⁰⁶⁻¹⁰⁸.

Algunos autores promulgan la posibilidad de que este porcentaje de positividad sea menor de lo que realmente existe; entre los razonamientos que dan están, por un lado, el hecho de que el gen hMSH6 se estudia menos de lo que se debería en estas familias¹⁰⁹; además, las técnicas que en estos momentos se están utilizando en la mayoría de los casos podrían no detectar una serie de alteraciones (mutaciones en regiones de control o intrones que afecten a la transcripción o al splicing, grandes deleciones, etc)¹¹⁰⁻¹¹².

En cuanto a los genes que más se encuentran mutados podemos decir que hMLH1 y hMSH2 ocupan el 90% de las mutaciones mientras que el 10% restante lo completan las mutaciones existentes en hMSH6.

La inactivación de los genes hMLH1 y hMSH2 se expresa en los tumores como IMS de alto grado. En la actualidad se acepta como definición de alta IMS a la dada por el Instituto Nacional del Cáncer americano en el que lo define como aquellos tumores en los que aparece inestabilidad en dos o más microsatélites de los 5 de los que consta el panel estándar, en el caso de que sólo haya inestabilidad en uno de ellos hablaremos de baja inestabilidad¹¹³.

En cuanto a la correlación entre IMS y criterios clínicos existen trabajos que nos demuestran que los criterios de Bethesda (Figura 3) son altamente sensibles a la hora de identificar pacientes con tumores con alta IMS, aunque poco específicos a la hora de identificar portadores de mutación en los genes MMR¹¹⁴⁻¹¹⁶.

En los cánceres extracolónicos dentro del síndrome de Lynch también se ha descrito presencia de IMS en el 75% de los cánceres endometriales, casi 100% de los de ovario, 80-90% de los cánceres gástricos, por lo que es importante recordar que estos tumores, de manera esporádica, también presentan IMS¹¹⁷.

Algunos síndromes concretos se relacionan con alguno de los genes, es el caso del Muir-Torre el cual solemos encontrar alteraciones en el gen hMSH2¹¹⁸.

Las mutaciones en PMS2 son raras en familias clásicas y suelen asociarse a cuadros de Turcot¹¹⁹.

En el caso de MLH3 en los pocos casos en los que se ha detectado se asociaba a distintos grados de inestabilidad de microsatélites¹²⁰.

En la actualidad existe la posibilidad de determinar la expresión inmunohistoquímica de las proteínas de MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 en la pieza tumoral. Su determinación nos permite conocer el gen afecto así como la importancia del defecto que ha producido (la pérdida de expresión de MSH2 casi siempre va acompañada de la pérdida secundaria de MSH6 así como la pérdida de MLH1 va acompañada de la de PMS2).

En función del criterio (Ámsterdam, Ámsterdam II, Bethesda) y su situación de sano o enfermo, podremos establecer distintos algoritmos de decisión a la hora de escoger cual es la mejor manera de llegar a un diagnóstico molecular lo más correcto posible para cada caso.

En el caso que se cumplan los criterios de Ámsterdam de manera estricta se puede pasar directamente al análisis de mutaciones en los genes MMR. Si la situación ante la que nos encontramos es de criterios de Bethesda deberemos previamente analizar si existe IMS en la muestra parafinada del tumor de un afectado; si es así, procederemos a realizar el estudio de mutaciones en los genes reparadores. En el caso de que no se demuestre IMS no es obligada la realización de dicho estudio aunque, en ocasiones, portadores de mutación en hMSH6 pueden no presentar IMS.

Las alteraciones en los genes MMR son el elemento fundamental, desde el punto de vista molecular, para el desarrollo de esta enfermedad. El algoritmo molecular en el que se incluyen factores clínicos, inestabilidad de microsatélites e IHQ permiten optimizar el diagnóstico molecular de estas familias.

Sin embargo, existe un porcentaje importante de familias que no se pueden beneficiar de estos conocimientos dada la gran laguna existente en esta patología (mala correlación genotipo-fenotipo).

Aproximadamente de un 10% a un 30% de pacientes con cáncer colorrectal (CCR) poseen una historia familiar de este tipo de cáncer o adenomas, y el 5% de los pacientes presentan un inicio precoz. Un reducido número de casos de CCR se produce por mutaciones heredadas en genes de susceptibilidad al cáncer.

El cáncer colorrectal hereditario no polipósico (CCHNP) es el responsable de aproximadamente el 2-3% de todos los CCR. Este síndrome se caracteriza por el desarrollo de CCR, cáncer de endometrio y otros tipos de cáncer a una edad temprana ¹²¹.

En contraste con la poliposis adenomatosa familiar en la cual un tercio de los casos es causado por una mutación de novo del gen APC, las familias con síndrome de Lynch causado por una mutación de novo de genes de reparación de bases desapareadas, se han registrado con muy poca frecuencia^{122,123}. En dichas familias, los padres y hermanos del paciente no desarrollan la enfermedad. Debido a la alta penetración de este síndrome, miembros de dichas familias a lo largo de generaciones sucesivas se ven afectados y pocas veces se observa un salto de generaciones. Solo en un estudio sobre familias con síndrome de Lynch, debido a una mutación en MSH6, se registró un salto de generaciones¹²⁴.

Los pacientes con síndrome de Lynch tienen mayor riesgo de CCR y de endometrio, además de otros cánceres, entre los que se encuentran el cáncer de intestino delgado, de estómago, de conducto urinario (pelvis y uréter), de ovarios, de cerebro y los tumores cutáneos (adenomas y carcinomas sebáceos y keratoacantomas).

Para la mayoría de estas localizaciones de presentación de cáncer, los estudios han demostrado que el coeficiente observado/esperado aumenta¹²⁵⁻¹²⁹. Sin embargo, no hay certeza alguna sobre si el cáncer de mama y el de próstata pertenecen al espectro de tumores del síndrome de Lynch¹³⁰⁻¹³².

A pesar de que la mayor parte de los estudios no registraron una mayor incidencia de tumores de mama o próstata en familias con síndrome de Lynch, respecto a la población general, los estudios han registrado cánceres de mama o de próstata que muestran IMS en pacientes pertenecientes a familias con síndrome de Lynch.

Es importante identificar a los sujetos con predisposición al CCR, ya que es posible prevenir la morbilidad y la muerte precoz asociadas con cáncer avanzado. La historia familiar es la herramienta fundamental para el diagnóstico. Hasta hace poco, los criterios de Ámsterdam representaban la herramienta más importante para la identificación del síndrome de Lynch. Sin embargo, ahora que sabemos que el síndrome de Lynch está causado por un defecto en la reparación de bases desapareadas (mismatch repair defect) y que la característica principal del síndrome es IMS, deberá prestarse más atención a los criterios de Bethesda que describen todas las condiciones clínicas en las cuales se requiere la confirmación de IMS.

Todos los especialistas involucrados en el tratamiento de pacientes de cáncer, deben conocer dichos criterios a fin de identificar todas las familias que potencialmente padecen síndrome de Lynch. Mediante el análisis de IMS o el análisis inmunohistoquímico de las proteínas de reparación de bases desapareadas, los pacientes con alta probabilidad de ser portadores de mutaciones, pueden ser identificados y estos pacientes deberán ser remitidos a clínicas de valoración de cáncer familiar para ser sometidos a pruebas genéticas. Las pruebas genéticas deberán solamente ser realizadas después de haberles ofrecido una información detallada sobre las ventajas e inconvenientes de las pruebas de las mismas, y siempre con un buen apoyo psicosocial.

1.5.3. SINDROME DE CÁNCER DE COLON HEREDITARIO POLIPOSICO:

La identificación de genes relacionados con los síndromes polipósicos familiares ha dado lugar a una pléyade de estudios sobre cómo funcionan estos genes, donde no resulta evidente una coincidencia funcional entre las proteínas codificadas por estos genes. Este hecho concuerda con diversos fenotipos de las poliposis y hace que resulte aún más notable que el cáncer colorrectal pueda desarrollarse a partir de toda una variedad de orígenes moleculares. Sin embargo, debe tenerse en consideración que el riesgo de cáncer por pólipo no es tan impactante como el riesgo de padecer cáncer a lo largo de la vida en el caso de un paciente con poliposis. Aún más, el más alto potencial de malignidad se encuentra en el adenoma convencional de la poliposis adenomatosa familiar (PAF) o en el de la poliposis asociada con el gen MYH (MAP).

La poliposis adenomatosa familiar (PAF) es el síndrome polipósico más frecuente, con el fenotipo más variado, lo que explica por qué el gen APC fue el primer gen de poliposis – y uno de los primeros genes de supresión tumoral que pudo ser identificado.

Dados los enormes esfuerzos necesarios por aquella época (1986- 1991) para realizar estudios de ligamiento de genes y clonación de posición, aquellos que entonces intentaban clonar el gen APC gozaban de una única ventaja respecto a los que hoy en día realizan estudios semejantes. Dicha ventaja era que se disponía de un abundante número de familias PAF bien caracterizadas y con numerosos miembros que presentaban la enfermedad autosómica dominante, con las cuales se podían realizar estudios a través de organizaciones tales como los registros de poliposis. Se sabe, de forma retrospectiva, que casi todas las familias con poliposis adenomatosa cuyos datos se incluyeron en el análisis de ligamiento, padecían mutaciones de línea germinal del gen APC, y por lo tanto, la heterogeneidad genética no constituía un gran problema. Sin embargo, los esfuerzos requeridos para identificar el gen APC no deben ser subestimados. Tanto la investigación sobre ligamiento, que permitió situar el gen APC sobre el cromosoma 5q21³⁶, así como la clonación del gen se basaban en la identificación¹³⁷ de los escasos

pacientes con poliposis adenomatosa y deleciones constitucionales que tal y como se demostró posteriormente implican el gen APC¹³⁸.

Los pacientes con poliposis asociada al gen MYH (MUTYH) (MAP o MUTYH associated polyposis) tienen, habitualmente, un fenotipo colónico similar al de la PAF atenuada o leve. La poliposis duodenal puede presentarse también en la MAP. La MAP presenta herencia autosómica recesiva y se deriva de mutaciones bialélicas del gen MUTYH.

La MUTYH es una glicosilasa que forma parte del mecanismo celular de reparación de escisión de bases. El daño oxidativo puede causar una incorporación errónea al ADN de la base modificada 8-oxoguanina en lugar de la guanina. El gen MUTYH elimina los residuos de adenina incorporados en oposición a la base 8-oxoguanina debido a una tendencia que presentan estas bases a un emparejamiento erróneo. Si el gen MUTYH resulta deficiente, tras la replicación, la timidina puede ser incorporada en oposición a la adenina. Por consiguiente, las mutaciones de línea germinal del gen MYH, que conllevan una disminución significativa de la actividad de la glicosilasa, causan un exceso de mutaciones G:C>T:A en genes tales como APC y KRAS.

La MAP es una enfermedad recesiva. La presencia de poliposis en generaciones sucesivas se observa solamente en aquellos casos poco frecuentes donde hay consanguinidad o en los cuales un progenitor es portador de un gen heterocigótico¹³⁹. La frecuencia de portadores monalélicos de mutaciones MUTYH es de alrededor de 1% en las poblaciones de Europa occidental.

Los síndromes hereditarios de poliposis siguen siendo clasificados en términos de genética de línea germinal. El descubrimiento de los genes implicados en la mayor parte de las enfermedades descritas anteriormente, ha aumentado considerablemente nuestra comprensión sobre las vías moleculares implicadas y ha permitido mejorar el manejo clínico de los pacientes.

Un diagnóstico clínico puede ser confirmado al detectar la mutación causal conocida, lo que resulta de especial importancia en enfermedades como los síndromes polipósicos hamartomatosos, donde los fenotipos son muy similares y se cometen errores de diagnóstico¹⁴⁰. Las pruebas genéticas de los pacientes y de sus familias han permitido el asesoramiento informado y ha facilitado la

realización sistemática de colonoscopias sólo en aquellos miembros portadores de la mutación. Los estudios moleculares nos han permitido descubrir las razones por las cuales hay numerosas mutaciones somáticas en los genes KRAS y APC en pacientes con mutaciones en el gen MUTYH debido a su función en la reparación de bases desapareadas y han ayudado a demostrar el por qué algunos pacientes con PAF tienden a presentar una enfermedad especialmente grave o leve. Se observa la presencia de un tracto hipermutable en la variante I1307K de APC¹⁴¹.

La identificación de genes modificadores y la delineación de vías genéticas específicas a la enfermedad ,son áreas de gran actividad en la genética de la poliposis, y pueden ofrecer benéficos prácticos para el asesoramiento, la detección y la prevención del cáncer.

1.5.4. SINDROME DE CÁNCER DE PÁNCREAS HEREDIATRIO

El cáncer de páncreas es la cuarta causa de muerte por cáncer en USA. A pesar de los avances en diagnóstico y tratamiento la inmensa mayoría de los pacientes la inmensa mayoría de los pacientes habrán muerto al año del diagnóstico. La identificación de factores de riesgo es una de las vías para poder prevenir este tipo de tumor¹⁴².

Se considera que hasta un 5-10% de los cánceres de páncreas presentan algún grado de agregación familiar¹⁴³. El grado de esta agregación parece condicionar el riesgo de desarrollarlo. El tener un familiar afecto de cáncer de páncreas aumenta el riesgo entre 1.5 y 5.25 veces.

Los estudios de cohorte prospectivos, cuyo diseño disminuye el sesgo asociado a la identificación de los casos, cuantifican este riesgo en 1.5-1.75¹⁴⁴ . Estos estudios sugieren que la susceptibilidad genética tiene un papel claro, pero modesto, en el desarrollo del este tumor en consonancia con los estudios llevados a cabo en gemelos¹⁴⁵. La identificación de familias con una fuerte agregación familiar ha llevado a identificar un grupo heterogéneo de síndromes que asocian herencia y cáncer de páncreas¹⁴⁶.

Estos síndromes se pueden clasificar en tres grupos diferentes:

1. Asociado a SPCs ya conocidos
2. Pancreatitis hereditaria
3. El cáncer de páncreas hereditario

Dado que el número total de familiares en primer grado afectados de CP correlaciona con un riesgo mayor de cáncer la mayoría de autores aceptan que el CPF se define por la presencia de 2 o más familiares de primer grado afectados de CP, demostrado histológicamente, sin que cumplan criterios para ser incluidos en otro síndrome de predisposición hereditaria a desarrollar cáncer. El patrón de transmisión vertical que se observa en estas familias es compatible con su naturaleza autosómica dominante y con una penetrancia incompleta (estimada en el 32% a los 85 años en familias americanas) ¹⁴⁴

Aunque los datos no son concluyentes, estas familias se caracterizarían por una edad temprana al diagnóstico y presentarían el fenómeno de anticipación. El riesgo relativo es de 18 en familias con 2 pacientes afectados y sube a 57 en pacientes con 3 o más miembros afectados. En el caso que existan familiares de segundo grado afectados o edad de presentación joven (menor de 50 años) se consideran de riesgo aumentado sin llegar a la consideración de cáncer familiar.

Se conoce poco la base molecular del cáncer de páncreas familiar. Sin embargo, las mutaciones en el gen BRCA2 son las más frecuentemente identificadas hasta la fecha. Un 7-10% de pacientes con CP esporádico¹⁴⁷ y un 15-20% de pacientes con historia familiar presentan mutaciones germinales en el gen BRCA2^{148,149}. Más recientemente, se ha sugerido que el gen PALB2, cuyo proteína interacciona con BRCA2, podría ser el responsable de algunas familias con el síndrome de cáncer de páncreas familiar¹⁵⁰

1.5.5. SINDROME DE MELANOMA FAMILIAR.

Se considera que una familia presenta un melanoma familiar si existen dos o más diagnósticos de melanoma invasivo entre familiares de primer grado. No obstante, en áreas muy soleadas como el cinturón solar de Estados Unidos o Australia donde existe una mayor prevalencia de melanomas y una mayor probabilidad de que se diagnostiquen melanomas en una familia por azar, se requiere para el diagnóstico la presencia de tres o más familiares afectados.

Se estima que en un 10% de individuos diagnosticados de melanoma presentan un familiar de primer grado afecto, pero sólo entre el 1-2% tienen múltiples familiares. En familiares de primer grado de un paciente diagnosticado de melanoma maligno existe un riesgo relativo de 2 de presentar un melanoma y de 6.5 si el paciente fue diagnosticado antes de los 50 años¹⁵²

Aunque los melanomas familiares y esporádicos son fenotípica, histológica y clínicamente indistinguibles, presentan una serie de características diferenciales entre sí como son la edad de aparición más temprana, la asociación a nevus displásicos o la presencia de múltiples melanomas primarios en los individuos con predisposición familiar.¹⁵³⁻¹⁵⁶

El melanoma familiar es genéticamente heterogéneo. Hasta la fecha diversos genes han sido implicados en la patogenia de esta enfermedad, sin embargo menos de la mitad de familias con una fuerte historia familiar de melanoma (familias de alto riesgo) presentan mutación en los mismos. En la pasada década se reportaron mutaciones en línea germinal en 2 genes que desempeñan un papel prioritario en el control del ciclo celular, el CDKN2A (inhibidor de la ciclina dependiente de la kinasa 2A) y el CDK4 (ciclina dependiente de la kinasa 4).

Algunas familias con mutaciones en línea germinal en CDKN2A presentan un mayor riesgo de desarrollar cáncer de páncreas¹⁵⁷⁻¹⁶¹, cáncer de mama^{162,163} carcinomas escamosos de cabeza y cuello y tumores del SNC (principalmente astrocitomas)^{164,165} Según datos del “Melanoma Genetics Consortium” existe una fuerte asociación entre melanoma y cáncer de páncreas en familias Americanas y Europeas portadoras de mutación en CDKN2A.

1.5.6. OTROS SINDROMES

Otros síndromes menos frecuentes, y que de forma puntual, son valorados y seguidos en la consulta, serían los síndromes endocrinos (MEN I, MEN II), Paragangliomas y Feocromocitomas. Síndrome de Von Hippel Lindau y Neurofibromatosis.

Por la aumentada incidencia comienza a valorarse casos de síndrome de próstata hereditario (BRCA) y también síndrome de tumores gástrico hereditario (CDH1). Otro síndrome valorado en UCG es el Síndrome de Li-Fraumeni, Síndrome de Peutz-Jeghers, Síndrome de Cowden.

1.6. RESUMEN DE LA INTRODUCCIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO.

El cáncer se considera una enfermedad genética esporádica, excepcionalmente hereditaria. El proceso de formación de un tumor consiste en la acumulación de múltiples alteraciones en el genoma de las células que forman dicho tumor. Existen dos posibles conjuntos de alteraciones genéticas: cambios en la secuencia del ADN y cambios epigenéticos que afectan a la expresión de genes.

La identificación de mutaciones en ciertos genes asociados a síndromes de predisposición hereditaria al cáncer junto al conocimiento de sus implicaciones clínicas han convertido la realización de ciertos estudios genéticos en una práctica médica habitual. Se trata de un avance hacia la medicina predictiva y preventiva cuya aplicación clínica es compleja y requiere un enfoque multidisciplinar al abarcar distintos aspectos médicos, psicosociales, tecnológicos y ético-legales. El proceso del asesoramiento genético tiene como finalidad reconocer las necesidades médicas, psicológicas, y etnoculturales del individuo y la familia que se realizan un estudio genético.

Ha sido necesario limitar toda la información y estudio de los distintos síndromes a este resumen de la gama de trastornos oncológicos hereditarios, ya que el campo del cáncer hereditario se ha ido ampliando a una increíble velocidad a lo largo de

las dos últimas décadas. De hecho, para exponer la trascendencia y valor pronóstico del consejo genético en nuestra área , centraré el estudio en la prevalencia y descripción del síndrome hereditario mas frecuente, Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario, como modelo o ejemplo de la actividad diaria de la consulta, en la que, entre otros se realiza el seguimiento de varios casos de cáncer de páncreas hereditario, melanoma hereditario, poliposis familiares atenuadas, Sdr Gardner, Sdr de Lynch y el caso de cuatro familias relacionadas de Sdr de Muir-Torre.

2. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1. JUSTIFICACION

El cáncer de mama (CM) es la neoplasia más frecuente entre las mujeres de los países industrializados. Uno de los principales factores de riesgo es la presencia de CM en familiares directos. Aproximadamente un 3 a 5% de los casos de cáncer de mama (CM) y un 10% de los casos de cáncer de ovario (CO) se asocian a mutaciones germinales en los genes BRCA1(MIM 113705), localizado en el brazo largo del cromosoma 17(17q21) y el gen BRCA2 (MIM600185), localizado en el cromosoma 13 (13q12), responsables del síndrome del Cáncer de Mama y Ovario hereditario (CMOH).^{166,167} Estos desempeñan un papel fundamental en la reparación de las lesiones del ADN y actúan en múltiples procesos celulares (transcripción, regulación del ciclo celular, apoptosis...). Su inactivación, debida a mutaciones o alteraciones de distintos tipos, origina inestabilidad genética, provocando indirectamente la aparición del tumor por acumulación de mutaciones en otros genes, algunos de ellos reguladores directos del ciclo celular.

Las mutaciones heredadas en dichos genes son responsables de una amplia proporción de casos de CM o CO (25-65%) en mujeres con extensos antecedentes familiares, aunque los porcentajes varían según la población analizada. El riesgo de CM a lo largo de la vida para las portadoras de una mutación está en torno al 70% para ambos genes y de un 44-60% para BRCA1 y un 15% para BRCA2 en el CO. Es significativo también destacar que el riesgo de CM masculino se ve aumentado en las mutaciones de BRCA2.

Cuando la historia familiar o personal orienta hacia un posible síndrome de cáncer hereditario, el análisis genético es de gran interés y utilidad clínica. La detección de una mutación tiene implicaciones importantes en el portador y en sus parientes, puesto que cada familiar de primer grado de un portador, padres, hijos o hermanos, tiene la probabilidad de un 50% de ser portador. La detección de portadores de mutaciones patogénicas permite aplicar medidas de seguimiento, detección precoz y prevención

2.2 OBJETIVOS.

2.2.1. Objetivo principal.

Describir y caracterizar el espectro de mutaciones causales en los genes de susceptibilidad al Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario en nuestra área de asistencia sanitaria. Para ello se realizara un análisis molecular de los genes BRCA1 y BRCA2 en 150 familias con sospecha clínica de este síndrome y que cumplan criterios de riesgo.

2.2.2. Objetivos secundarios.

- Definir las características descriptivas y modificables de la población estudiada y de los resultados descritos.

- Identificar las variantes genéticas de significado incierto en las familias analizadas, y clasificarlas en deletéreas o neutras siguiendo diversas aproximaciones (predicciones in silico, estudios poblacionales, estudios de co-segregación...)

- Optimizar y adecuar a la población de nuestro área sanitaria las estrategias de estudio genético , diagnóstico molecular y de prevención de los síndromes de predisposición hereditaria al Síndrome de Cáncer de mama y Ovario Hereditario.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.

Se trata de un estudio descriptivo y transversal sobre las características clínicas, anatomopatológicas y analíticas de una población de alto riesgo oncológico, donde se comparan tres cohortes, pacientes portadores de mutación BRCA, pacientes con Variantes de significado desconocido y pacientes de alto riesgo con resultado de estudio negativo.

3.2. ÁMBITO DEL ESTUDIO.

Se trata de un estudio realizado en el Hospital Universitario Infanta Cristina de Badajoz. Todos los pacientes estudiados pertenecen al área sanitaria de la provincia de Badajoz y son derivados desde Atención Primaria y Atención especializada procedentes de los distintos centros y hospitales de dicha área sanitaria.

Papel de nuestro centro en el estudio:

- Elaboración del diseño del estudio descriptivo
- Elaboración de un díptico con los criterios de derivación a la Consulta de alto riesgo y Cáncer hereditario desde Atención primaria.
- Elaboración de la base de datos digital de recogida de datos.
- Análisis estadístico de los datos e interpretación de los resultados.

3.3. SELECCIÓN DE PACIENTE

Se han estudiado 150 familias con sospecha de Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario remitidas a la Consulta de Alto Riesgo y Cáncer Hereditario desde las consultas de Oncología Médica, Unidad de mama, Ginecología y Atención primaria.

En todos los casos se obtuvo la información sobre los antecedentes familiares de cáncer y se procuró en lo posible realizar el análisis en el individuo de la familia con mayor probabilidad de ser portador de una mutación (con el diagnóstico a menor edad, con CO, con mayor afectación u hombres con CM).

Del individuo índice de cada familia se extrajo ADN y ARN a partir de leucocitos de sangre periférica. Fueron derivados al laboratorio de referencia donde se realizó el estudio molecular para el análisis de pequeñas deleciones/inserciones y mutaciones puntuales en la región codificante y los sitios de splicing (10pb intrónicas flanqueantes) del gen BRCA1 y del gen BRCA2 mediante secuenciación masiva o NGS (Next Generation Sequencing). Este estudio no permite detectar grandes deleciones/duplicaciones , por lo que en los casos que por criterios de riesgo se considera oportuno , se completa el estudio con análisis mediante MLPA (Multiplex Ligation and Probe Amplification).

La metodología empleada sigue de forma general la siguiente secuencia:

- Extracción de ADN genómico a partir de la muestra remitida.
- Amplificación mediante PCR de los exones codificantes, así como de las regiones intrónicas flanqueantes tanto del gen BRCA1 como del gen BRCA2.
- Preparación de librerías mediante el Kit Nextera XT (Illumina).
- Análisis bioinformático de las secuencias obtenidas.
- Control de calidad de los datos genómicos. Requisito: 100% de representatividad de todas las regiones de interés (ROI), con una cobertura mínima de 100x. Secuenciación por Sanger de aquellas regiones de interés con una cobertura menor a 100x.

Todos los cambios identificados son contrastados con distintas bases de datos internacionales (BIC, NCBI,LOVD,HGMD).

3.4. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se ha realizado inicialmente un análisis descriptivo de la muestra y de los grupos. Se analizó la distribución de frecuencias en las variables cualitativas que fueron expresadas en forma de frecuencia y porcentaje. Las variables cuantitativas se han analizado mediante las medidas de centralización (media y mediana) y de dispersión (desviación típica y rango). Se ha empleado la prueba de Kolmogorov-Smirnov para estimar la distribución normal de las mismas.

El análisis estadístico de la asociación entre variables cuantitativas se realizó mediante la comparación de medias (prueba t de student y análisis de la variancia). En el estudio de diferencias entre grupos con comparaciones múltiples en el caso que se considerara oportuno, se recurrió a la corrección de Bonferroni. Así mismo si la prueba de normalidad estuviese francamente alterada, establecido por la prueba de Shapiro Wilk, se recurrió a pruebas no paramétricas de U Mann-Whitney y Kruskal-Wallis en cada caso.

En el caso de las variables categóricas, el análisis estadístico de la asociación entre las mismas fue realizado con la prueba de chi cuadrado o, en su caso, prueba exacta de Fisher.

Se realizaron estudios de correlación entre variables cuantitativas usando la prueba de correlación de Pearson. En el caso de alteraciones de vulnerabilidad de la normalidad se aplicó la prueba de correlación ordinal de Spearman.

En todos los análisis, se consideraron significativos los valores de $p < 0,05$. Todos los intervalos de confianza se calcularon al 95%. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS v12.

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

4. RESULTADOS

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

4.1. ANÁLISIS CLÍNICO.

4.1.1. Caracterización de la muestra estudiada.

Se incluyeron **199 pacientes**, de los cuales 140 eran probandus (caso índice familiar) y 59 pacientes sanos, asintomáticos, portadores de mutación patogénica. Se desestimaron los casos de no portadores sanos (estudios negativos de portadores de mutacion patogénica familiar) ya que no aportan información en este estudio.

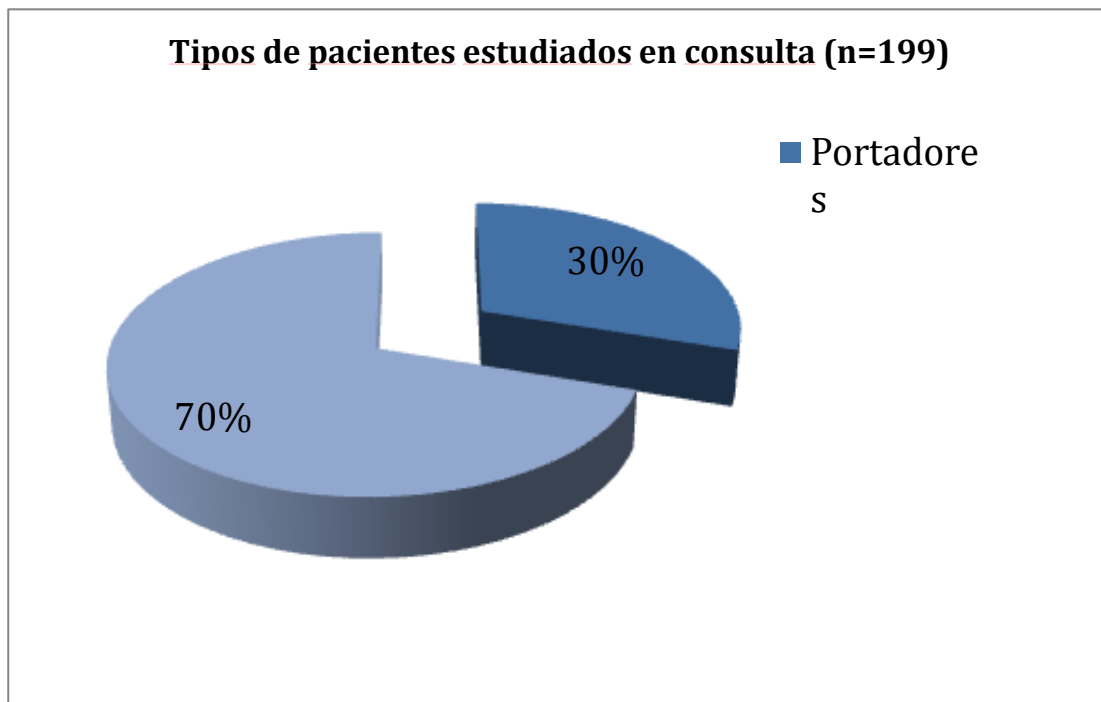


Figura 4. Distribución de pacientes en seguimiento en la consulta de Alto riesgo y Cancer Hereditario.

De las 140 familias estudiadas se seleccionó el mejor caso índice (con el diagnostico de menor edad, bilateral, CM y CO en la misma paciente u hombres con CM). Una vez obtenido el resultado, en aquellos cuyo estudio fue positivo

(portador de mutación patogénica) se procedió al estudio de portadores familiares. En el cómputo global de pacientes en seguimiento en la consulta, mas de 2/3 partes corresponde a la valoración de casos índices de alto riesgo y 1/3 parte corresponde al seguimiento de portadores de mutacion.



Figura 5. Distribución por sexo de los casos de alto riesgo seguidos en consulta.

Del total de varones valorados en consulta (24 pacientes de sexo masculino) un 12% del total de pacientes en seguimiento, 4 casos índice de familia de riesgo para cáncer de mama-ovario y 20 casos son portadores de mutacion.

Frente a estos 20 casos , tenemos 39 casos de portadoras de sexo femenino. Esta variación en la proporción se debe fundamentalmente a que (durante la valoración en consulta) ,en el sexo masculino existe menos interés en el conocimiento de dicho estudio, frente al altísimo interés por parte del sexo opuesto. Se tratade una trasmisión hereditaria, no ligada a sexo, Autosómica

dominante, en la que de no deberíamos encontrar diferencias en una población equitativa.

4.1.2. Caracterización de la muestra de Probandus.

Del numero total de familias con criterios de riesgo estudiadas (N=140), Probandus de sexo masculino fueron 4 (3%) , lo cual refleja la confirmación de la baja incidencia de CM en el varón. La proporción de mujeres como caso índice de familias de riesgo fue del 97%.

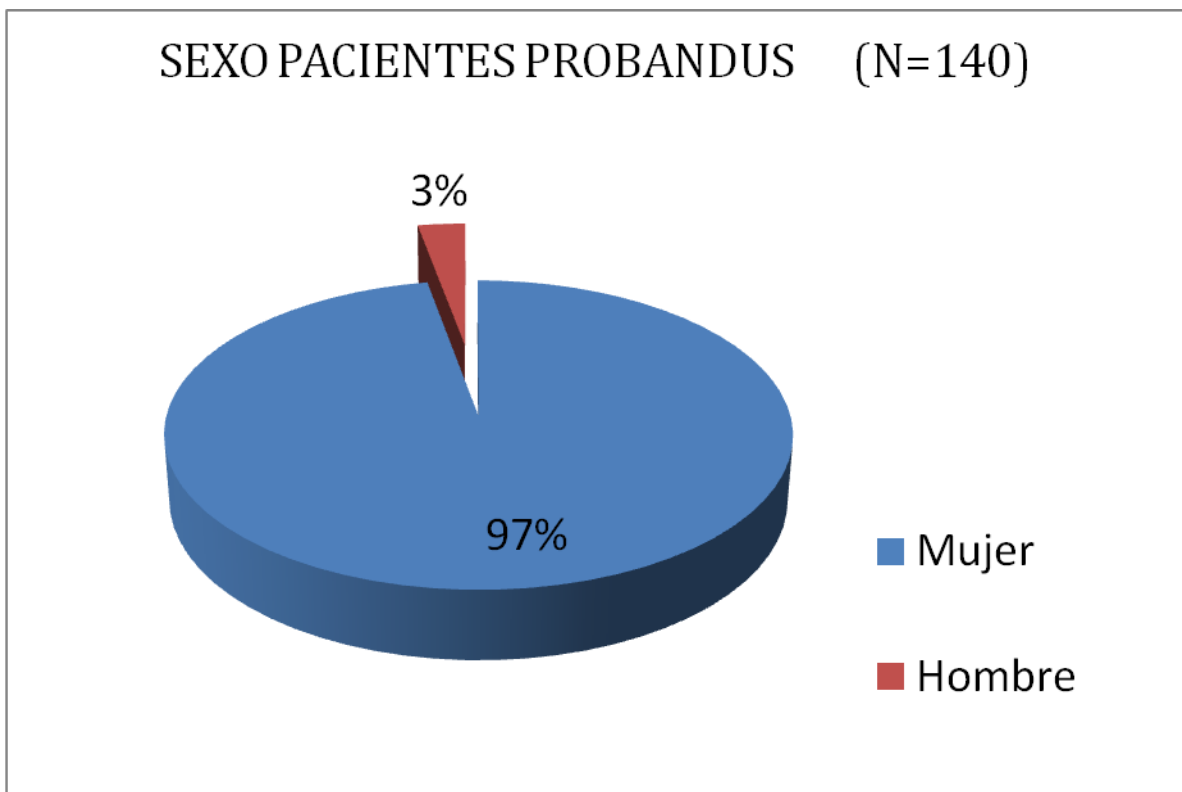


Figura 6. Distribución por sexo de los casos índices de cada familia que cumple criterios de riesgo.

En cuanto a la edad media de los casos índices fue mayor en los varones con una diferencia de 7 años en la media y discretamente inferior en la mediana, en una distribución No Normal.

	Media	Mediana	Desviación Estandar	Máximo	Mínimo
Mujer	45,4	44,2	11,3	84	23
Hombre	52,4	50,4	7,1	64	46

Figura 7. Distribución de la edad de los pacientes en seguimiento por sexo.

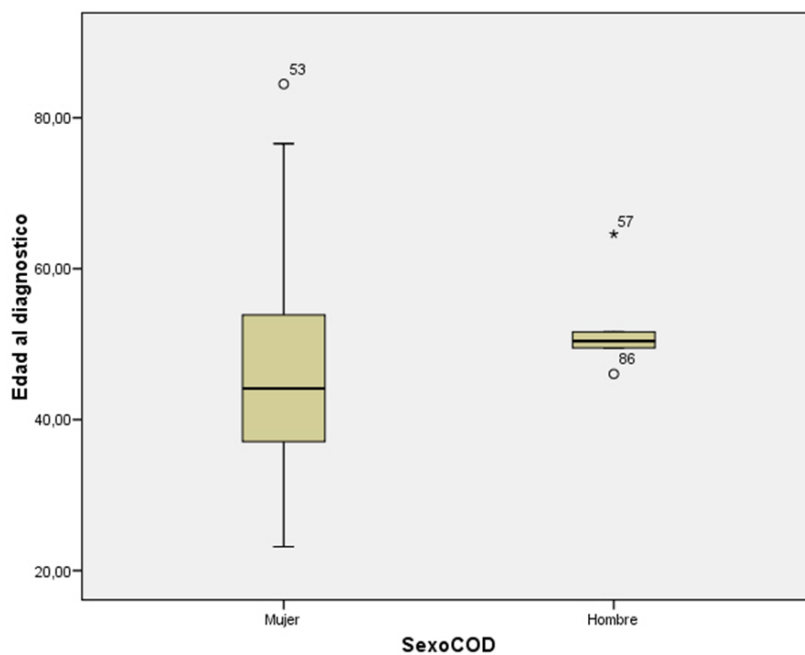


Figura 8. Distribución de la edad de los casos índice por sexo.

Debido al bajo porcentaje, grupo muy reducido de casos índices varones registrados en este periodo de tiempo, centramos el estudio en los casos índices femeninos, ya que podría suponer un factor de error teniendo en cuenta la peculiaridad del seguimiento y características de éste síndrome en el varón.

Limitando su interés al factor de riesgo añadido que supone el hecho de incluir varon con CM en familias de riesgo.

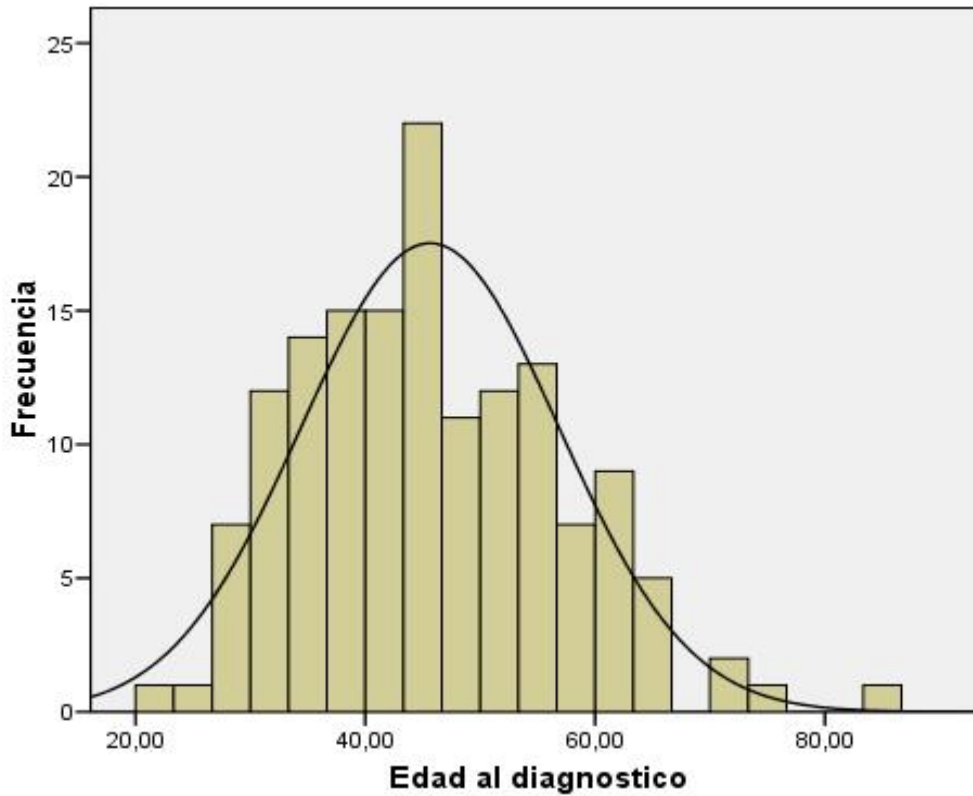


Figura 9. La distribución de edad no es normal. Shapiro-Wilk ($p = 0,01$).

En el análisis por edad se observa que no tiene una distribución normal, presentando una importante desviación izquierda con una mediana de 44 años.

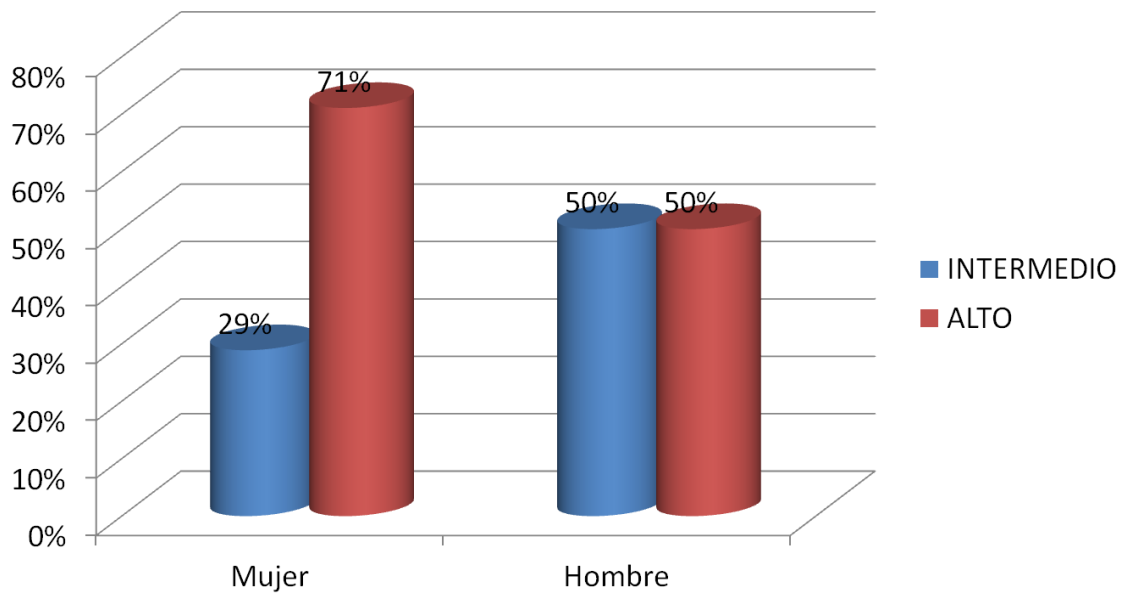


Figura 9: Proporción según sexo de casos valorados en consulta según cumpla criterios de alto riesgo vs riesgo intermedio con algun criterio añadido que implique aumento de riesgo.

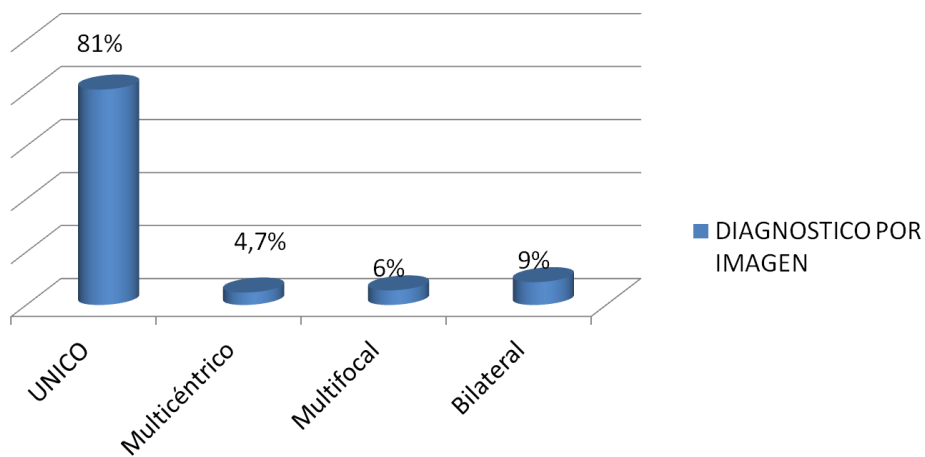


Figura 10. Distribución en el grupo estudiado de la característica de presentacion en la prueba de imagen realizada al diagnóstico.

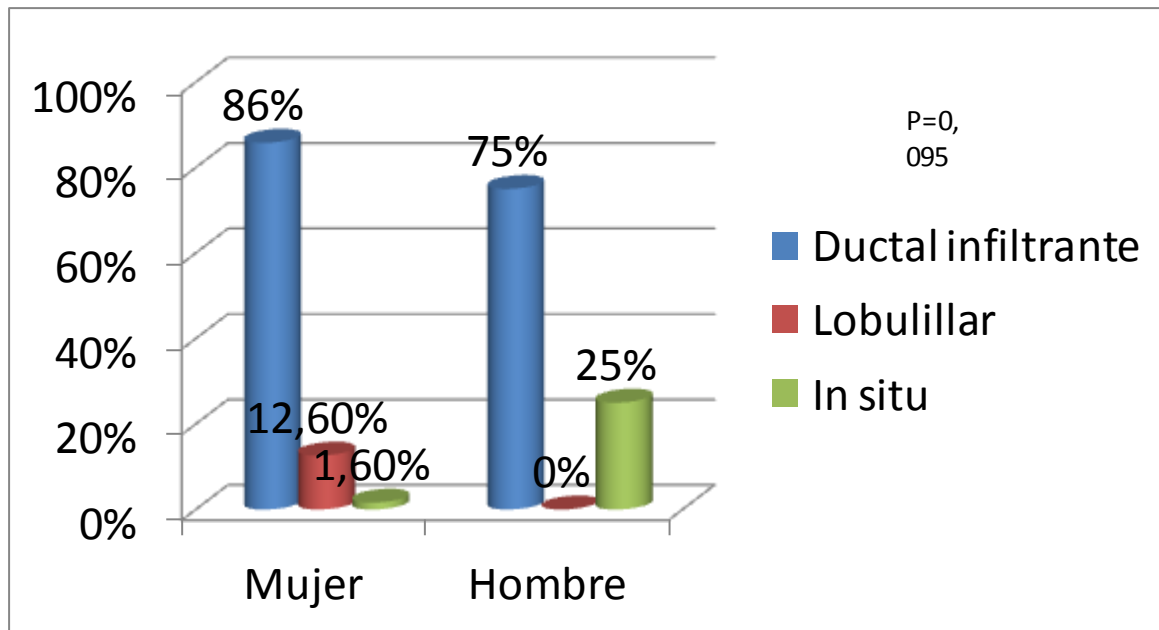
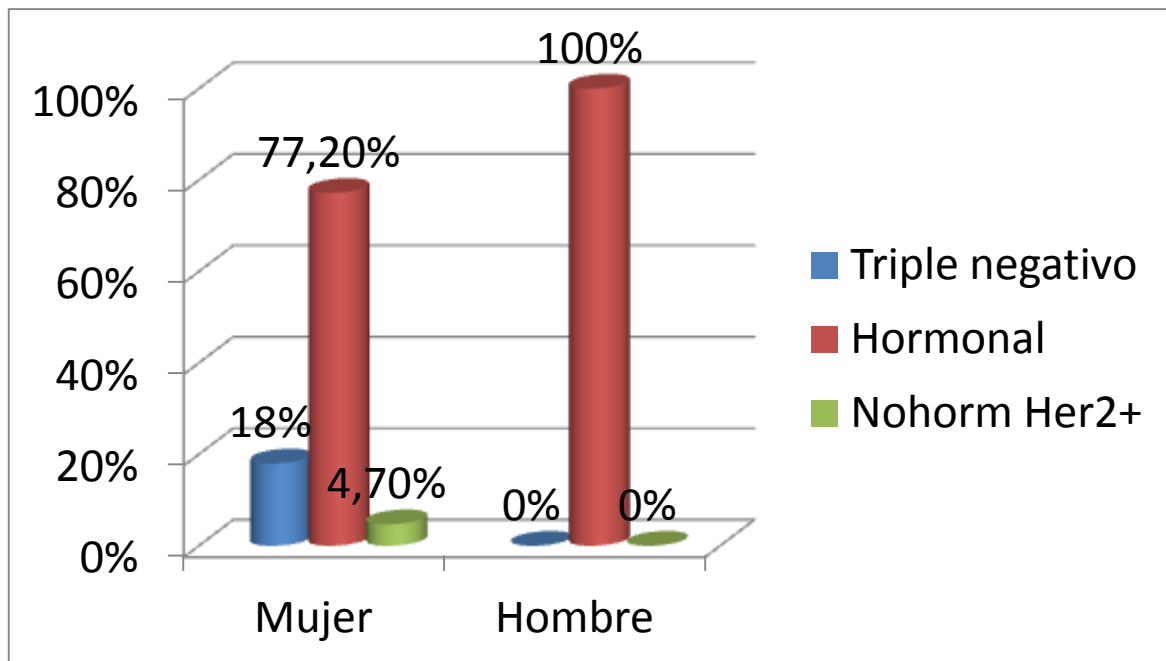


Figura 11 y 12. Distribución de IHQ e Histología de los casos índices por sexo



4.1.3. Caracterización de la muestra de Probandus de sexo femenino.

De los 140 casos índices de familias que cumplen criterios de riesgo seleccionamos los 136 casos de mujeres para caracterizar la muestra y hacer un estudio descriptivo de dicho grupo.

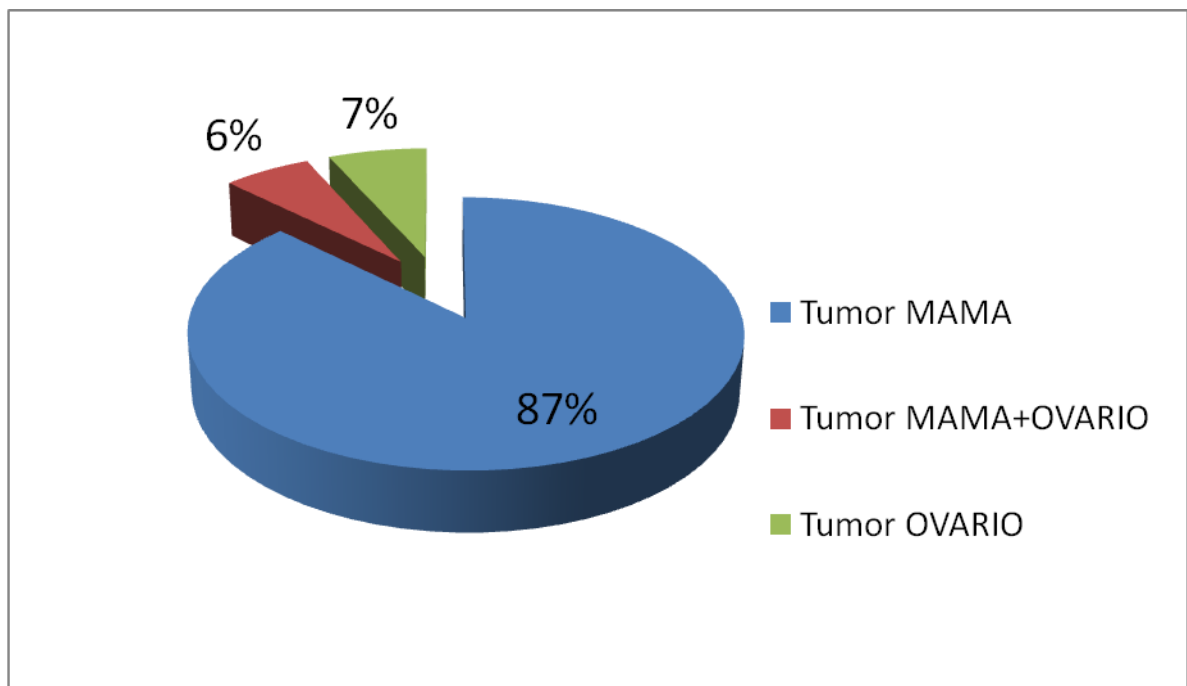


Figura 13: Porcentajes de los distintos grupos de diagnóstico oncológico.

La mayor proporción de diagnósticos corresponde al Cáncer de mama alcanzando el 87% del total, un 7% de los casos de alto riesgo presentan diagnóstico de Cáncer de Ovario (tipo seroso papilar) y un 6% de los casos presenta diagnóstico de cáncer de mama y ovario (*per se* criterio de alto riesgo) en la misma paciente (no determinamos la cronología de los mismos ya que no modifica ni los criterios ni los resultados).

Figura 14. Distribución de edad en probandus de sexo femenino.

	Media	Mediana	Desviación Estandar	Máximo	Mínimo
Mujer	45	44	11,07	84	23

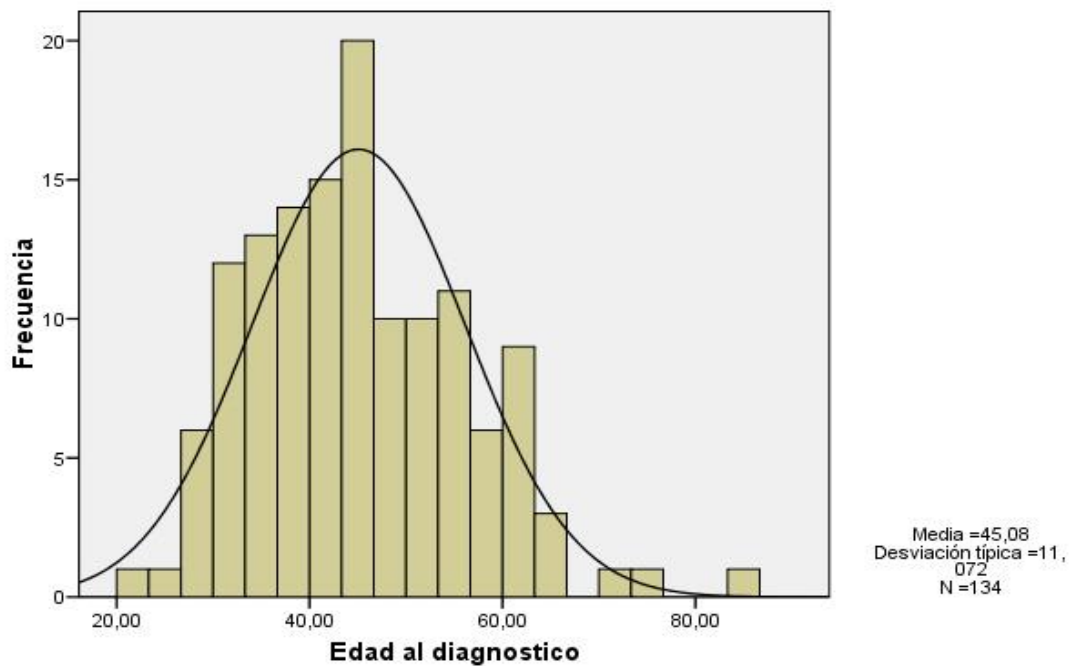


Figura 15. Histograma de la distribución de edad en los casos índices de sexo femenino.

La distribución de edad de las mujeres probandus no siguió una curva de normalidad, comprobada mediante la prueba de Shapiro-Wilks y Kolmogorov-Smirnoff ($p < 0,005$).

Desplazado fundamentalmente hacia la izquierda, lo que sitúa la mayor parte de los pacientes con edad menor a la media.

Se realiza un estudio descriptivo sobre las características histológicas, grado de diferenciación y estadio al diagnóstico, en el global de los 136 casos índices de sexo femenino diagnosticados de cáncer de mama en el momento de la valoración, en consulta de alto riesgo y cáncer familiar, de la idoneidad de la realización del estudio genético. Observándose de forma clara la existencia de un mayor porcentaje de casos diagnosticados en estadios medios, con tendencia mas a estadios iniciales que avanzados en los casos estudiados. Por otra parte es evidente la hegemonía del subtipo histológico Ductal Infiltrante sobre los otros subtipos, no detectándose tampoco diferencias significativas al realizar el análisis por subgrupos, teniendo en cuenta a los casos positivos, negativos y a las VSU o VSD.

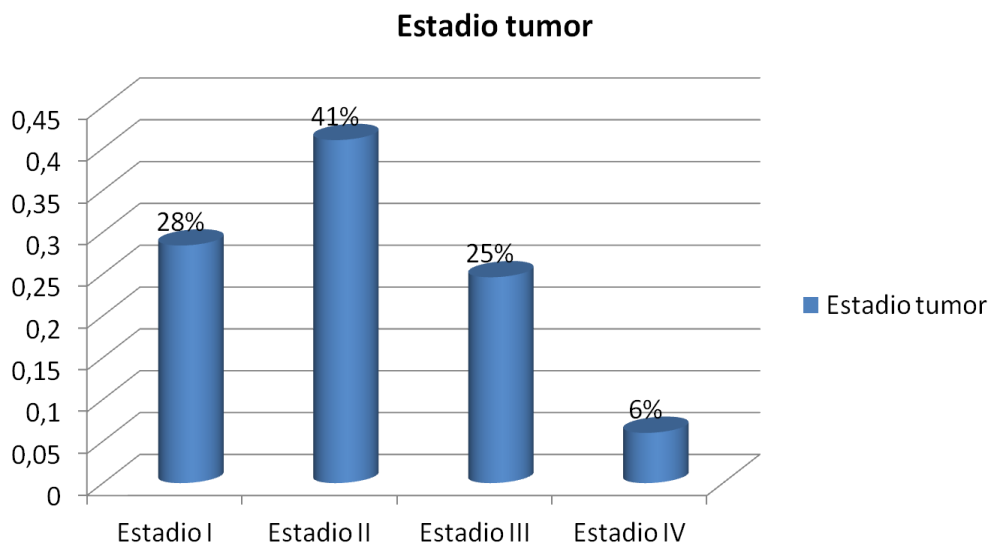


Figura 16. Distribución por frecuencias de los distintos estadios al diagnóstico del tumor.

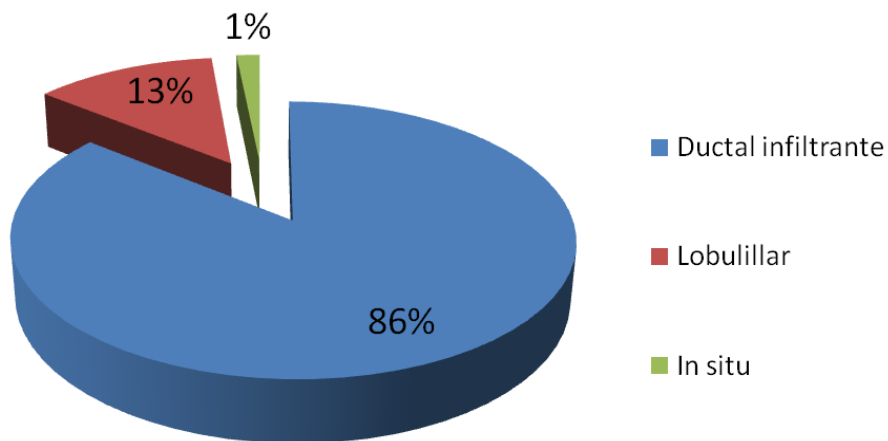


FIGURA 17. Distribución por Histología de los casos índices diagnosticados de Cáncer de mama

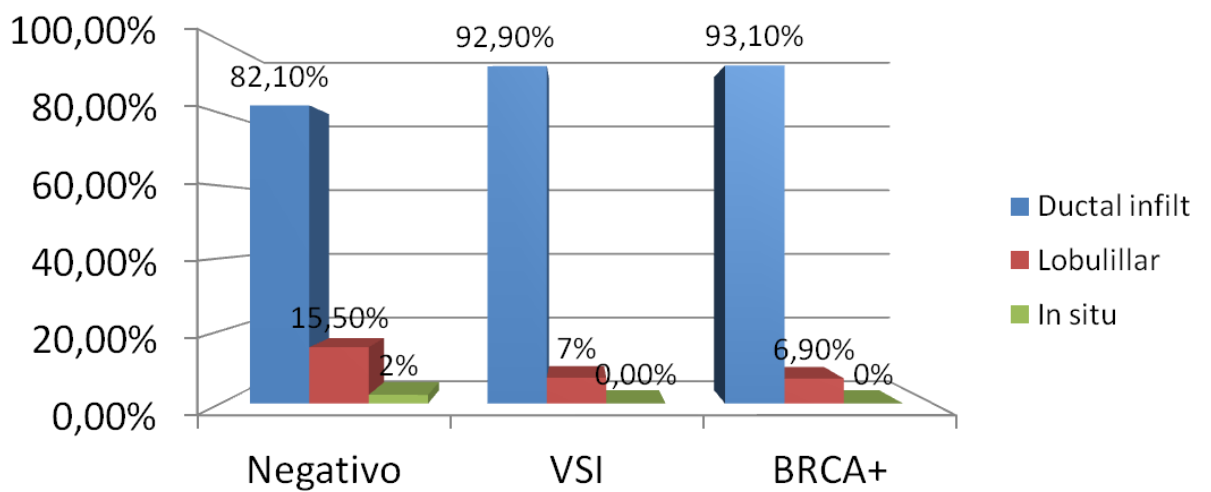
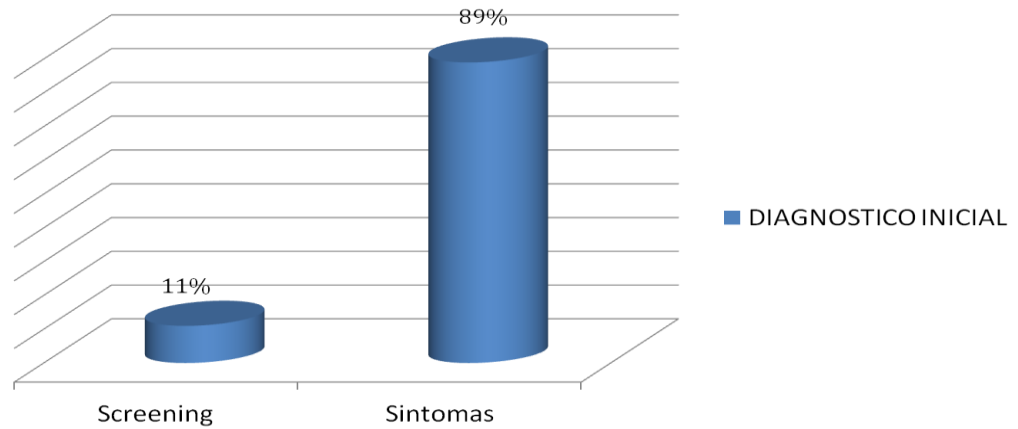


FIGURA 18. Frecuencia de subtipos histológicos distribuidos por resultado de prueba genética

Figura 19. Proporción de casos diagnosticados tras detección de sintoma frente a los casos diagnosticados por el programa de screening regional o de seguimiento por antecedentes clínicos.



Se comparan la procedencia clínica de las pacientes estudiadas, describiendo una diferencia llamativa entre aquellas que se diagnosticaron de forma casual al realizarse pruebas de screening, bien por estar en el periodo comprendido para la campaña de screening de la comunidad, o por realizarse pruebas de imagen por presentar riesgo clínico previo, frente a aquellas mujeres que se diagnosticaron por presentar clínica, que en la mayoría de los casos se detectó por la realización de la autoexploración mamaria.

4.2. ANÁLISIS CLÍNICO POR SUBGRUPOS:

4.2.1. Analisis de resultados de test genéticos.

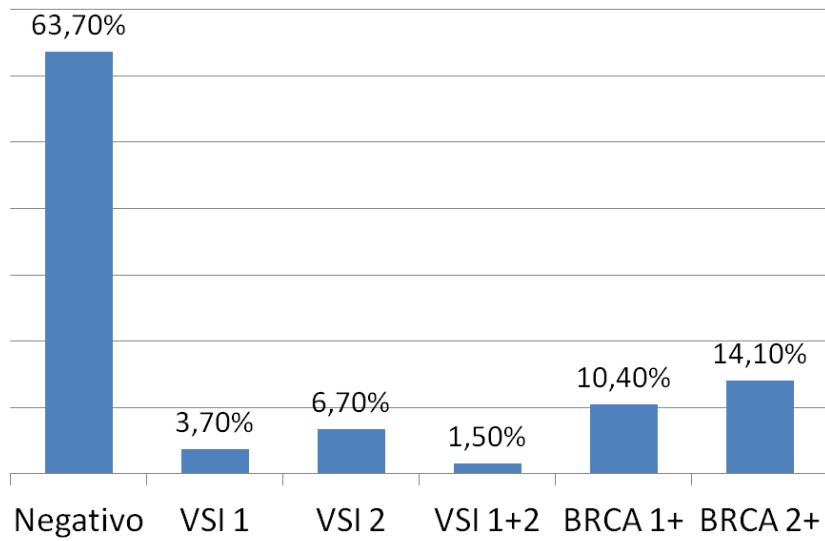


Figura 20: *Proporciones de resultados test genéticos.*

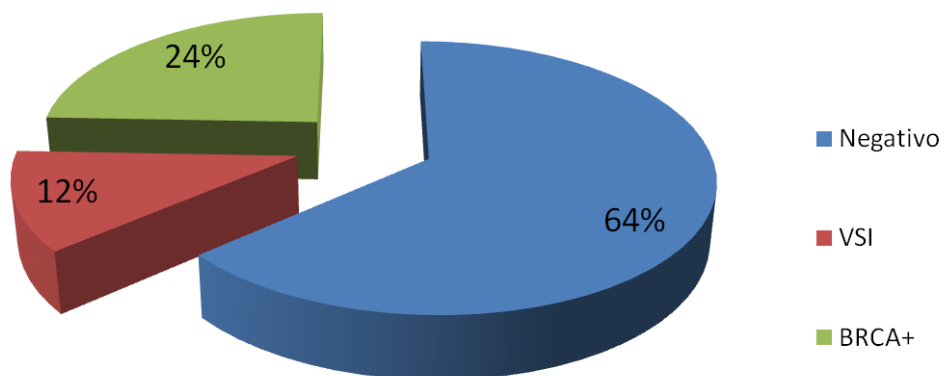


Figura 21. *Proporciones de resultados de test genéticos.*

4.2.2. Analisis por subgrupos por características diagnósticas.

A continuación se exponen los resultados obtenidos de la comparativa de los tres subgrupos que conlleva el estudio, clasificados en “Negativos”, “Positivos” y aquellos en los que se ha detectado una variante de significado desconocido (no neutral) en el contexto de una familia de alto riesgo.

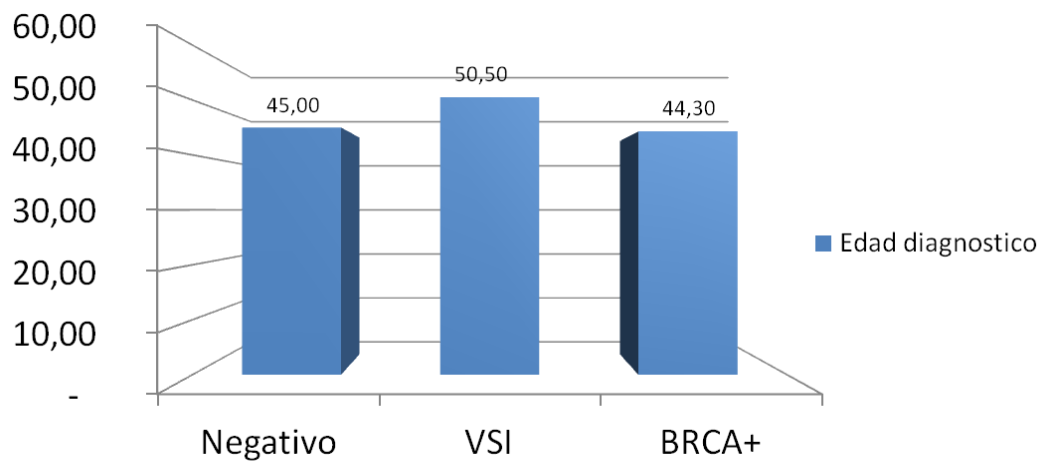
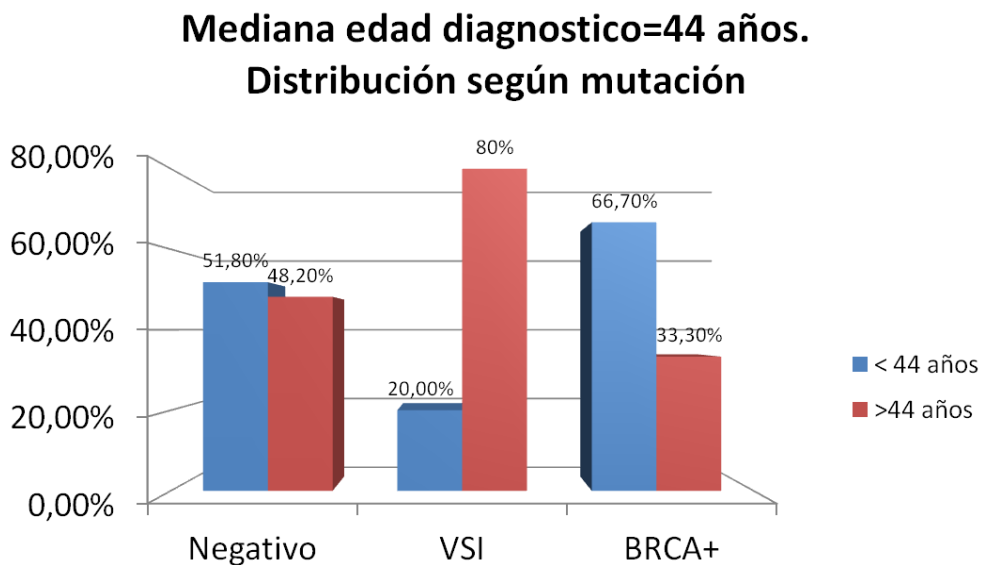


Figura 22 y 23. Distribución por edad de los tres grupos definidos por resultados.



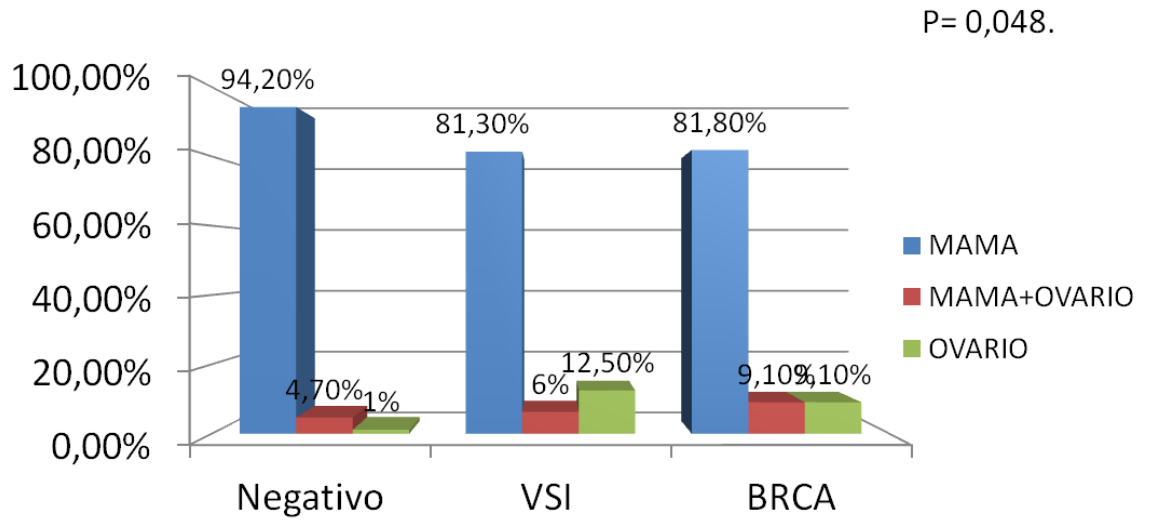


Figura 24. Distribución del tipo de tumor por subgrupos post-test en población estudiada.

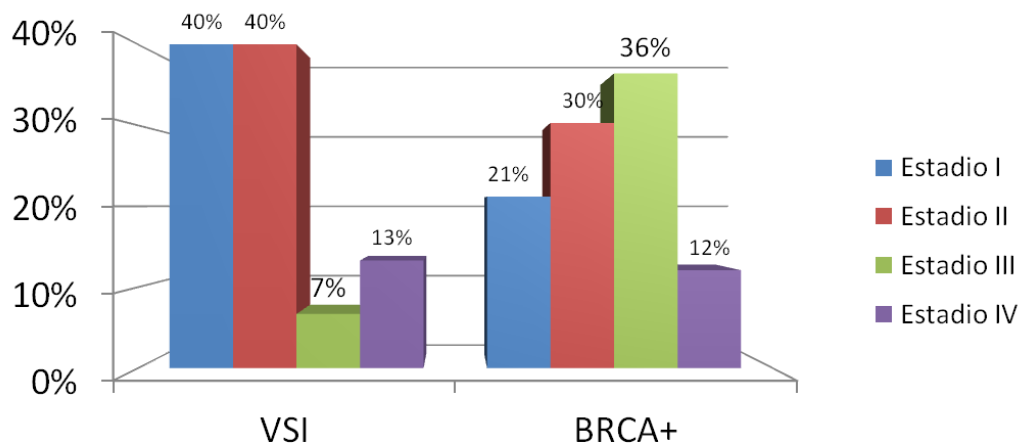


Figura 25. Clasificación de estadios al diagnóstico por subgrupos en no negativos.

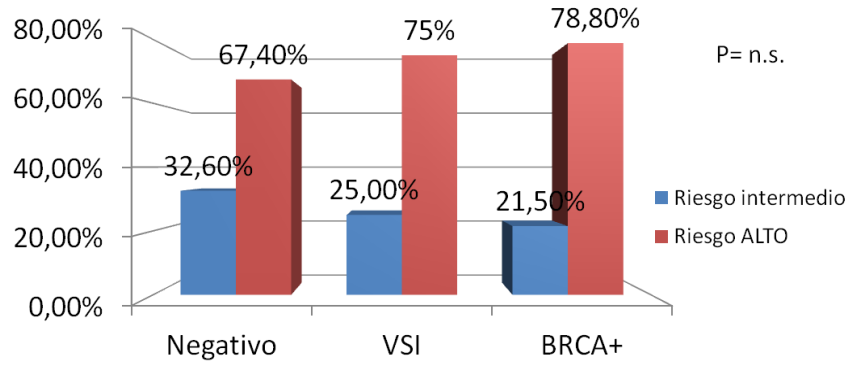


Figura 26. Proporción de casos con criterios de alto riesgo e intermedio distribuidos por resultado post-test.

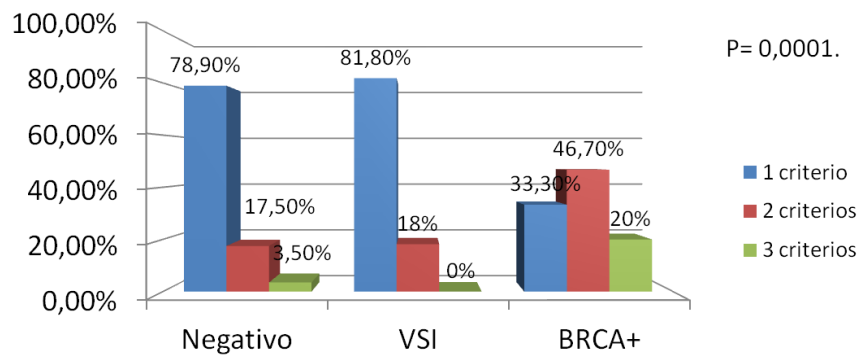


Figura 27. Clasificación, por subgrupos de resultado, en función del cumplimiento de uno, dos o tres criterios de alto riesgo.

Uno de los puntos que mas destaca en el presente estudio descriptivo, es la elevada proporción de casos que han sido diagnósticados por aparición de síntomas, en la mayoría de los casos, nódulo palpable, en comparación con los casos hallados por tecnica de screening (habitualmente mamografía- ecografía) a pesar de tratarse de mujeres con algun criterio de riesgo familiar.

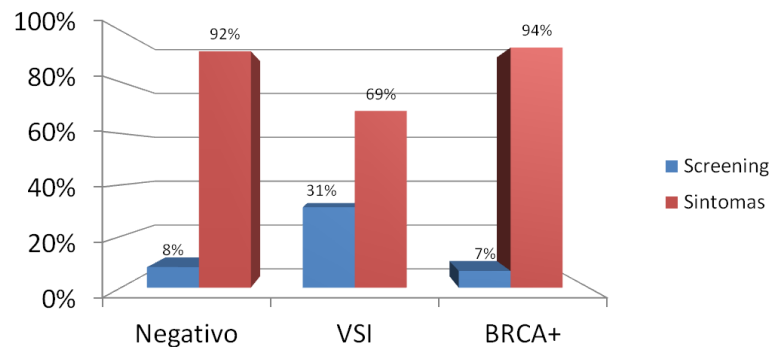
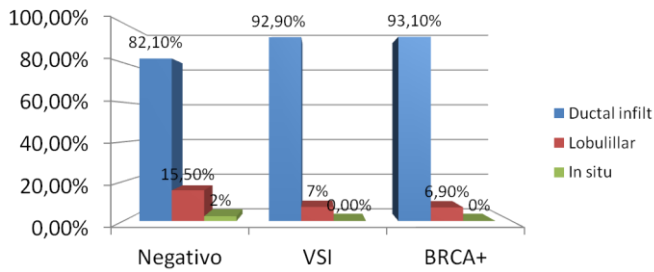
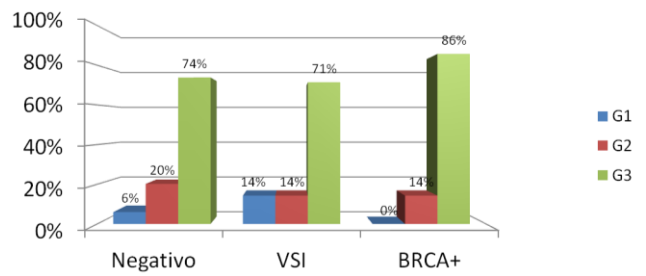
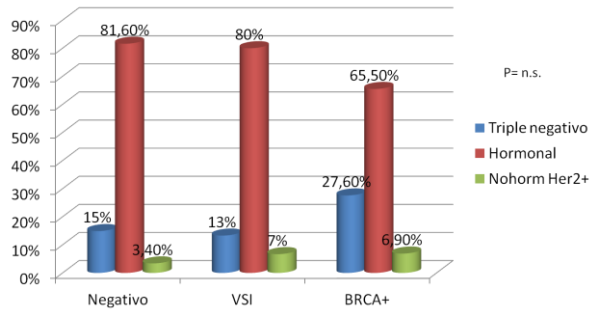


Figura 28. Proporción, clasificados por resultado de test, de pacientes diagnosticadas por screening vs sintoma alerta.

Es una reflexión que repetiremos en la discusión, la necesidad de realizar estudios con mayor numero de pacientes y valorar la necesidad de modificar el sistema actual de screening, que en el presente estudio, con la limitacion del volumen de pacientes estudiado, como poco hace dudar de su efectividad, entre otros motivos por la edad de inicio a nivel regional y la mas que demostrada disminución o “rejuvenecimiento” de la poblacion de riesgo para cancer de mama en el momento actual.

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.



Figuras 29,30 y 31. Distribución por subgrupos de las características histológicas e IHQ de los CM de alto riesgo .

4.2.3. Analisis por subgrupos por factores de riesgo.

La menarquía y menopausia , entre otros , ha sido clásicamente un binomio que ha marcado un fuerte factor de riesgo modificable. Característicamente en nuestro estudio no supone un dato con relevancia clínica, mas alla de describir la no existencia de diferencia por grupos, que la de establecer como edad media de menarquía en nuestro grupo de pacientes los 11 años. En cuanto a la menopausia, que tampoco mostraba diferencia por subgrupos, se ha desestimado su uso como factor de riesgo, ya que en la mayoría de los casos se producía una menopausia química que no podía suponer un factor de confusión.

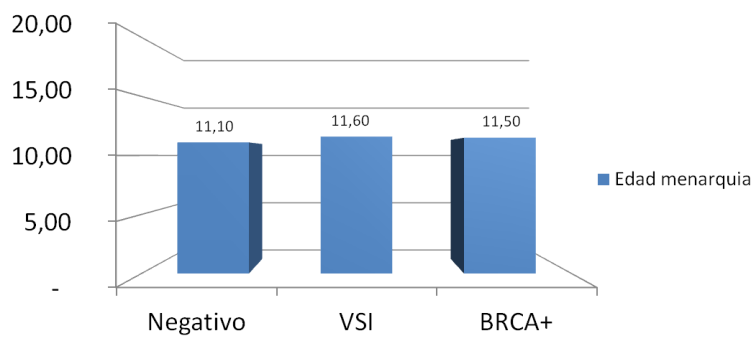


Figura 32. Distribución por resultado de edad media de menarquia.

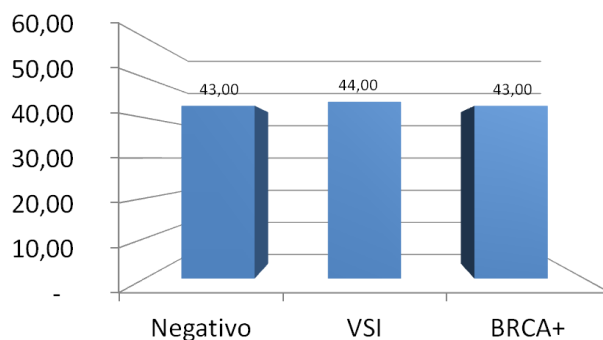


Figura 33. Distribución por resultado de edad media de menopausia..

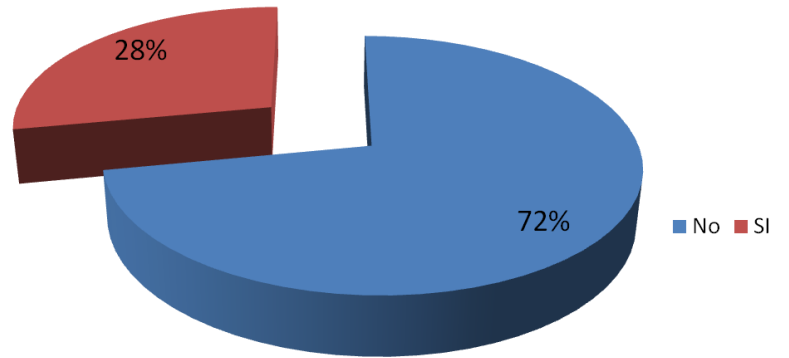
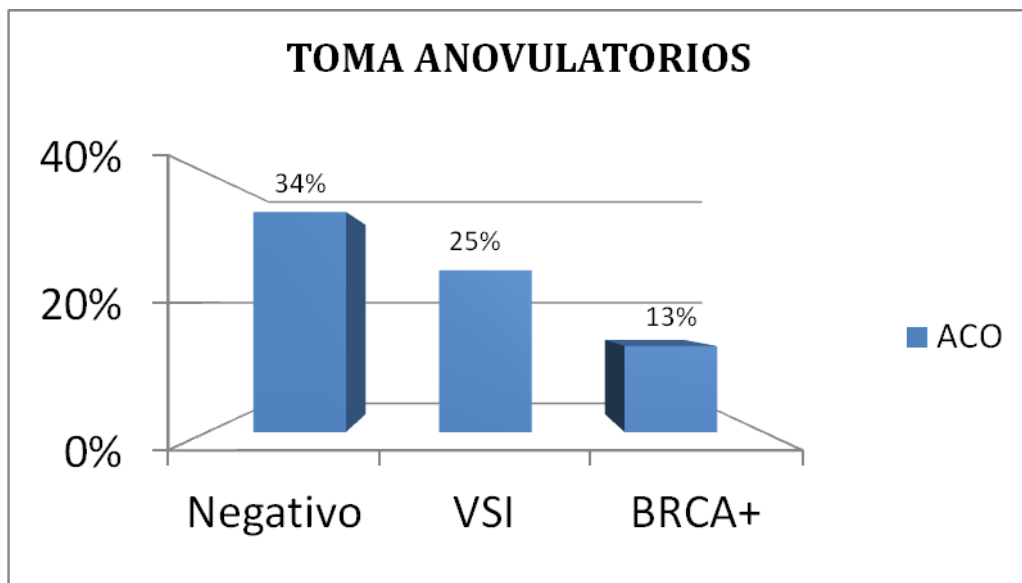


Figura 34 y 35. Distribución por subgrupos de toma de ANO.



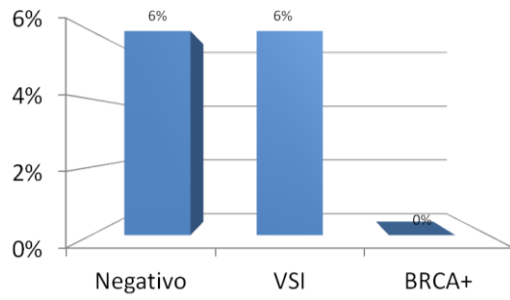


Figura36. Distribucion por subgrupos de ingesta de alcohol.

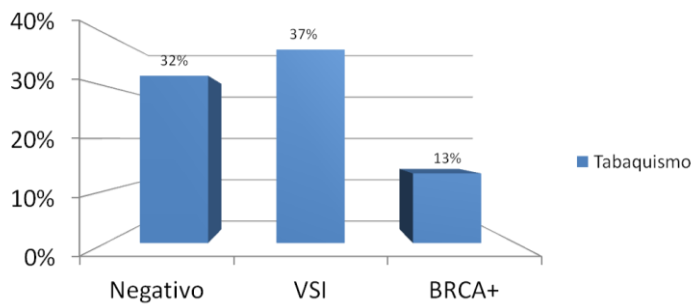


Figura 37. Distribucion por subgrupos de tabaquismo.

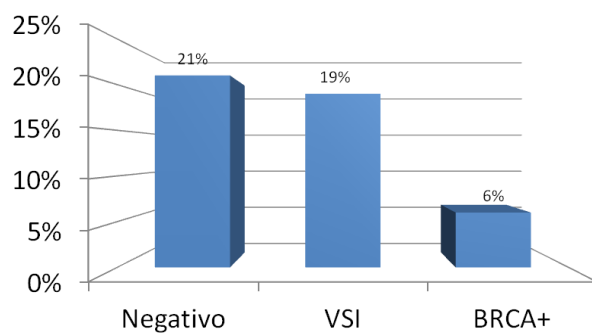


Figura 38. Distribucion por subgrupos de realización de ejercicio fisico

4.3. ANALISIS DE BRCA POSITIVOS.

MUTACIONES_BRCA 1
p.Val1713X, c.5137delG, en el EXÓN 18
Cys61Arg del E.5
E.11 p.ser561LeufsX11, c.1682delC
E.3 243delA
intron 18 IVS18+3A>C (nomenclatura tradicional) c.5152+3A>C (HGVS)
589-590del CT(p.S157X)
IVS5+1G/A
E.11 c.869T>G,p.L290X
c.3450delCAAG en el exon 11 del gen BRCA1.
Exon 11 c.3785>A (p.ser 1262*)
E.22 c.5389dup, p.Ser1797Phefs*33
c.5095C>T (p.Arg1699Trp)
c.1793delA

MUTACIONES_BRCA 2
c.2957delA, N986KfsX2
c.2957 del BRCA2
c.5116-5119 del (p.Asn1706Leufs*5)
E.11 1088instT
c.7235G>R en BRCA2
C.3922G/T, p.Glu1308X en el exon 11
c.7845+1G>R
c.7235G>A en el gen BRCA2 que genera el cambio R2336H
c.7984dupA en el E.18 (HGVS)
S2219X en el E.11
. Exón 11: 6503delTT, stop2098 (nomenclatura BIC), c.6275_6276delTT, p.Leu2092Profs (nomenclatura HGVS)
E.11 c.4963delT;p.Tyr1655Fs
c.4859inssA,p.N1544f
c.3036_3039delACAA en el E.11
E.13 c.7237G>A
c.9382C>T
c.7845+1G>R

4.3.1. ESTUDIO COMPARATIVO DE PORTADORES BRCA.

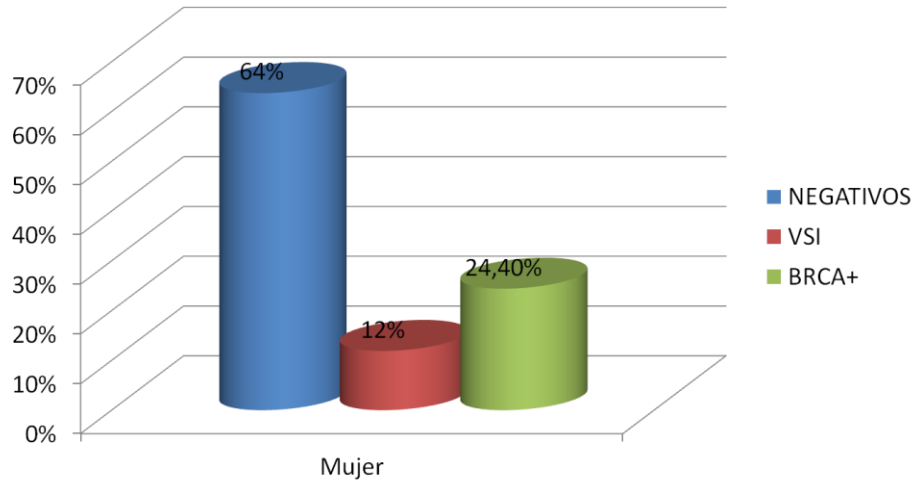


Figura 39. Proporción de resultados de estudios de población de alto riesgo.

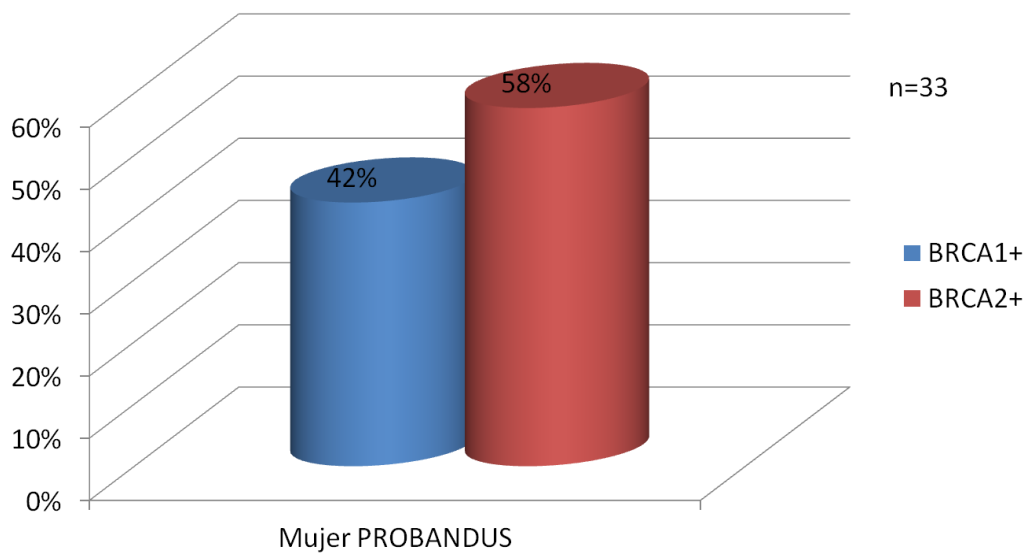
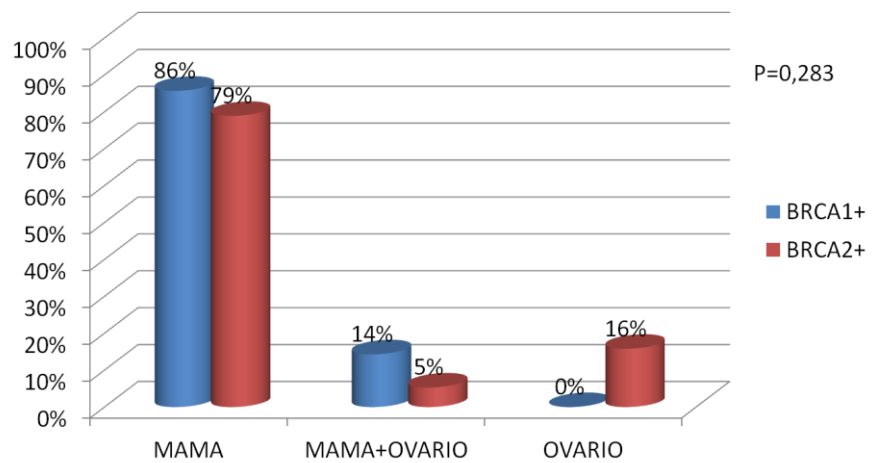
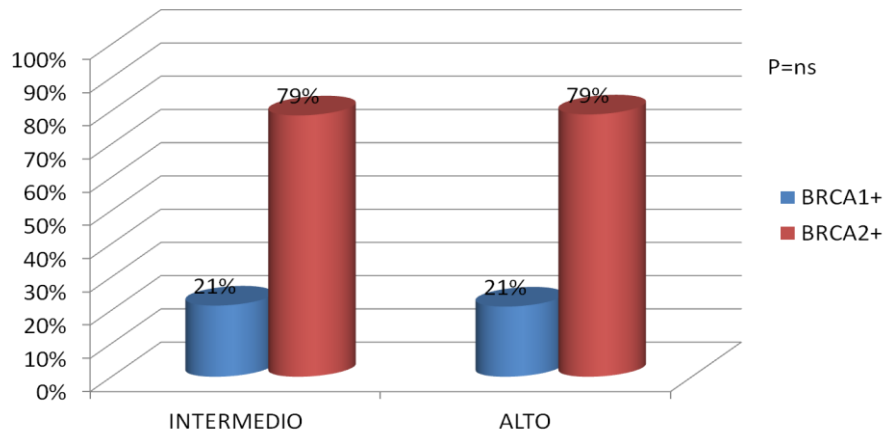
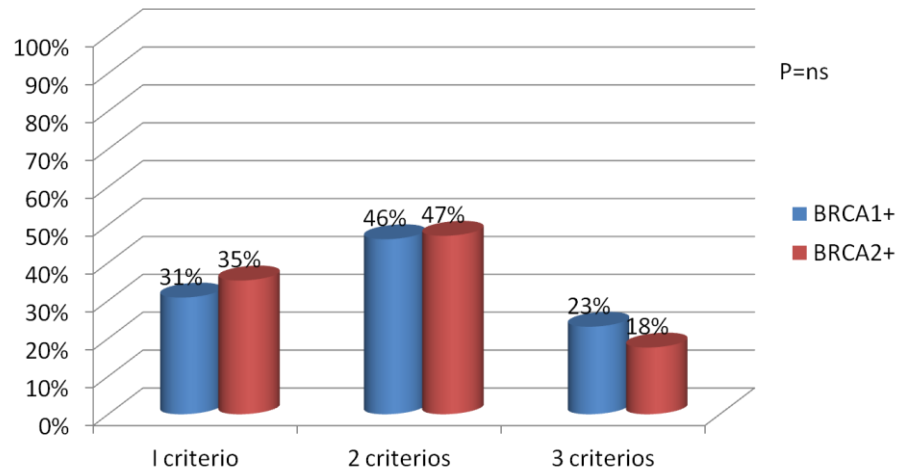


Figura 40. Proporción de BRCA1 y BRCA2.

A diferencia de los estudios publicados, en distintos grupos poblacionales, la proporción de resultados positivos en BRCA2 es mayor que de BRCA1 en nuestra población. No hubo diferencia por edad.



Figuras 41,42 y 43. Estudios descriptivos de riesgo.

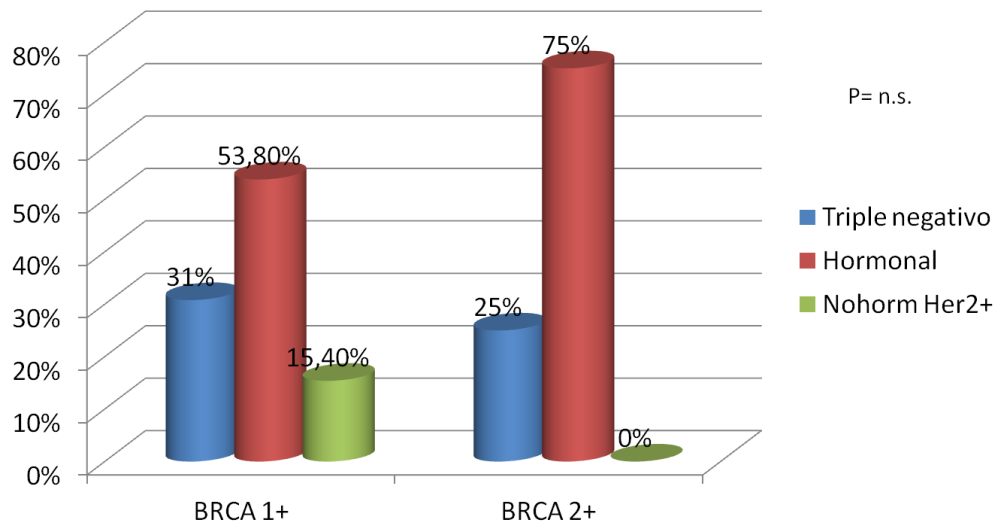


Figura 44. IHQ por BRCA.

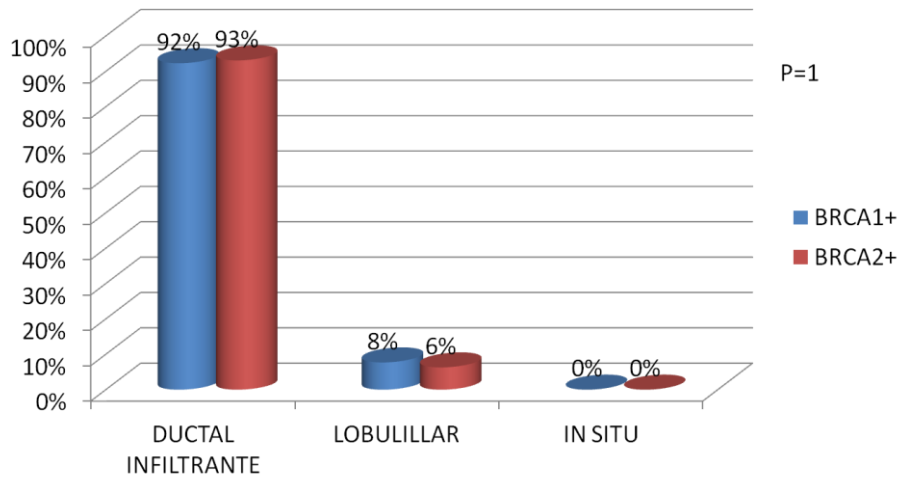


Figura 45. Clasificación de BRCA por estudio histológico.

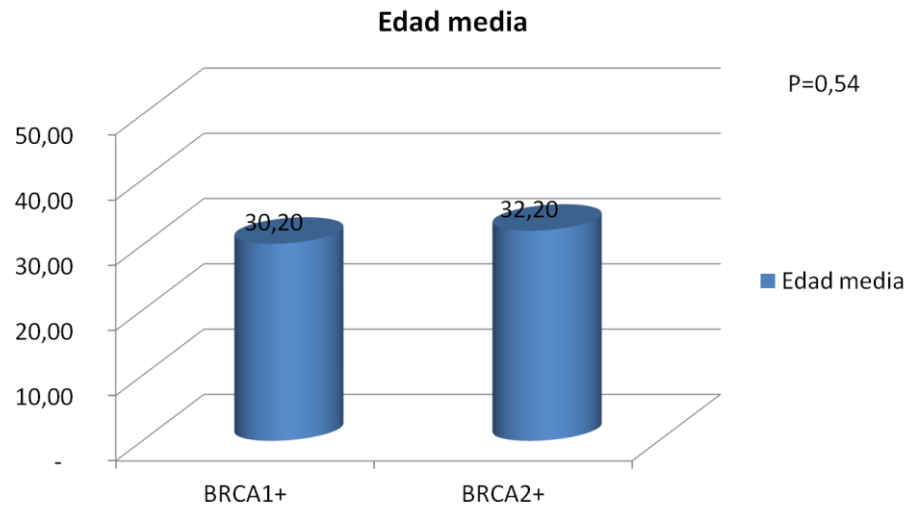


Figura 46. Comparativa por edad en grupo de BRCA.

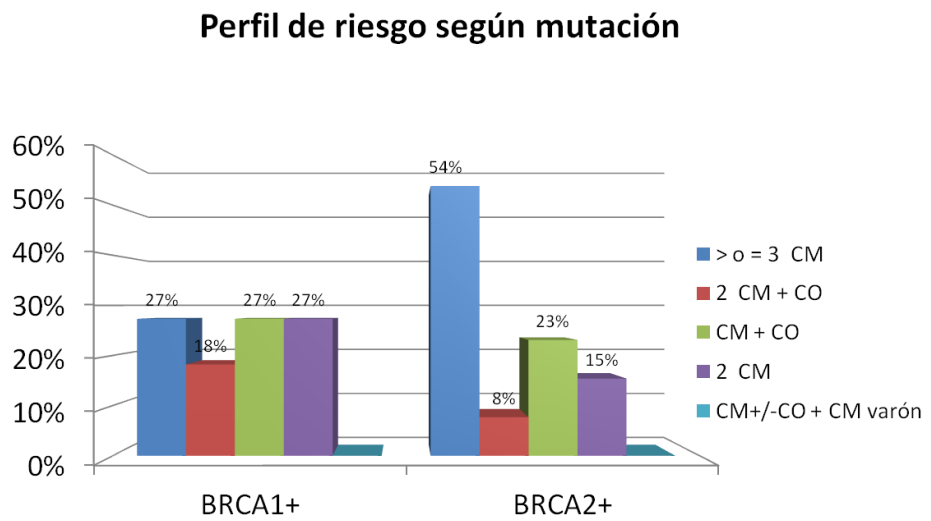


FIGURA 47. Perfil de riesgo por subgrupos de BRCA.

Estadio del tumor según BRCA

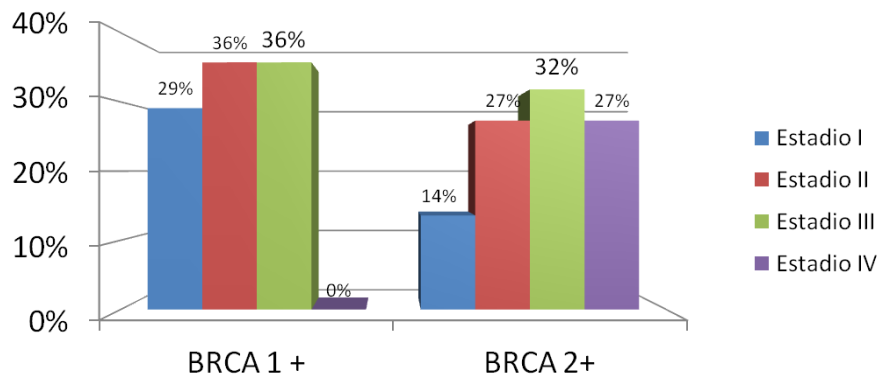
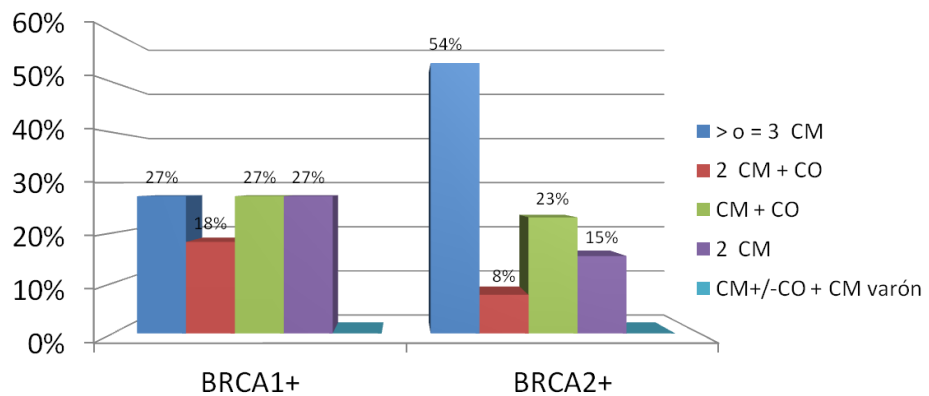
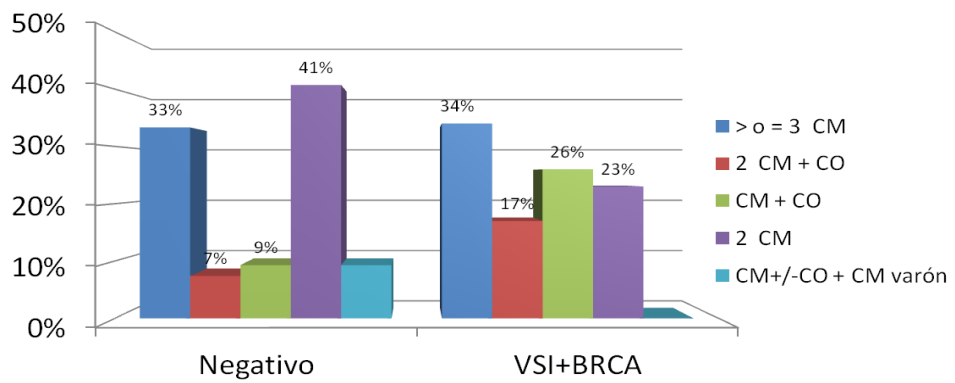


Figura 48. Clasificación por estadio



Figuras 49 y 50. Estudio de criterios de riesgo.

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

5. DISCUSIÓN

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

5.1. SINDROME DE CANCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO:

Aproximadamente un 3 a 5% de los casos de cáncer de mama (CM) y un 10% de los casos de cáncer de ovario (CO) se asocian a mutaciones germinales en los genes BRCA1 y BRCA2, responsables del síndrome del Cáncer de Mama y Ovario hereditario (CMOH)¹⁶⁹. Las estimaciones de la penetrancia varían considerablemente en función del contexto en el cual se analice. Las estimaciones de la penetrancia de las mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 que se reportaron inicialmente estaban sobreestimadas dado que estaban basadas en familias de alto riesgo seleccionadas por la presencia de múltiples casos afectos por neoplasias de mama y ovario¹⁷⁰. Además la penetrancia también puede ser variable dentro de mujeres de una misma familia portadoras de la misma mutación en BRCA1/2, lo que sugiere que no hay un riesgo exacto aplicable a todos los individuos portadores de mutación, y que éste riesgo puede estar influenciado por heterogeneidad alélica, genes modificadores y cofactores ambientales y hormonales¹⁷¹.

5.1.1. Criterios de selección para el estudio de los genes BRCA 1 y 2.

A diferencia del Cáncer Colorectal Hereditario No Poliposico en el que se establecieron los criterios de Bethesda y Amsterdam para unificar los criterios de estudio a nivel internacional, en el síndrome del CMOH no existen unos criterios aprobados por consenso a nivel internacional, y estos pueden variar entre países basandose en la prevalencia de mutaciones.

Los criterios de selección de familias para estudio de los genes BRCA1/2 adoptados por los diferentes grupos de trabajo a nivel nacional e internacional suelen ser bastante similares, y por lo general la mayoría de ellos comparten unas tasas de detección de mutaciones, que suelen ser como mínimo superiores al 10%.

Dichos criterios deben ser revisados y modificados periódicamente en función de la evidencia y conocimiento que se vayan adquiriendo. Se han publicado

diversos estudios para determinar la tasa de detección de mutaciones en BRCA1 en pacientes con un CM con fenotipo triple negativo. La presencia de un CM triple negativo, asociado a una historia familiar de CM o CO, y/o a una edad joven al diagnóstico < 40 años, se asocia con una tasa elevada de detección de mutación patogénica en BRCA1¹⁷²⁻¹⁸⁰. El fenotipo triple negativo se debe considerar e incluir entre los criterios de selección a estudio genético, si bien aún son necesarios más estudios para poder definir de forma más específica las características a tener en cuenta para la inclusión (número de familiares afectados, edad al diagnóstico, tipo de agregación familiar).

Figura 51. Criterios de Alto riesgo para SCMOH.

1. Familias con un único caso de cáncer de mama.
 - a) Ca de mama < 30 años.
 - b) Ca mama primario bilateral < 40 años
 - c) Ca mama + Ca ovario en la misma paciente.
2. Familias con dos casos en familiares de primer grado.
 - a) 2 casos de Ca de mama o Ca de mama bilateral (al menos uno dgco < 50 años).
 - b) 2 o más casos de Ca ovario (independiente de la edad)
 - c) Un Ca mama y un Ca de ovario en dos familiares (independiente de la edad)
 - d) Un caso de Ca mama en varón y otro de mama/ovario en mujer (independiente de la edad).
3. Familias con 3 o más casos afectados por Ca mama, al menos dos en familiares de primer grado.

5.2. IMPORTANCIA DEL DIAGNOSTICO GENETICO:

El rastreo de mutaciones en los genes de alta susceptibilidad al cáncer tiene como objetivo la identificación de individuos con alto riesgo de desarrollar la enfermedad, para poder aplicar unos protocolos clínicos específicos. Se justifican los tests genéticos en aquellos casos donde la probabilidad de encontrar una mutación en el individuo es superior al 10% y cuando los resultados de la prueba puedan influir sobre el manejo clínico del paciente o su familia.

Los individuos con alta probabilidad de ser portadores de mutación en BRCA1 y/o BRCA2 , detectados por los criterios de selección deben ser informados en una unidad de consejo genético sobre la prueba, sus implicaciones, los posibles resultados y las consecuencias. Posteriormente, deben tomar la decisión sobre la realización o no del test genético de forma personal y autónoma. Cuando el paciente opta por la realización de la prueba genética debe conocer las posibilidades del resultado.

5.2.1. Resultado positivo.

Implica la identificación de una mutación patogénica germinal en BRCA1/2. Los individuos con este resultado serán informados sobre las medidas clínicas a las que pueden optar. Además, los familiares pueden ser informados y alentados a realizarse la prueba genética que confirme o descarte la mutación en su DNA, ya que los hijos y hermanos tienen un 50% de posibilidades de ser portadores del gen mutado.

Cuando el test genético se realiza en los familiares de los probandos portadores de la mutación, los resultados pueden dar un “verdadero positivo”, en caso de que el individuo sea portador de la misma mutación patogénica, o “verdadero negativo”, cuando el individuo no ha heredado la mutación y, por tanto, presenta el mismo riesgo de cáncer que la población general.

RIESGO DE CM Y/O CO EN PORTADORAS DE MUTACIÓN EN LOS GENES BRCA1/BRCA2: Resultados de un metaanálisis en el que se incluyeron datos de 22 estudios de pacientes con CM o CO no seleccionados por su historia familiar, se ha estimado que el riesgo acumulado a los 70 años para CM es del 65% (95%CI=44-78%) en BRCA1 y del 45% (95%CI=31-56%) en BRCA2 , y para CO del 39% (95%CI=18- 54%) para BRCA1 y del 11% (95%CI=2-19%) para BRCA2¹⁸¹.

RIESGO DE OTRAS NEOPLASIAS:

BRCA1 El riesgo acumulado de un carcinoma primario de peritoneo 20 años después de una ooforectomía es del 3.9% al 4.3% ¹⁸⁵. El carcinoma de trompas de Falopio es una neoplasia asociada al espectro de tumores relacionados con BRCA1, con un riesgo relativo muy elevado (RR ~120)¹⁸⁶. El riesgo de cáncer de próstata en portadores de mutación en BRCA1 está incrementado con un riesgo relativo de aproximadamente 1.8, y con una edad al diagnóstico similar a la población general, aunque este riesgo puede variar de forma significativa en función de la localización de la mutación¹⁸⁷. La mayoría de estudios coinciden en la observación de un incremento del riesgo de cáncer de mama en varones (Riesgo acumulado a 70 años de 1.2%) ¹⁸⁸ y de páncreas¹⁸⁹. En diversos estudios se han reportado de forma inconsistente un incremento del riesgo de otras neoplasias. Por ejemplo, estudios iniciales sugerían un mayor riesgo de cáncer colorrectal que luego no ha podido ser replicado. El Breast Cancer Linkage Consortim ha reportado un mayor riesgo de neoplasia de páncreas (RR~ 2.3), cuerpo uterino (RR ~2.6) y cervix (RR ~3.7)

BRCA2 Se ha reportado un riesgo incrementado de carcinoma de trompas de Falopio y de carcinoma papilar seroso de peritoneo, si bien la frecuencia de estas neoplasias es inferior que en portadoras de mutación en BRCA1¹⁸⁵. Varones portadores de mutación en BRCA2 tienen un riesgo acumulado de CM a los 70 años del 6% ¹⁸⁸, y un mayor riesgo de cáncer de próstata (riesgo relativo de 4.6), que se puede presentar a edades más jóvenes que en la población general¹⁹⁰. La presencia de cáncer de páncreas en una familia con CM puede ser un factor predictivo de la presencia de mutación en

BRCA2¹⁹¹. Se ha reportado un incremento del riesgo relativo de neoplasia de páncreas (RR~ 3.5), vesícula biliar y vías biliares (RR~5.0), gástrico y melanoma (RR~2.6)¹⁹². Como con BRCA1, estudios iniciales sugerían un mayor riesgo de cáncer colorrectal que no se ha confirmado en estudios posteriores. Riesgo de CM Contralateral (CMC) La mayoría de estudios publicados son estudios retrospectivos e incluyen un número pequeño de casos¹⁹³⁻¹⁹⁸. En general, las estimaciones más elevadas del riesgo de CMC en pacientes portadoras de mutación son en pacientes seleccionadas en clínicas de alto riesgo, con un riesgo acumulado a 10 años de CMC aproximado del 30 al 40%. Recientemente, Malone et al han publicado los resultados del primer estudio caso-control poblacional¹⁹⁹ que estima el riesgo de CMC en mujeres portadoras de mutación en BRCA. Se incluyen 705 casos de CMC, y como controles 1398 casos de CM unilateral diagnosticadas antes de los 55 años. Se realiza el estudio de BRCA a todas las mujeres incluidas. BRCA1 tiene un riesgo incrementado 4,5 veces (95% CI, 2.8 -7.1) de un CMC y BRCA2 tiene un riesgo de 3,4 veces (95% CI, 2.0- 5.8). Es un riesgo elevado, pero debido a que se trata de un estudio poblacional es un 10% a un 15% inferior al obtenido en estudios previos realizados a partir de series de pacientes de clínicas de alto riesgo. El riesgo de CMC depende de la edad al diagnóstico y del gen mutado^{199,200}. El riesgo relativo de CMC para BRCA1 incrementa cuanto más joven es la edad al diagnóstico del CM. Así por ejemplo, si el diagnóstico del primer CM es a los 25-29 años, el riesgo acumulado de CMC es del 16% a 5 años y del 29% a los 10 años. Una mujer de edad similar pero que no sea portadora de mutación tiene una probabilidad de desarrollar un CMC del 3% y 6% a 5 y 10 años, respectivamente¹⁹⁹. Sin embargo, para BRCA2 no se observó un riesgo específico en función de la edad. En el estudio de Malone et al, una paciente con CM antes de los 55 años portadora de mutación en BRCA1 y 2, tiene una probabilidad de desarrollar un CMC a 10 años del 20% y 15%, respectivamente.

5.2.2. Resultado negativo.

Cuando no se detecta ninguna mutación patogénica o de significado desconocido en los genes estudiados. Esto no da una respuesta definitiva sobre si el cáncer es o no hereditario. En familias de alto riesgo otros miembros de la

familia podrían tener un mayor riesgo que el de la población general, por lo que se establecerán unas pautas de seguimiento. En este caso no se puede ofrecer el diagnóstico a otros familiares. Se asume que el riesgo que presentan es el mismo que el de la población general, pero podrían estar afectados otros genes diferentes a los estudiados.

RIESGO DE CM EN FAMILIAS CON CRITERIOS CLÍNICOS DE CMOH EN LAS QUE NO SE HA DETECTADO UNA MUTACIÓN EN LOS GENES BRCA:

Hasta en un 75-80% de las familias que cumplen criterios sugestivos de una predisposición hereditaria al CMOH no es posible identificar la mutación responsable, lo que implica que el resultado genético sea indeterminado o no informativo. Ante un resultado indeterminado, la estimación del riesgo debe realizarse a partir de la valoración de sus antecedentes personales y familiares de neoplasia, así como de la evaluación de otros factores de riesgo. Resultados de dos estudios estiman que mujeres con una historia familiar significativa de CM en las que no se detecta mutación en BRCA tienen un riesgo relativo de CM de aproximadamente 3.1-4^{182,183}. Kauff et al en un estudio prospectivo incluyeron 165 familias en las que al menos había 3 casos de CM con al menos un CM diagnosticado antes de los 50 años en las que no se había logrado detectar una mutación en BRCA1 ni en BRCA2. En esta cohorte, como era esperable, se observó un riesgo incrementado de CM (95% CI, 1,88-4,89).

Las mujeres de edad < 40 años son las que tienen una mayor elevación en el riesgo de CM (SIR~14.9 (9 8.30 – 26.6)), comparado con el riesgo poblacional a esa edad. Después de los 40 años, el RR de CM es menos elevado (SIR ~3.6-4.23).

RIESGO DE CO EN FAMILIAS CON CRITERIOS CLÍNICOS DE CM HEREDITARIO EN LAS QUE NO SE HA DETECTADO UNA MUTACIÓN EN LOS GENES BRCA:

En familias de alto riesgo en las que sólo hay casos de CM (no antecedentes de CO), la tasa de detección de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 es aún inferior, de aproximadamente un 15,4%¹⁸⁴. Un aspecto importante desde un punto de vista clínico es el conocimiento de si las mujeres que pertenecen a estas familias tienen un mayor

riesgo de CO. Kauff et al, realizaron un estudio prospectivo para estudiar el riesgo de CM y CO en familias con solo casos de CM en las que no se había logrado detectar una mutación en BRCA1 ni BRCA2. En este estudio se incluyeron 165 familias en las que al menos había 3 casos de CM con al menos un CM diagnosticado antes de los 50 años. En esta cohorte se observó como era esperable un riesgo incrementado de CM (SIR 3.13; 95% CI, 1,88-4,89).

MANEJO CLÍNICO DE MUJERES QUE PERTENECEN A FAMILIAS EN LAS QUE NO SE HA DETECTADO MUTACIÓN EN BRCA

Hay familias con múltiples casos de CM en las cuales no se ha logrado identificar una mutación en los genes BRCA1 y BRCA2. En estos casos se considera que el resultado es indeterminado o no informativo, y existen diversas posibilidades que puedan explicar este resultado: la agregación familiar es casual; el individuo estudiado es una fenocopia; existe una predisposición hereditaria en la familia pero está asociada a un gen de predisposición al cáncer todavía no identificado; o la técnica actualmente utilizada no ha sido capaz de detectar aquella mutación en BRCA1 o BRCA2.

Así por ejemplo, grandes deleciones y mutaciones en zonas no codificantes en el promotor y en zonas reguladoras no se detectan por secuenciación convencional. Es importante enfatizar la diferencia entre familias con solo CM (hasta 4 o 5 casos de CM, pero sin casos de CO ni CM en varones) de aquellas con CM y ovario hereditarios. Estudios de linkage demuestran que sobre el 90% de CM-CO hereditarios (en los que hay múltiples casos de CM edad joven y al menos un caso de CO) es atribuible a mutaciones en BRCA1 y BRCA2.

Desde el punto de vista de manejo clínico, se recomienda tratar como si hubiera una mutación en BRCA1 o 2 no identificada, si en la familia hay 3 o más casos de CM antes de los 60 y algún otro factor de riesgo como por ejemplo: CO en la familia,

o varón con CM, o más de 6 casos de CM < 60 a, o múltiples tumores asociados a BRCA en la familia (próstata, páncreas, melanoma).

5.2.3. Resultado No informativo.

En este caso no aparecen mutaciones patogénicas en el individuo, pero se encuentran variantes de significado desconocido (UVs o VSD). Este tipo de mutación no se sabe en qué medida afectan a la expresión y/o funcionalidad de la proteína, por lo que el resultado del análisis no es concluyente. De ahí la importancia de caracterizar estas variantes para proporcionar un consejo genético mas preciso y veraz a los pacientes.

Cuando un paciente recibe un resultado positivo del análisis genético , existen diferentes opciones clínicas que se pueden seguir: vigilancia periódica, protocolos de quimiopreención y cirugía profiláctica. Es necesario discutir con el paciente todas las alternativas existentes, con sus beneficios e inconvenientes para que tome una decisión sobre el protocolo a seguir.

5.3. RESULTADOS EN FUNCION DEL ESTILO DE VIDA Y FACTORES DE RIESGO.

Dos estudios sugieren que la obesidad especialmente en edades jóvenes pueda ser un factor de riesgo en portadoras de mutación. La actividad física y un peso normal durante la menarquia y bajo peso a los 21 años se han asociado con un retraso en la edad al diagnóstico en portadoras de mutación 145. Otro estudio sugiere que la pérdida de peso entre los 21-30 años pueda reducir el riesgo de CM 146. El consumo de alcohol no parece incrementar el riesgo de CM en portadoras de mutación en BRCA1/2 ¹⁴⁷. La ligadura de trompas para la esterilización es un factor protector del CO en BRCA 148, que probablemente pueda explicarse porque el lugar donde predominan los canceres ocultos es en la parte distal de la trompa

de Falopio más que en los ovarios 112. Sin embargo todavía no está claramente definido el impacto que el estilo de vida pueda tener en portadoras de mutación, y son necesarios más estudios que evalúen estos factores.

5.4. MUTACIONES POBLACION ESTUDIADA:

La complejidad y extrema laboriosidad del estudio de ambos genes y la escasa prevalencia de mutaciones en la población hacen necesaria la selección cuidadosa de mujeres y familias en las que existe una probabilidad razonable de detectar una alteración.

Pese a que no existen criterios de selección unánimemente establecidos, los principales criterios de riesgo de predisposición heredada son: un alto número de casos de CM y especialmente de CO en la familia, una edad precoz de diagnóstico y la presencia de CM masculino, entre otros. El mayor porcentaje de mutaciones apareció en familias con tres o más casos de CM y de CO, con predominio de mutaciones en el gen BRCA2. Esta relación no se ha constatado con algunos estudios donde parece que el predominio es mayor en BRCA1, por lo que no permite eludir el estudio de BRCA2 en familias con casos de CO.

Tanto el tipo de asociación como la mayor probabilidad de detectarse una mutación en familias con un mayor número de miembros afectados son semejantes a los obtenidos en otros estudios de familias españolas²⁰¹⁻²⁰³. En el presente estudio, la alta frecuencia de mutaciones encontrada en familias sólo con dos mujeres afectas (27% en BRCA1 y 15% en BRCA2) puede deberse a factores no conocidos específicos de estas familias (presencia de CM bilateral, características anatomopatológicas del tumor, otras neoplasias asociadas en la familia), que podrían suponer un indicador de probabilidad de mutación, señalando la conveniencia de ofrecer el análisis molecular a estos grupos familiares²⁰⁴. No obstante, los resultados podrían estar sesgados debido al bajo número de familias analizadas en este subgrupo y parece necesario el estudio de una serie mayor de familias con dos afectas para la determinación real del riesgo.

La presencia de CO es un indicador de probabilidad de mutación heredada, incluso en familias con pocas mujeres afectas, como se ha evidenciado en otros estudios²⁰⁵. La frecuencia de mutaciones en familias con CM masculino como caso índice fue de ningún caso positivo. Aunque en la literatura consultada parece ser un buen indicador de probabilidad de predisposición hereditaria, casi específicamente ligada a mutaciones en BRCA2 (16), en nuestro estudio no se confirma, probablemente debido al bajo número de casos masculinos valorados.

En el presente estudio, se indica únicamente la frecuencia de aquellas variantes detectadas que puedan ser consideradas patológicas (causan codones de parada o errores en la transcripción o alteran la función de la proteína), pero son relativamente frecuentes las sustituciones de nucleótidos que causan el cambio de aminoácidos. La interpretación de su posible efecto patológico es difícil, puesto que dependiendo del dominio funcional de la proteína en el que se localicen pueden o no alterar su función. Para determinar su efecto deben realizarse diversos estudios, algunos de ellos de carácter altamente experimental, fuera del ámbito de la rutina diagnóstica.

MUTACIONES_BRCA 1
p.Val1713X, c.5137delG, en el EXÓN 18
Cys61Arg del E.5
E.11 p.ser561LeufsX11, c.1682delC
E.3 243delA
intron 18 IVS18+3A>C (nomenclatura tradicional) c.5152+3A>C (HGVS)
589-590del CT(p.S157X)
IVS5+1G/A
E.11 c.869T>G,p.L290X
c.3450delCAAG en el exon 11 del gen BRCA1.
Exon 11 c.3785>A (p.ser 1262*)
E.22 c.5389dup, p.Ser1797Phefs*33
c.5095C>T (p.Arg1699Trp)
c.1793delA

MUTACIONES_BRCA 2
c.2957delA, N986KfsX2
c.2957 del BRCA2
c.5116-5119 del (p.Asn1706Leufs*5)
E.11 1088insT
c.7235G>R en BRCA2
C.3922G/T, p.Glu1308X en el exon 11
c.7845+1G>R
c.7235G>A en el gen BRCA2 que genera el cambio R2336H
c.7984dupA en el E.18 (HGVS)
S2219X en el E.11
. Exón 11: 6503delTT, stop2098 (nomenclatura BIC), c.6275_6276delTT, p.Leu2092Profs (nomenclatura HGVS)
E.11 c.4963delT;p.Tyr1655Fs
c.4859inssA,p.N1544f
c.3036_3039delACAA en el E.11
E.13 c.7237G>A
c.9382C>T
c.7845+1G>R

Por último, ambos genes presentan numerosos polimorfismos, variaciones en la secuencia con un cierta frecuencia mínima en la población general ($\geq 1\%$) y no asociados a patología.

Globalmente, hasta un 70% de las familias estudiadas no presentó una mutación en BRCA1 o BRCA2, aunque el porcentaje varió según el grupo de riesgo. La ausencia de detección puede deberse a la incapacidad de las técnicas actuales para la detección de todas las alteraciones, a la selección para el análisis de una mujer con CM esporádico en el seno de una familia con CM familiar, etc.

Por otra parte, puede tratarse de un síndrome hereditario, pero debido a una mutación en un gen de alta penetrancia no conocido aún o bien de combinaciones de variantes de riesgo en genes de baja penetrancia, que en colaboración y junto con factores ambientales causen un alto porcentaje de agregaciones familiares de CM y CO Recientemente, se han identificado genes de susceptibilidad heredada al CM, con baja o moderada penetrancia (ATM, CHEK2,

BRIP1, PALB2), que pueden ser responsables cada uno de ellos de un pequeño porcentaje de agregaciones familiares de dicha neoplasia²⁰⁶.

Debido a la complejidad clínica del síndrome, al requerimiento de considerable información de antecedentes familiares y personales y a la laboriosidad y complejidad del análisis molecular, la realización de estos estudios requiere de la dotación adecuada de medios materiales y profesionales.

5.5. TRASCENDENCIA DEL ESTUDIO.

Los resultados de los estudios de investigación clínica y básica realizados en los últimos 15 años desde la identificación de los genes BRCA1 y 2 han permitido un mayor conocimiento de las características patológicas y moleculares de estos tumores, de los riesgos de neoplasia asociados a la presencia de la mutación, y de la eficacia de las diferentes estrategias para la prevención primaria y secundaria de neoplasias en estos individuos, y la tendencia hacia una personalización del tratamiento, como ocurre en el CM esporádico.

Lo que justifica y realza la importancia de la identificación de estas pacientes de alto riesgo, así como su seguimiento y valoración individualizada en unidades de consejo genético especializadas. En el momento actual no se dispone de suficiente evidencia como para que la presencia de una mutación en uno de los genes BRCA1 y 2, modifique la decisión de si la paciente debe o no recibir QT, y modifique la elección del esquema de QT. Sin embargo, si que la decisión del tratamiento local puede estar influenciada por el elevado riesgo de una segunda neoplasia en la mama ipsilateral y/o contralateral, y es muy importante informar a las pacientes de las diferentes opciones existentes, más o menos conservadoras. Si la paciente opta por una mastectomía profiláctica contralateral, deberá recibir toda la información necesaria en cuanto a eficacia y complicaciones de las técnicas quirúrgicas, implicaciones psicológicas y sexuales, así como que se desconoce el beneficio que pueda tener en la supervivencia. La mayoría de las pacientes elijen el seguimiento, y es fundamental integrar la RM en el cribado de las neoplasias de mama. La SOBP es una estrategia mucho más aceptada entre las

mujeres y los profesionales de la salud considerando la evidencia disponible de que permite la reducción del riesgo de neoplasia de mama y de ovario en portadoras de mutación en los genes BRCA1 y 2, y su impacto favorable en la supervivencia de estas pacientes. En general, se recomienda realizarla a partir de los 35-40 años, para evitar los efectos secundarios de una menopausia prematura, que puede tener implicaciones más allá de la calidad de vida.

En un futuro a corto a plazo probablemente existirán protocolos específicos para individualizar el tratamiento local y sistémico de las neoplasias de mama y ovario de pacientes portadoras de mutación en BRCA1 y 2.

El descubrimiento de nuevos fármacos con nuevos mecanismos de acción muy prometedores para BRCA, como los iPARP, abre un nuevo camino para la investigación del tratamiento sistémico de estas pacientes. Un mayor conocimiento de la biología molecular de las neoplasias de mama y ovario asociadas a la presencia de mutaciones en los genes BRCA1 y 2, permitirá una mayor individualización del tratamiento de las pacientes. Otras áreas de investigación incluyen las estimaciones individuales del riesgo para mujeres portadoras basadas en el gen mutado y el tipo concreto de mutación, así como de la presencia de factores modificadores del riesgo, genéticos y ambientales.

En el estudio descriptivo , realizado queda patente la peculiaridad de los casos reseñados, así como la puerta abierta a futuros estudios, descriptivos y observacionales que nos ayuden a comprender la peculiaridad de nuestra población y adecuar las medidas de cribado y despistaje acorde a nuestros factores, modificables, de riesgo de tipo ambiental y genético.

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

6. CONCLUSIONES

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

6.1 CONCLUSIONES GENERALES:

1. BRCA1 y BRCA2 presentan diferencias en la penetrancia, en el fenotipo tumoral, en la eficacia de las estrategias reductoras de riesgo, en la sensibilidad del cribado con mamografía y RMI, y es posible que esto se traduzca en diferencias en el pronóstico.

2. No es posible identificar la mutación responsable en un 75-80% de las familias que cumplen criterios sugestivos de una predisposición hereditaria al CMOH. Síndrome de cáncer de mama-ovario hereditario.

3. Mujeres que pertenecen a familias de alto riesgo en las que no se ha logrado detectar una mutación en BRCA ti se deberá individualizar en función de su riesgo acumulado a lo largo de la vida, que se podrá valorar con un modelo de estimación del riesgo.

4. La mastectomía bilateral profiláctica reduce el riesgo de CM en un 90% en mujeres portadoras de mutación en BRCA1 y 2. Y La SOBP se asocia con una reducción del 80% del riesgo de CO/trompas, y una reducción del 53% de CM en portadoras de mutación en BRCA si la paciente es premenopáusica en el momento de la SOBP

5. Pacientes con CM con una historia familiar positiva pero cuyo resultado del estudio genético es indeterminado o no informativo, debe ser tratados como patients con un CM esporádico.

6. Los inhibidores del PARP son una nueva estrategia terapéutica que inducen letalidad sintética y permiten la citotoxicidad selectiva de las células tumorales de mujeres portadoras de mutación en BRCA.

6.1 **CONCLUSIONES FINALES DEL ESTUDIO:**

- ✓ La población estudiada cumple criterios establecidos por las guías actuales.

- ✓ Destaca la baja proporción de casos diagnosticados a través de pruebas de screening (mamografía/ecografía), lo que se traduce en la posibilidad de que el calendario o edad de inicio de éste no esté ajustado a la edad de riesgo de nuestra población.

- ✓ A diferencia de los estudios publicados, en distintos grupos poblacionales, la proporción de resultados positivos en BRCA2 es mayor que de BRCA1 *en nuestra población*. No hubo diferencia por edad.

- ✓ Del total de varones valorados en consulta (24 pacientes de sexo masculino) un 12% del total de pacientes en seguimiento, 4 casos índice de familia de riesgo para cáncer de mama-ovario y 20 casos son portadores de mutacion. Frente a estos 20 casos , tenemos 39 casos de portadoras de sexo femenino. Esta variación en la proporción se debe fundamentalmente a que (durante la valoración en consulta) ,en el sexo masculino existe menos interés en el conocimiento de dicho estudio, frente al altísimo interés por parte

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Donegan WL. History of breast cancer. In: Winchester DJ, Winchester DP, Hudis CA, Norton L, editors. Breast Cancer. Hamilton, Ontario: B.C. Decker, 2006: 1-14.
- 2 Morse RP. Neurofibromatosis type 1. Arch Neurol 1999; 56:364-365.
- 3 Ruggieri M, Polizzi A. From Aldrovandi's "Homuncio" (1592) to Buffon's girl (1749) and the "Wart Man" of Tilesius (1793): antique illustrations of mosaicism in neurofibromatosis? J Med Genet 2003; 40:227-232.
- 4 Ruggieri M, Huson SM. The clinical and diagnostic implications of mosaicism in the neurofibromatoses. Neurology 2001; 56:1433-1443.
5. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, Andersson LC, Tervahartiala P, Tuveson D et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. N Engl J Med 2001; 344:1052-1056
6. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. N Engl J Med 2002; 347:472-480.
7. Tamborini E, Bonadiman L, Greco A, Albertini V, Negri T, Gronchi A et al. A new mutation in the KIT ATP pocket causes acquired resistance to imatinib in a gastrointestinal stromal tumor. Gastroenterology 2004; 127:294-299.
8. Bussey HJR. Historical developments in familial adenomatous polyposis. In: Herrera L, editor. Familial Adenomatous Polyposis. New York: Alan R. Liss, Inc., 1990: 1-7.
9. Menzelio D. De excrescentals verrucosa cristosis in intestinis crassis dysenteriam passi observatis. Ast Med Berolinensium 1721; 4:68-71.

10. Harari D, Yarden Y. Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene*. 2000; 19: 6102-14.
11. Plaza-Menacho I, Burzynski GM, de Groot JW, Eggen BJJ, Hofstra RMW. Current concepts in RET-related genetics, signalling and therapeutics. *TRENDS Genet*. 2006; 22: 627-636.
- 12 Takahashi M. Co-segregation of MEN2 and Hirschprung's disease: the same mutation of RET with both gain and loss of function?. *Hum. Mutat*. 1999; 13: 331-336.
13. Levine, A. J., Momand, J., Finlay, C. A. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 351: 453-456, 1991.
14. Giles R.H., van Es J.H., Clevers H. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2003;1653: 1-24.
15. Rebbeck TR, Mitra N, Domchek SM, Wan F, Chuai S, Friebel TM, Panossian S, Spurdle A, ChenevixTrench G; kConFab, Singer CF, Pfeiler G, Neuhausen SL, Lynch HT, Garber JE, Weitzel JN, Isaacs C, Couch F, Narod SA, Rubinstein WS, Tomlinson GE, Ganz PA, Olopade OI, Tung N, Blum JL, Greenberg R, Nathanson KL, Daly MB. Modification of ovarian cancer risk by BRCA1/2-interacting genes in a multicenter cohort of BRCA1/2 mutation carriers. *Cancer Res*. 2009 Jul 15;69(14):5801- 10. Epub 2009 Jul 7
16. Jiricny J, Marra G. DNA repair defects in colon cancer. *Curr Op Gen Dev* 2003;13: 61-69.
17. Bennet P, Moore G. *Biología molecular para perinatólogos*. Barcelona: Masson SA eds., 1995.

18. Brock DJH. Molecular Genetics for the clinician. Cambridge University Press, 1998.
19. Sambrook J, Russell DW, Molecular Cloning: A laboratory manual, 3^a Edition. New York.: Cold Spring Harbour Laboratory Press, 2001.
20. Wayte, N., Da Silva, L., Chenevix-Trench, G. & Lakhani, S. R. (2008). What's in a cancer syndrome? Genes, phenotype and pathology. *Pathology* 40, 247-59.
21. Hall, J. M., Lee, M. K., Newman, B., Morrow, J. E., Anderson, L. A., Huey, B. & King, M. C. (1990). Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 250, 1684-9.
22. Wooster, R., Neuhausen, S. L., Mangion, J., Quirk, Y., Ford, D., Collins, N., Nguyen, K., Seal, S., Tran, T., Averill, D. & et al. (1994). Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science* 265, 2088-90.
23. Bodmer, W. F., Bailey, C. J., Bodmer, J., Bussey, H. J., Ellis, A., Gorman, P., Lucibello, F. C., Murday, V. A., Rider, S. H., Scambler, P. & et al. (1987). Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5. *Nature* 328, 614-6.
24. Lindblom, A., Tannergard, P., Werelius, B. & Nordenskjold, M. (1993). Genetic mapping of a second locus predisposing to hereditary non-polyposis colon cancer. *Nat Genet* 5, 279-82.
25. Peltomaki, P., Aaltonen, L. A., Sistonen, P. et al. (1993). Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. *Science* 260, 810-2.
26. Bergman, A., Karlsson, P., Berggren, J. et al. (2007). Genome-wide linkage scan for breast cancer susceptibility loci in Swedish hereditary non-BRCA1/2 families: suggestive linkage to 10q23.32-q25.3. *Genes Chromosomes Cancer* 46, 302-9.

27. Gonzalez-Neira, A., Rosa-Rosa, J. M., Osorio, A., et al (2007). Genomewide high-density SNP linkage analysis of non-BRCA1/2 breast cancer families identifies various candidate regions and has greater power than microsatellite studies. *BMC Genomics* 8, 299.
28. Rosa-Rosa, J. M., Pita, G., Urioste, M., et al (2009). Genome-wide linkage scan reveals three putative breast-cancer-susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 84, 115-22.
29. Smith, P., McGuffog, L., Easton, D. F. et al. (2006). A genome wide linkage search for breast cancer susceptibility genes. *Genes Chromosomes Cancer* 45, 646-55.
30. Thompson, D., Szabo, C. I., Mangion, J., et al (2002). Evaluation of linkage of breast cancer to the putative BRCA3 locus on chromosome 13q21 in 128 multiple case families from the Breast Cancer Linkage Consortium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 827-31.
31. Antoniou, A. C. & Easton, D. F. (2003). Polygenic inheritance of breast cancer: Implications for design of association studies. *Genet Epidemiol* 25, 190-202.
32. Cohen MJ. *The Child with Multiple Birth Defects*, 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1997.
33. Bert Vogelstein KWK. *The Genetic Basis of Human Cancer*, 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 2002.
34. Ponder BA. Cancer genetics. *Nature* 2001;411(6835):336-41.
35. Frank SA. Genetic predisposition to cancer - insights from population genetics. *Nat Rev Genet* 2004;5(10):764-72.

36. ASCO. Cancer Facts & Figures 2005, Appendix- Genetic Differential Diagnoses by Organ System Neoplasms. <http://www.asco.org/ac/>.
37. Schneider K. Counselling About Cancer. Strategies for Genetic Counselling, Second edition ed. New York: Wiley-Liss, 2002.
38. Casimiro C. [Etiopathogenic factors in colorectal cancer. Nutritional and life-style aspects. 2.]. Nutr Hosp 2002;17(3):128-38.
39. Mahillo Ramos E LCA, Ruiz Simón A, Lluch Hernández A, Munárriz B, Pastor Borgoñón M, Antón Torres A, Alba Conejo E, Martínez del Prado P, Martín Jiménez M. Estudio epidemiológico del grupo GEICAM sobre el cáncer de mama en España (1994-1997). Proyecto "El Álamo II".
40. Diez O, Osorio A, Duran M, 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. 18 Guibout C, Adjadj E, Rubino C, et
41. Duker NJ. Chromosome breakage syndromes and cancer. Am J Med Genet 2002;115(3):125-9.
42. 1 Offit K. Clinical Cancer Genetics. New York: Wiley-Liss, 1998.
43. Genetic counseling. Am J Hum Genet 1975;27(2):240-2.
44. Bennett RL, Steinhaus KA, Uhrich SB, O'Sullivan CK, Resta RG, Lochner-Doyle D, et al. Recommendations for standardized human pedigree nomenclature. Pedigree Standardization Task Force of the National Society of Genetic Counselors. Am J Hum Genet 1995;56(3):745-52

45. Schneider KA, DiGianni LM, Patenaude AF, Klar N, Stopfer JE, Calzone KA, et al. Accuracy of cancer family histories: comparison of two breast cancer syndromes. *Genet Test* 2004;8(3):222-8.
46. Murff HJ, Spigel DR, Syngal S. Does this patient have a family history of cancer? An evidence-based analysis of the accuracy of family cancer history. *Jama* 2004;292(12):1480-9.
47. Parmigiani G, Sining C, Iverson ES. Validity of Models for Predicting BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Ann Intern Med* 2007; 147: 441-450
48. 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.
49. Balmana J, Stoffel EM, Emmons KM, Garber JE, Syngal S. Comparison of motivations and concerns for genetic testing in hereditary colorectal and breast cancer syndromes. *J Med Genet* 2004;41(4):e44.
50. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 2003;21(12):2397-406
51. Ley 14/2007, de 3 de Julio de Investigación biomédica, BOE núm 159
52. Green MJ, Botkin JR. "Genetic exceptionalism" in medicine: clarifying the differences between genetic and nongenetic tests. *Ann Intern Med* 138: 571-575, 2003.
53. Suster SM. The allure and peril of genetics exceptionalism: do we need special genetics legislation? *Wash Univ Law Q* 79:669-748, 2001.

54. Annas GJ. The limits of state laws to protect genetic information. *N Engl J Med* 345:385-388, 2001.
55. Marteau T, Richards M. The troubled helix: social and psychological implications of the new human genetics. Ed. Cambridge University Press, Cambridge, 1996.
56. Katakaki A, Konstadoulakis MM. Reflections of the European Conference "Molecular Screening of individuals at High Risk for Developing Cancer: Medical, Ethical, Legal and Social Issues". *Genet Test* 4:79-84, 2000.
57. Parker M, Lucassen A. Working towards ethical management of genetic testing. *Lancet* 360:1685- 8, 2002.
58. Sánchez-Caro J, Abellán F. Datos de salud y datos genéticos. Su protección en la Unión Europea y en España. Ed. Derecho Sanitario Asesores, Madrid, 2003.
59. Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos. Octubre 2003.
<http://www.unesco.org>
60. McNally E, Cambon-Thomsen A. 2004. Comisión Europea. 25 recomendaciones sobre las repercusiones éticas, jurídicas y sociales de los tests genéticos. Bruselas, http://ec.europa.eu/research/conferences/2004/genetic/pdf/recommendations_es.pdf.
61. Biesecker, B.B. y Peters, K.F. (2001) Process studies in genetic counseling: Peering into the box. *American Journal of Medical genetics*, 106: 191-198.
62. Bleiker, E, M. A; Hahn, E.E. y Aaronson, N.K. (2003) Psychosocial issues in cancer genetics. *Acta Oncológica*, 42: 276-286.

63. Van Dooren, S.; Rijnsburger, A.J.; Seynaeve, C.; Duivenvoorden, H.J.; Essink-Bot, M.L.; Tilanus-Linthorst, M.A.; de Koning H.J. y Tibben A. (2004) Psychological distress in women at increased risk for breast cancer: The role of risk perception European Journal of Cancer, 40: 2056–2063.

64. Bjorvatn, C.; Eide; G.E.; Hanestad, B.R.; Oyen, N.; Havik, O.E.; Carlsson. A. et al. (2007). Risk perception, worry and satisfaction related to genetic counselling for hereditary cancer. Journal of Genetic Counseling, 16: 211-222.

65. Pieterse, A.H.; van Dulmen, A.M.; Beemer, F.A.; Bensing, J.M.; Ausems, M.G.E.M (2007). Cancer genetic counselling: Communication and counselee' post-visit satisfaction, cognitions, anxiety and needs fulfilment. Journal of Genetic Counseling, 16: 85-96.

66. O'Doherty, K. y Suthers, G.K, (2007). Risky communication: pitfalls in counselling about risk, and how to avoid them. Genetic Counseling; 16(4):409-17.

67. Cohen MJ. The Child with Multiple Birth Defects, 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1997.

68. Bert Vogelstein KWK. The Genetic Basis of Human Cancer, 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 2002.

69. Frank SA. Genetic predisposition to cancer - insights from population genetics. Nat Rev Genet 2004;5(10):764-72.

70. ASCO. Cancer Facts & Figures 2005, Appendix- Genetic Differential Diagnoses by Organ System Neoplasms. <http://www.asco.org/ac>

71. Ferlay J, Autier P, Boniol M et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. Ann Oncol 2007;18:581-92.

72. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *Br Med J* 2000;321:624-8.
73. Edmondson RJ, Monaghan JM. The epidemiology of ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2001;11:423-9.
74. Goldgar DE, Easton DF, Cannon-Albright LA et al. Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:1600-8.
75. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994;266:66-71.
76. Wooster R, Bignell G, Lancaster J et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995;378:789-92.
77. Malkin D, Li FP, Strong LC et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 1990;250:1233-8.
78. Nelen MR, van Staveren WC, Peeters EA et al. Germline mutations in the PTEN/MMAC1 gene in patients with Cowden disease. *Hum Mol Genet* 1997;6:1383-7.
79. Antoniou AC, Hardy R, Walker L et al. Predicting the likelihood of carrying a BRCA1 or BRCA2 mutation: validation of BOADICEA, BRCAPRO, IBIS, Myriad and the Manchester scoring system using data from UK genetics clinics. *J Med Genet* 2008;45:425-31.
80. Easton D, Bishop D, Ford D et al. Breast Cancer Linkage Consortium. Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: Results from 214 families. *Am J Hum Genet* 1993;52:678-701.

81. Lakhani SR, Jacquemier J, Sloane JP et al. Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1138– 45.
82. Bane AL, Beck JC, Bleiweiss I et al. BRCA2 mutation-associated breast cancers exhibit a distinguishing phenotype based on morphology and molecular profiles from tissue microarrays. *Am J Surg Pathol* 2007;31:121–8.
83. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 2005;11:5175–80.
84. Honrado E, Osorio A, Palacios J et al. Immunohistochemical expression of DNA repair proteins in familial breast cancer differentiate BRCA2-associated tumors. *J Clin Oncol* 2005;23:7503–11.
85. BIC: <http://research.nhgri.nih.gov/bic>.
86. Díez O, Gutiérrez-Enríquez S, Balmaña J. Heterogeneous prevalence of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Spain according to the geographical area: implications for genetic testing. *Fam Cancer* 2010;9:187-91.
87. Antoniou AC, Easton DF. Risk prediction models for familial breast cancer. *Future Oncol* 2006;2:257- 74.
88. Díez O, Osorio A, Duran M et al. Analysis of BRCA1 and BRCA2 Genes in Spanish Breast/Ovarian Cancer Patients: A High Proportion of Mutations Unique to Spain and Evidence of Founder Effects. *Hum Mutat* 2003;22:301–12.
89. Infante M, Duran M, Esteban-Cardenosa E et al. High proportion of novel mutations of BRCA1 and BRCA2 in breast/ovarian cancer patients from Castilla-León (central Spain). *J Hum Genet* 2006;51:611–7.

90. Esteban-Cardena E, Bolufer P, Palanca S et al. BRCA1 and BRCA2 mutations in families studied in the program of genetic counselling in cancer of the Valencian community (Spain). *Med Clin (Barc)* 2008; 130:121-6

91. Vega A, Campos B, Bressac de Paillerets B et al. The R71G BRCA1 is a founder Spanish mutation and leads to aberrant splicing of the transcript. *Hum Mutat* 2001;17:520-1.

92. Campos B, Díez O, Odefrey F et al. Haplotype analysis of the BRCA2 9254delATCAT recurrent mutation in breast/ovarian cancer families originated from Spain. *Hum Mut* 2003;21:452.

93. Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: A combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet* 2003;72:1117-30.

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

95. Goldgar DE, Easton DF, Deffenbaugh AM et al. Breast Cancer Information Core (BIC) Steering Committee. Integrated evaluation of DNA sequence variants of unknown clinical significance: application to BRCA1 and BRCA2 *Am J Hum Genet* 2004;75:535-44.

96. Goldgar DE, Easton DF, Cannon-Albright LA et al. Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:1600-8

97. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994;266:66-71.

98. Wooster R, Bignell G, Lancaster J et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995;378:789–92.
99. Antoniou AC, Hardy R, Walker L et al. Predicting the likelihood of carrying a BRCA1 or BRCA2 mutation: validation of BOADICEA, BRCAPRO, IBIS, Myriad and the Manchester scoring system using data from UK genetics clinics. *J Med Genet* 2008;45:425–31.
100. Ghoussaini G, Pharoah PDP. Polygenic susceptibility to breast cancer: current state-of-the-art. *Future Oncol* 2009;5:689–701.
101. Jemal A, Thomas A, Murray T, et al. Cancer Statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2002; 52: 23-47.
102. La situación del cáncer en España. Ministerio de Sanidad y Consumo 2005.
103. Vasen HFA, Mecklin J-P, Khan PM, et al. The International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 424-5.
104. Vasen HFA, Watson P, Mecklin J-P, et al. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 1999; 116: 1453-6.
105. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 261-8.
106. Syngal S, Fox EA, Li C, et al. Interpretation of genetic test results for hereditary nonpolyposis colorectal cancer: implications for clinical predisposition testing. *JAMA* 1999; 282: 247-53.

107. Moslein G, Tester DJ, Lindor NM, et al. Microsatellite instability and mutation analysis of hMSH2 and hMLH1 in patients with sporadic, familial and hereditary colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1245-52.

108 Nystrom-Lahti M, Wu Y, Moisio AL, et al. DNA mismatch repair gene mutations in 55 kindreds with verified or putative hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 763-9.

109 Miyaki M, Konishi M, Tanaka T, et al. Germline mutations of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 1997; 17: 271-2.

110 Yan H, Papadopoulos N, Marra G, et al. Conversion of diploidy to haploidy. *Nature* 2000; 403: 723-4.

111 Nakagawa H, Yan H, Lockman J, et al. Allele separation facilitates interpretation of potential splicing alterations and genomic rearrangements. *Cancer Res* 2002; 62: 4579-82.

112 Wijnen J, van der Klift H, Vasen H, et al. MSH2 genomic deletions are a frequent cause of HNPCC. *Nat Genet* 1998; 20: 326-8.

113 Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, 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: 5248-57.

114 Terdiman JP, Gum JR, Conrad PG et al. Efficient detection of hereditary nonpolyposis colorectal cancer gene carriers by screening for tumor microsatellite instability before germline genetic testing. *Gastroenterology* 2001; 120(1): 21-30

115 Wullenweber HP, Sutter C, Autschbach F et al. Evaluation of Bethesda guidelines in relation to microsatellite instability. *Dis Colon Rectum* 2001; 44(9): 1281-9

116 Piñol V, Castells A, Andreu M, et al. Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *JAMA* 2005; 293: 1986-94.

117. Gurin CC, Federici MG, Kang L, et al. Causes and consequences of microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59(2): 462-6.

118. Kruse R, Rutten A, Lamberti C, et al. Muir-Torre phenotype has a frequency of DNA mismatch repair gene mutations similar to that in hereditary nonpolyposis colorectal cancer families defined by Amsterdam criteria. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 63-70.

119. Garnmie AE, Erdeniz N, Beaver J, et al. Functional characterization of pathogenic human MSH2 missense mutations in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 2007; 177: 707-21.

120. Lin T, Yan H, Kuismanen S, et al. The role of hPMS1 and hPMS2 in predisposing to colorectal cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 7798: 802.

121. Lynch HT, Chapelle de la A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* 2003;348:919-32

122. Desai DC, Lockman JC, Chadwick RB, et al. Recurrent germline mutación in MSH2 arises frequently de novo. *J Med Genet* 2000;37:646-52.

123. Kraus C, Kastl S, Gunther K, Klessinger S, Hohenberger W, Ballhausen WG. A proven de novo germline mutación in HNPCC. *J Med Genet* 1999;36:919-21.

124. Wijnen J, De Leeuw W, Vasen H, et al. Familial endometrial cancer in female carriers of MSH6 germline mutaciones. *Nat Genet* 1999;23:142-4

125. Watson P, Lynch HT. Extracolonic cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer* 1993;71:677-85.

126. Vasen HF, Wijnen JT, Menko FH, et al. Cancer risk in familias with hereditary nonpolyposis colorectal cancer diagnosticado by mutación análisis. *Gastroenterology* 1996;110:1020-7.

127. Vasen HF, Sanders EA, Taal BG, et al. The risk of brain tumours in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC). *Int J Cancer* 1996;65:422-5.

128. Sijmons RH, Kiemeney LA, Witjes JA, Vasen HF. Urinary tract cancer and hereditary nonpolyposis colorectal cancer: risks and screening options. *J Urol* 1998;160:466-70.

129. Aarnio M, Sankila R, Pukkala E, et al. Cancer risk in mutación carriers of DNA-mismatch-repair genes. *Int J Cancer* 1999;81:214-8.

130. Scott RJ, McPhillips M, Meldrum CJ, et al. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer in 95 familias: differences and similarities between mutación-positive and mutación-negative kindreds. *Am J Hum Genet* 2001;68:118-27.

131. Vasen HF, Morreau H, Nortier JW. Is breast cancer part of the tumor spectrum of hereditary nonpolyposis colorectal cancer? *Am J Hum Genet* 2001;68:1533-5.

132. Soravia C, van der KH, Brundler MA, et al. Prostate cancer is part of the hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) tumor spectrum. *Am J Med Genet A* 2003;121:159-62.

133. Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Síndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1758-62.
134. Pinol V, Castells A, Andreu M, et al. Accuracy of revised Bethesda guidelines, inestabilidad microsatélite, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *JAMA* 2005;293:1986-94.
135. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch síndrome) and inestabilidad microsatélite. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96:261-8
136. Bodmer WF, Bailey CJ, Bodmer J, Bussey HJ, Ellis A, Gorman P, et al. Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5. *Nature*. 1987 Aug 13-19;328(6131):614-6.
137. Leppert M, Dobbs M, Scambler P, O'Connell P, Nakamura Y, Stauffer D, et al. The gene for familial polyposis coli maps to the long arm of chromosome 5. *Science*. 1987 Dec 4;238(4832):1411-3.
138. Herrera L, Kakati S, Gibas L, Pietrzak E, Sandberg AA. Gardner syndrome in a man with an interstitial deletion of 5q. *Am J Med Genet*. 1986 Nov;25(3):473-6.
139. Jones S, Emmerson P, Maynard J, Best JM, Jordan S, Williams GT, et al. Biallelic germline mutations in MYH predispose to multiple colorectal adenoma and somatic G:C→T:A mutations. *Hum Mol Genet*. 2002 Nov 1;11(23):2961-7.
140. Laken SJ, Petersen GM, Gruber SB, Oddoux C, Ostrer H, Giardiello FM, et al. Familial colorectal cancer in Ashkenazim due to a hypermutable tract in APC. *Nat Genet*. 1997 Sep;17(1):79-83.

141. Strul H, Barenboim E, Leshno M, Gartner M, Kariv R, Aljadeff E, et al. The I1307K adenomatous polyposis coli gene variant does not contribute in the assessment of the risk for colorectal cancer in Ashkenazi Jews. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003 Oct;12(10):1012-5.
142. Boadas J, Mora J, Urgell E, Puig P, Roca M, Cusso X, et al. Clinical usefulness of K-ras gene mutation detection and cytology in pancreatic juice in the diagnosis and screening of pancreatic cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001;13(10):1153-9.
143. Lohr M, Muller P, Mora J, Brinkmann B, Ostwald C, Farre A, et al. p53 and K-ras mutations in pancreatic juice samples from patients with chronic pancreatitis. *Gastrointest Endosc.* 2001 Jun;53(7):734-43.
144. Tarafa G, Tuck D, Ladner D, Topazian M, Brand R, Deters C, et al. Mutational load distribution analysis yields metrics reflecting genetic instability during pancreatic carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Mar 18;105(11):4306-11.
145. Yan L, McFaul C, Howes N, Leslie J, Lancaster G, Wong T, et al. Molecular analysis to detect pancreatic ductal adenocarcinoma in high-risk groups. *Gastroenterology.* 2005 Jun;128(7):2124-30.
146. Rieder H, Sina-Frey M, Ziegler A, Hahn SA, Przepadlo E, Kress R, et al. German national case collection of familial pancreatic cancer - clinical-genetic analysis of the first 21 families. *Onkologie.* 2002 Jun;25(3):262-6.
147. Tischkowitz MD, Sabbaghian N, Hamel N, Borgida A, Rosner C, Taherian N, et al. Analysis of the gene coding for the BRCA2-interacting protein PALB2 in familial and sporadic pancreatic cancer. *Gastroenterology.* 2009 Sep;137(3):1183-6
148. Giardiello FM, Offerhaus GJ, Lee DH, Krush AJ, Tersmette AC, Booker SV, et al. Increased risk of thyroid and pancreatic carcinoma in familial adenomatous polyposis. *Gut.* 1993 Oct;34(10):1394-6.

149. Abraham SC, Wu TT, Klimstra DS, Finn LS, Lee JH, Yeo CJ, et al. Distinctive molecular genetic alterations in sporadic and familial adenomatous polyposis-associated pancreaticoblastomas : frequent alterations in the APC/beta-catenin pathway and chromosome 11p. *Am J Pathol.* 2001 Nov;159(5):1619-27.
150. Maisonneuve P, Lowenfels AB. Chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Dig Dis.* 2002;20(1):32-7.
151. Whitcomb DC, Gorry MC, Preston RA, Furey W, Sossenheimer MJ, Ulrich CD, et al. Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene. *Nat Genet.* 1996 Oct;14(2):141-5
152. Mackie RM, Freudenberger T, Aitchison TC. Personal risk factor chart for cutaneous melanoma. *Lancet* 1989; 2(8661): 487-490.
153. Tucker MA, Halpern A, Holly EA, Hartge P, Elder DE, Sagebiel RW, et al. Clinically recognized dysplastic nevi. A central risk factor for cutaneous melanoma. *JAMA* 1997; 277: 1439-1441
154. Grange F, Chompret A, Guilloud-Bataille M, Guillaume JC, Margulis A, Prade M, et al. Comparison between familial and nonfamilial melanoma in France. *Arch Dermatol* 1995; 131: 1154-1159.
155. Monzon J, Liu L, Brill H, Goldstein AM, Tucker MA, From L, et al. CDKN2A mutations in multiple primary melanomas. *N Engl J Med* 1998; 338: 879-887.
156. Tucker MA, Fraser MC, Goldstein AM, Elder DE, Guerry D, Organic SM, et al. Risk of melanoma and other cancers in melanoma-prone families. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 350S-355S.
157. Bergman W, Watson P, De Long J, Lynch HT, Fusaro RM. Systemic cancer and the FAMMM syndrome. *Br J Cancer* 1990; 61: 932-936.

158. Goldstein AM, Fraser MC, Struewing JP, Hussussian CJ, Ranade K, Zametkin DP, et al. Increased incidence of pancreatic cancer in melanoma-prone Kindreds with p16INK4 mutations. *N Engl J Med* 1995; 333: 970-974.

159. Goldstein AM. Familial Melanoma, Pancreatic Cancer and Germline CDKN2A Mutations. *Hum Mut* 2004; 23(6): 630.

160. Stahl S, Bar-Meir E, Friedman E, Regev E, Orenstein A, Winkler E, et al. Genetics in Melanoma. *Ist Med Assoc J.* 2004; 6 (12): 774-777.

161. Rulyak SJ, Brentnall TA, Lynch HT, Austin MA. Characterization of the Neoplastic Phenotype in the Familial Atypical Multiple-Mole Melanoma- Pancreatic Carcinoma Syndrome. *Cancer* 2003; 98(4): 798-804.

162. Debniak T, Górski B, Cybulski C, Jakubowska A, Kurzawski G, Kladny J, et al. Increased risk of breast cancer in relatives of malignant melanoma patients from families with strong cancer familial aggregation. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12: 241-245.

163. Debniak T, Górski B, Scott RJ, Cybulski C, Medrer K, Zlowocka E, et al. Germline mutation and large deletion analysis of the CDKN2A and ARF genes in families with multiple melanoma or an aggregation of malignant melanoma and breast cancer. *Int J Cancer* 2004; 110: 558-562.

164. Kaufman DK, Kimmel DW, Parisi JE, Michels VV. A familial syndrome with cutaneous malignant melanoma and cerebral astrocytoma. *Neurology* 1993; 43: 1728-1731.

165. Bahuau M, Vidaud D, Kujas M, Palangie A, Aussouline B, Chaignaud-Lebreton M, et al. Familial aggregation of malignant melanoma/ dysplastic nevi and tumors of the central nervous system-an original syndrome of tumor proneness. *Ann Genet* 1997; 4: 78-91

166. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE et al. Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:1694-1706.
167. Rubin SC, Blackwood MA, Bandera C et al. BRCA1, BRCA2, and hereditary nonpolyposis colorectal cancer gene mutations in an unselected ovarian cancer population: relationship to family history and implications for genetic testing *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178:670-677.
168. Estudio de los genes BRCA1 y BRCA2 en 200 familias con cáncer de mama hereditario. O.Diez Gibert, M.Cornet Ciurana, S.Gutierrez Enriquez, M.Domenech Maria, T.Ramon y Cajal Asensio, C.Alonso Muñoz, M.Baiget Bastús.
169. Ford D, Easton DF, Stratton M et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet.* 1998;62:676-689.
170. Easton DF, Ford D, Bishop DT. Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1 mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet.* 1995;56:265-271.
171. Hopper JL, Southey MC, Dite GS et al. Population-based estimate of the average age-specific cumulative risk of breast cancer for a defined set of protein-truncating mutations in BRCA1 and BRCA2. Australian Breast Cancer Family Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999;8:741-747.
172. Narod SA, Foulkes WD. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:665-676.
173. King MC, Marks JH, Mandell JB. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science.* 2003;302:643-646.

174. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet.* 2003;72:1117-1130.

175. Medeiros F, Muto MG, Lee Y et al. The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinoma in women with familial ovarian cancer syndrome *Am J Surg Pathol.* 2006;30:230-236.

176. Thompson D, Easton DF. Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:1358-1365.

177. Fentiman IS, Fourquet A, Hortobagyi GN. Male breast cancer. *Lancet.* 2006;367:595-604.

178. Lynch HT, Deters CA, Snyder CL et al. BRCA1 and pancreatic cancer: pedigree findings and their causal relationships. *Cancer Genet Cytogenet.* 2005;158:119-125.

179. Tryggvadottir L, Vidarsdottir L, Thorgeirsson T et al. Prostate cancer progression and survival in BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99:929-935.

180. Petersen GM, Hruban RH. Familial pancreatic cancer: where are we in 2003? *J Natl Cancer Inst.* 2003;95:180-181.

181. Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. The Breast Cancer Linkage Consortium. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91:1310-1316.

182. Robson M, Svahn T, McCormick B et al. Appropriateness of breast-conserving treatment of breast carcinoma in women with germline mutations in BRCA1 or BRCA2: a clinic-based series. *Cancer.* 2005;103:44-51.

183. Metcalfe KA, Finch A, Poll A et al. Breast cancer risks in women with a family history of breast or ovarian cancer who have tested negative for a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Br J Cancer*. 2009;100:421-425.

184. Metcalfe KA, Finch A, Poll A et al. Breast cancer risks in women with a family history of breast or ovarian cancer who have tested negative for a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Br J Cancer*. 2009;100:421-425.

185. Metcalfe KA, Finch A, Poll A et al. Breast cancer risks in women with a family history of breast or ovarian cancer who have tested negative for a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Br J Cancer*. 2009;100:421-425.

186. Diez O, Osorio A, Duran M et al. Analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in Spanish breast/ovarian cancer patients: a high proportion of mutations unique to Spain and evidence of founder effects. *Hum Mutat*. 2003;22:301-312.

187. Metcalfe KA, Finch A, Poll A et al. Breast cancer risks in women with a family history of breast or ovarian cancer who have tested negative for a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Br J Cancer*. 2009;100:421-425.

188. Arnes JB, Begin LR, Stefansson I et al. Expression of epidermal growth factor receptor in relation to BRCA1 status, basal-like markers and prognosis in breast cancer. *J Clin Pathol*. 2009;62:139-146.

189. Claus EB, Petruzella S, Matloff E, Carter D. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in women diagnosed with ductal carcinoma in situ. *JAMA*. 2005;293:964-969.

190. Smith KL, Adank M, Kauff N et al. BRCA mutations in women with ductal carcinoma in situ. *Clin Cancer Res*. 2007;13:4306-4310.

191. Hwang ES, McLennan JL, Moore DH, Crawford BB, Esserman LJ, Ziegler JL. Ductal carcinoma in situ in BRCA mutation carriers. *J Clin Oncol.* 2007;25:642-647.

192 Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95:1482-1485.

193 Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L et al. Prediction of BRCA1 Status in Patients with Breast Cancer Using Estrogen Receptor and Basal Phenotype. *Clin Cancer Res.* 2005;11:5175-5180.

194 Palacios J, Honrado E, Osorio A et al. Immunohistochemical characteristics defined by tissue microarray of hereditary breast cancer not attributable to BRCA1 or BRCA2 mutations: differences from breast carcinomas arising in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Clin Cancer Res.* 2003;9:3606-3614.

195 Laakso M, Loman N, Borg A, Isola J. Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors. *Mod Pathol.* 2005;18:1321-1328.

196 Lakhani SR, Gusterson BA, Jacquemier J et al. The pathology of familial breast cancer: histological features of cancers in families not attributable to mutations in BRCA1 or BRCA2. *Clin Cancer Res.* 2000;6:782-789.

197. Collins LC, Martyniak A, Kandel MJ et al. Basal cytokeratin and epidermal growth factor receptor expression are not predictive of BRCA1 mutation status in women with triple-negative breast cancers. *Am J Surg Pathol.* 2009 ;33:1093-1097.

198. Metcalfe KA, Birenbaum-Carmeli D, Lubinski J et al. International variation in rates of uptake of preventive options in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Int J Cancer.* 2008;122:2017-2022.

199. Kurian AW, Sigal BM, Plevritis SK. Survival analysis of cancer risk reduction strategies for BRCA1/2 mutation carriers. *J Clin Oncol.* 2010;28:222-231.

200. Ford D, Easton DF, Stratton M et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet.* 1998;62:676-6

201. Osorio A, Barroso A, Martínez B, Cebrián A, San Román JM, Lobo F, et al. Molecular analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in 32 breast and/or ovarian cancer Spanish families. *Br J Cancer* 2000;82:1266-70.

202. Velasco E, Esteban E, Infante M, Duran M, Lastra E, García C, et al. Estudio molecular en los genes BRCA1 y BRCA2 en 153 familias con cáncer de mama de Castilla y León (España): identificación de nueve variantes de efecto desconocido no descritas. *Med Clin (Barc)* 2002; 119: 441-5.

203. 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 Mut* 2003; 22:301-12.

204. Ligtenberg MJ, Hogervorst FB, Willems HW, Arts PJ, Brink G, Hageman S, et al. Characteristics of small breast and/or ovarian cancer families with germline mutations in BRCA1 and BRCA2. *Br J Cancer* 1999; 79:1475-8.

205. Risch HA, Mclaughlin JR, Cole DEC, Rosen B, Bradley L, Kwan E, et al. Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 2001;68:700-10.

206. Walsh T, King MC. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer Cell* 2007;11:103-5.

8. ANEXOS

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

ANEXO I. BASE DE DATOS CONSULTADAS.

- National Center for Biotechnology Information (EE. UU.):
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Entrez-PubMed: búsqueda combinada de artículos y secuencias (GenBank):
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed>
- Búsqueda de homólogos en las bases de datos: BLAST :
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>
- OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
- European Bioinformatics Institute (GenEMBL): <http://www.ebi.ac.uk/>
- Bases de datos: <http://www.ebi.ac.uk/Databases/>
- Herramientas bioinformáticas: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/index.html>
- Blast, fasta: <http://www.ebi.ac.uk/blast/index.html>
- Align, Clustal: <http://www.ebi.ac.uk/align/index.html>
- ExpASY. Base de datos de proteínas: <http://www.expasy.ch/>
- Ribosomal Database Project: <http://rdp.cme.msu.edu/html>
- ARCHAIC Database : <http://www.aist.go.jp/RIODB/archaic/>
- Codon Usage Database: <http://www.kazusa.or.jp/codon/>
- EMBnet, red de recursos europeos de Biología Molecular. Nodo en España (CNB):
<http://www.embnet.org>
- Ideal Library. Acceso a multitud de revistas científicas por Internet:
<http://www.idealibrary.com>
- VectorDB. Base de datos de vectores diversos: <http://seq.yeastgenome.org/vectordb/>

- The tree of Life, Universidad de Arizona:
<http://phylogeny.arizona.edu/tree/phylogeny.html>
- PDB: Protein Data Bank. Estructuras y secuencias de proteínas:
<http://www.rcsb.org/pdb/>
- PartsList: base de datos de estructuras de proteínas:
<http://bioinfo.mbb.yale.edu/partslist/>
- TransTerm: A database of translational control elements:
<http://uther.otago.ac.nz/Transterm.html>
- Molecular Biology Database Collection, elaborada por la revista NAR, actualizada en 1999: <http://nar.oupjournals.org/cgi/content/full/27/1/1/DC1>
- Ensembl: proyecto conjunto de EMBL, EBI y el Sanger Institute:
<http://www.ensembl.org>
- GeneCards Homepage: <http://www.genecards.org/>
- Gene Tests Lab Disease Search:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/GeneTests/lab?db=GeneTests>
- Human Protein Reference Database: <http://www.hprd.org/> Proyectos de genómica y proteómica

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.

TRASMISION GENETICA DEL CANCER EN EXTREMADURA.
VALOR PRONOSTICO DEL CONSEJO GENETICO.