

## 4. Valoración de la utilidad de paneles de secuenciación masiva en cáncer hereditario de mama y colon. Espectro mutacional de la población de Granada

### EVALUATION OF THE UTILITY OF MASSIVE SEQUENCING PANELS IN HEREDITARY BREAST AND COLON CANCER. MUTATIONAL SPECTRUM OF THE POPULATION OF GRANADA

**Maria Luz Bellido Diaz**

Doctora en Biología, especialista en Inmunología y en Bioquímica.

#### RESUMEN

Conocer la causa genética en una familia con historia personal o familiar de susceptibilidad al cáncer ayuda a su manejo clínico, y de los familiares con riesgo incrementado de padecer cáncer, y permite la detección temprana y la prevención en portadores de la mutación causal; contribuyendo a la disminución de la morbimortalidad por cáncer en familias con alto riesgo genético. Podemos utilizar el rendimiento diagnóstico como indicador de la eficiencia de las técnicas de secuenciación masiva, lo que nos permitirá la posibilidad de ampliar el análisis genético incluso a otras patologías de carácter hereditario.

**Palabras clave:** Genética, cáncer, susceptibilidad, diagnóstico, prevención.

#### ABSTRACT

*Knowing the genetic cause in a family with personal or family history of susceptibility to cancer helps its clinical management, and of relatives at increased risk of developing cancer, and enables early detection and prevention in carriers of the causal mutation; contributing to the decrease of morbidity and mortality from cancer in families with high genetic risk. We can use diagnostic performance as an indicator of the efficiency of mass sequencing techniques, This will allow us to extend the genetic analysis even to other pathologies of an inherited nature.*

**Keywords:** Genetics, cancer, susceptibility, diagnosis, prevention.

#### INTRODUCCIÓN

##### ANTECEDENTES

Se puede definir el cáncer como un conjunto de enfermedades cuyas células presentan una proliferación descontrolada, de tal forma que pueden llegar a invadir y dañar tejidos y órganos, pudiendo, en caso de no ser tratado, de provocar la muerte. En España, los tumores constituyen la segunda causa de mortalidad, solo por detrás de las enfermedades cardiovasculares (1). La formación de un cáncer se debe a cambios genéticos y epigenéticos en diferentes genes, principalmente aquellos implicados en la regulación del ciclo celular, genes supresores de tumores y protooncogenes, que cuando presentan variantes patogénicas provocando un crecimiento celular descontrolado perdiéndose el equilibrio entre división y muerte celular (2). Generalmente, la presencia de una única variante patogénica en un solo alelo de un protooncogén es suficiente para que éste pierda su función y la célula prolifere de forma indiscriminada. Los genes supresores de tumores suelen ser recesivos y es necesaria la presencia de variantes patogénicas en ambos alelos, o bien la presencia de una variante patogénica y la pérdida de heterocigosidad en el otro alelo (3).

Los tumores más frecuentes en la población son el cáncer de mama y el cáncer colorrectal. Se estima que entre un cinco y treinta por ciento de los casos el cáncer presenta una agregación familiar, es decir, ocurre en determinadas familias con más frecuencia de lo que se espera por casualidad. En muchas familias, aunque no se haya detectado ninguna mutación específica en genes asociados a estos cánceres, la historia familiar se revela como un factor de riesgo muy importante pudiendo intuirse un componente hereditario que aún no se ha identificado, si bien está descrito también la influencia de un ambiente familiar compartido que se asocie al desarrollo de cáncer en miembros de la misma familia (4). De esta forma, podemos definir el cáncer hereditario cuando exista una predisposición genética congénita conocida (una o más variantes patogénicas) que puede transmitirse de padres a hijos. La gran mayoría de los cánceres o síndromes hereditarios afectan a menos de 5 de cada 10.000 habitantes y son considerados como enfermedades raras, sin embargo, la incidencia es mucho mayor el cáncer de mama y ovario hereditario o el cáncer de colon hereditario o síndrome de Lynch (4). Existen varios factores que pueden determinar si una persona que tiene la variante padecerá cáncer y cómo se va a desarrollar clínicamente el mismo. Hablamos de los conceptos de penetrancia y expresividad génica que influyen en que una variante patogénica presente en una familia, se exprese o no en un familiar portador de la variante. Nos referimos con el término de penetrancia incompleta o reducida de una variante cuando no todas las personas portadoras de la variante padecen la enfermedad asociada a dicha variante. Con el término expresividad variable nos referimos a los distintos síntomas que se manifiestan de diferentes maneras en las personas que heredan la variante, incluso los cánceres asociados pueden ser diferente en

diferentes miembros de una misma familia portadores de una variante patogénica. Otro factor muy importante para el desarrollo y expresión del cáncer son el estilo de vida y estar sometidos a diferentes riesgos ambientales.

Con el conocimiento de los diferentes genes asociados a la predisposición del cáncer, principalmente los cánceres hereditarios, se han desarrollado diferentes medidas de predicción y prevención eficaces en el paciente y sus familiares, con lo que se produce una disminución de la morbimortalidad por cáncer en las familias con alto riesgo genético.

## CÁNCER DE MAMA Y OVARIO

Se ha observado que el síndrome de *cáncer hereditario de mama y ovario* (SCHMO) es más frecuente en familias que han tenido varios familiares con cáncer de mama y/o cáncer de ovario. Está descrito que la probabilidad de desarrollar SCHMO en pacientes pertenecientes a familias con 4 o más casos de cáncer de mama diagnosticado antes de los 60 años, es de alrededor del 80%; Esta probabilidad disminuye enormemente cuando solo 1 familiar ha tenido cáncer de mama diagnosticado antes de los 50 años, un 10% o menos.

Desde el descubrimiento de los genes supresores de tumores *Breast Cancer A1 y A2* (*BRCA1 y BRCA2*) en 1994 se recomienda el estudio en miembros de familias con más de tres miembros de 1er grado afectados de cáncer, al igual que el estudio genético en aquellas mujeres con diagnóstico de cáncer de mama triple negativo, es decir, cáncer que no tiene receptores de estrógeno, progesterona y HER2 antes de los 60 años. En un primer momento tan sólo estos dos genes eran los indicados para su estudio en pacientes con claras implicaciones hereditarias.

En la actualidad, se estima que aproximadamente el 1% de la población general tiene una mutación en los genes *BRCA1* o *BRCA2*, este porcentaje aumenta hasta el 10% de las mujeres y un 20% de los hombres con diagnóstico de cáncer de mama. Entre el 10% y el 30% de las mujeres menores de 60 años con diagnóstico de cáncer de mama "triple negativo" suelen tener variantes patogénicas en *BRCA1*. Las variantes de *BRCA2* están asociadas a cánceres positivo para receptores de estrógeno, y progesterona y HER2 negativo, entre el 70% y el 80% de los casos de mujeres con cáncer de mama con estas características presentan una mutación en *BRCA2* (5). Las variantes en el gen *BRCA2* aumenta el riesgo de padecer otros tipos de cáncer, como melanoma y cáncer de páncreas, estómago, esófago y vías biliares, tanto en varones o mujeres portadores.

### Riesgos de SCHMO en mujeres

- Riesgo de por vida de cáncer de mama del 50% a 85%
- Riesgo de cáncer de mama antes de los 50 años 30% a 50%
- Riesgo de cáncer de ovario durante la vida
- Mutación en el gen *BRCA1* 25% a 50%
- Mutación en el gen *BRCA2* 15% a 30%
- 40% a 60% de probabilidad de desarrollar un segundo cáncer de mama (el riesgo de que se produzca cáncer bi-

lateral, es decir desarrollar cáncer en la otra mama, aumenta aproximadamente de 2% a 3% por año).

### Riesgos de SCHMO para hombres

- Riesgo de por vida de cáncer de mama
- Mutación en el gen *BRCA1* 1% a 2% (10 veces mayor que para la población masculina general)
- Mutación en el gen *BRCA2* 6%
- Riesgo de cáncer de próstata
- Mutación en el gen *BRCA1* aumento relativo del riesgo
- Mutación en el gen *BRCA2* 20%

Como se ha indicado, el riesgo de presentar cáncer en el seno opuesto (contralateral) años después de un diagnóstico de cáncer de mama en mujeres portadoras de variantes patogénicas en *BRCA1* o en *BRCA2* aumenta con los años. Después de 10 años de seguimiento, el riesgo es del 20% al 30%, y después de 20 años, del 40% al 50%, según el gen implicado.

Los genes como *BRCA1* y *BRCA2* son considerados de alta penetrancia, estando asociados con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama y otros tipos de cáncer y, sin embargo, sólo explican el 20% de los casos de pacientes que acuden a la consulta de Asesoramiento Genético (6). El riesgo de padecer cáncer de mama puede estar influenciado por otros genes de alta y media penetrancia. Las mutaciones en estos genes pueden heredarse de uno o ambos padres y aumentan significativamente las posibilidades de desarrollar la enfermedad. Por ejemplo, los genes de media penetrancia, como *CHEK2* y *PALB2*, también pueden aumentar el riesgo de cáncer de mama, pero en menor medida que los genes de alta penetrancia.

El diagnóstico genético aplicado al cáncer hereditario trata de determinar alteraciones genéticas en línea germinal en aquellos genes conocidos como responsables de los síndromes hereditarios de sospecha (7).

Podemos dividir estos genes en tres grupos:

- ***ATM, BRIP1, NBN, RAD50, RAD51C*** son genes que se encargan de reparar el tejido celular, variantes patogé-

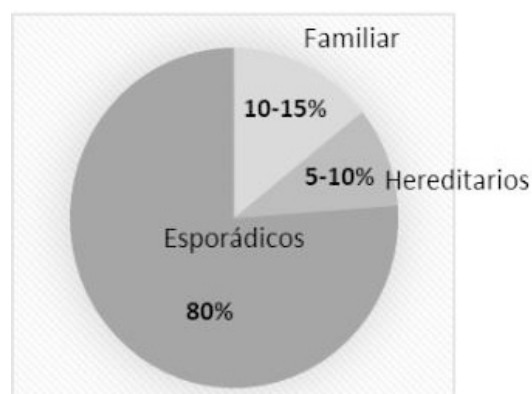
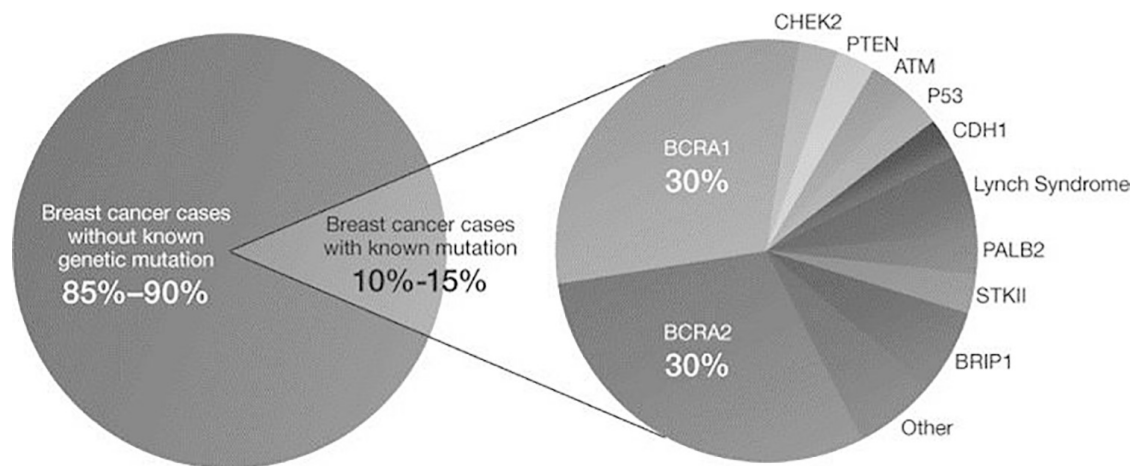


Imagen 1. Representación gráfica de tipos de cáncer y la implicación de genes en la producción de cáncer de mama.



**Imagen 2.** Pacientes de cáncer de mama con mutaciones genéticas. Aproximadamente el 10-15% de los casos de cáncer de mama están asociados a síndromes hereditarios, y la mayoría de ellos serán portadoras de una mutación deletérea en *BRCA1* y *BRCA2*. Otros síndromes raros altamente penetrantes son Cowden (*PTEN*) y Li-Fraumeni (*P53*). Tras excluir los genes *BRCA* y síndrómicos, existen mutaciones patogénicas en otros genes. (Shira Peleg, *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 2020.)

nicas en estos genes impiden que las células se formen de la forma adecuada.

- **CDH1, CHEK2, PALB2, TP53** producen las proteínas necesarias para reparar el tejido celular.
- **PTEN, STK11** regulan el crecimiento celular y cuando están alterados existe una mayor probabilidad de crecimiento de tumores, tanto benignos como malignos.

Como se ha indicado, es importante recordar que tener una variante patogénica en un gen de alta o media penetrancia no significa que se desarrolle cáncer de mama, pero sí aumenta las probabilidades de ello. Otros factores, como antecedentes familiares, estilo de vida y factores ambientales, también pueden influir en el riesgo individual (8).

**Tabla 1.** Riesgo relativo de padecer cáncer de mama según los genes implicados en las variantes riesgo elevado (>5), riesgo moderado (2-5). (Tung N et al. *Cancer. J Clin Oncol*, 2016).

Gen	Riesgo relativo de cáncer de mama	Riesgo de otros tumores
<i>BRCA1</i>	10 veces	Ovario
<i>BRCA2</i>	10 veces	Ovario
<i>TP53</i>	Al menos 10 veces	Sarcoma, leucemia, carcinoma suprarrenal, cerebro, otros
<i>PTEN</i>	Al menos 5 veces	Endometrio, tiroides
<i>CDH1</i>	5 veces	Estómago
<i>STK11</i>	Al menos 5 veces	Páncreas, colon, estroma ovárico
<i>PALB2</i>	3-5 veces	Páncreas, ovario
<i>ATM</i>	2-3 veces	Colon, páncreas
<i>CHEK2</i>	2-3 veces	Colon, tiroides, pulmón

### CÁNCER DE OVARIO HEREDITARIO

Entre un 10 y un 15% de los casos de cáncer de ovario (fundamentalmente de estirpe epitelial) se consideran hereditarios. El cáncer de ovario hereditario está estrechamente ligado a las variantes patogénicas asociadas a cáncer de mama principalmente asociado a mutaciones en *BRCA1* y/o *BRCA2*, y el síndrome de Lynch asociado a variantes en los genes reparadores (*MLH1, MSH2, MSH6* y *PMS2*). Con menor frecuencia también aparece asociado a otros síndromes hereditarios como el síndrome de Li-Fraumeni (8).

### CÁNCER COLORECTAL

El cáncer colorrectal constituye la segunda causa más común de muerte por cáncer en el mundo occidental, siendo el segundo tipo de cáncer diagnosticado más frecuentemente.

Según la *Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO)* los tumores colorrectales esporádico representan entre el 65-85% de los cánceres, mientras que 10-30% presentan una agregación familiar. De los cánceres familiares el *Cáncer Colorrectal Hereditario no Polipósico (CCHNP)* o Síndrome de Lynch representa entre el 1-5% y la *Poliposis Adenomatosa Familiar (PAF)* representa aproximadamente el 1%, en función de la localización geográfica (ambos considerados como enfermedades genéticas con herencia autosómica dominante). La causa de esta variación no está clara, aunque las interacciones entre el genotipo y los factores medioambientales se consideran como un factor que afecta a la diferente expresión fenotípica de las mutaciones en los genes. (11).

El riesgo poblacional acumulado de padecer cáncer colorrectal es del 5-6% cuando hay un familiar de primer grado afecto, cuando hay varios familiares de segundo grado afectados este riesgo aumenta al 20%; en los síndromes hereditarios, como el síndrome de Lynch o la poliposis adenomatosa familiar, el riesgo se eleva hasta un 80-100% (12). Ambos síndromes se clasifican en función del número de pólipos adenomatosos que se observen.

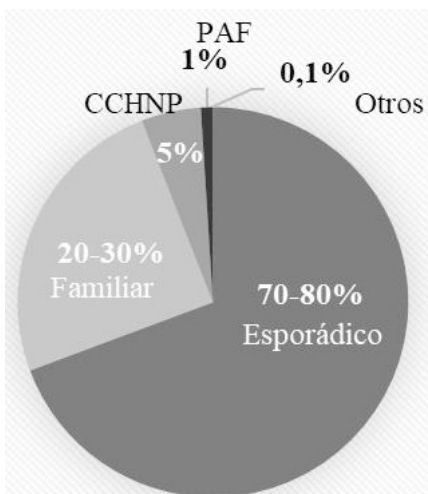


Imagen 3. Representación gráfica de los tipos de cáncer colorrectal.

Tabla 2. Clasificación del tipo de cáncer colorrectal y genes asociados en función del número de pólipos adenomatosos. (Giardiello FM., Am. J. Gastroenterol. 2014).

Síndrome		Gen
Escasos pólipos	Síndrome de Lynch	MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM
Pólipos adenomatosos	Poliposis adenomatosa familiar	APC
	Poliposis adenomatosa asociada a MYH	MUTYH
Pólipos hamartomatosos	Síndrome Peutz-Jeghers	STK11
	Síndrome de Cowden	PTEN

El síndrome de Lynch (SL) es la forma más frecuente de cáncer colorrectal (CCR) hereditario y se caracteriza por una predisposición al desarrollo de diferentes tumores, principalmente el riesgo acumulado de presentar CCR en individuos con este síndrome es del 40–80% y cáncer de endometrio (40–60%), principalmente en individuos jóvenes; pero también

Tabla 3. Riesgo acumulado de padecer diferentes tipos de cáncer en el Síndrome de Lynch (Lynch P., Rev. Med. Clin. Condes – 2017).

Cáncer colorrectal (varón)	65-80%
Cáncer colorrectal (mujer)	30-70%
Cáncer de endometrio	40-60%
Cáncer de ovario	9-12%
Cáncer gástrico	2-13%
Cáncer urinario	4-6%
Cáncer de cerebro	4%
Cáncer conductos biliares	2%
Cáncer intestino delgado	5%

está asociado con otros tumores como cáncer de estómago, vías urinarias, ovario, intestino delgado, piel, sistema nervioso central) representando un riesgo acumulado inferior al 10%. Las alteraciones moleculares presentes en los tumores de pacientes con SL son muy características, destacando la presencia de inestabilidad de microsatélites (IMS) y la pérdida de expresión de la proteína correspondiente al gen mutado (detectable por inmunohistoquímica) (13).

El cáncer puede ser causado por cambios en el ADN que activan a los oncogenes o desactivan a los genes supresores de tumores resultando en un crecimiento celular descontrolado. El cáncer colorrectal puede desarrollarse por modificación de dos vías moleculares, la vía supresora y la vía mutadora. Cada vía presenta una inestabilidad genómica característica. La vía supresora representa el modelo clásico de múltiples pasos en la progresión del adenoma hacia el carcinoma. Se inicia con la inactivación de genes supresores de tumores, como el APC o el TP53, junto con mutaciones en los oncogenes KRAS, SMAD y BRAF, las cuales conducen a una inestabilidad cromosómica; esta vía se acompaña de pérdidas de heterocigosidad (LOH) e inestabilidad cromosómica en muchos locus cromosómicos, el 85% de los tumores esporádicos presentan errores en esta vía (14).

La vía de mutación se caracteriza por una inestabilidad de microsatélites y se relaciona con mutaciones en los genes necesarios para la corrección de errores de replicación del ADN, es decir los genes implicados en el mecanismo de reparación (Mismatch Repair System, MMR) MLH1, MSH2, MSH6, PMS1 y PMS2 (15). Esta vía mutadora es la responsable del 15 al 20% de los casos del cáncer colorrectal esporádico, debido principalmente a variantes que afectan a la metilación del promotor del gen MLH1. En individuos con cáncer colorrectal hereditario, como el síndrome de Lynch, la vía mutadora está alterada hasta en el 90% de los casos. Las variantes presentes en el 50% de las familias con este síndrome se localizan principalmente en los genes MLH1 y MSH2, y tan sólo el 1% del total de las mutaciones encontradas afectan a otros genes reparadores como MSH6. Los genes PSM2, APC, MUTYH, explican síndromes poco frecuentes que presentan un incremento de riesgo a desarrollar este tipo de cáncer (16).

las familias con síndrome CCHNP deben seleccionarse para su estudio genético siguiendo los criterios de Ámsterdam, Ámsterdam modificado y los guías de Bethesda. Los criterios Ámsterdam I se publicaron en 1991, con el objetivo de seleccionar familias con fines de investigación siendo criterios altamente específicos. La IMS y su alta frecuencia en el cáncer colorrectal asociado al CCHNP, facilitó la aparición de los criterios de Bethesda en 1997 que indicaban la selección de las familias atendiendo principalmente al análisis de IMS en los tumores. En 1998 se propusieron unos nuevos criterios, denominados Ámsterdam tipo II. Estas guías pueden combinarse de forma que se puede usar la prueba IMS como cribaje para seleccionar que pacientes son susceptibles de tener una mutación en los genes reparadores (16).

## POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR

La *poliposis adenomatosa familiar* (PAF) es la segunda forma más frecuente de cáncer colorrectal hereditario. La PAF afecta a una de cada 10.000 personas y se caracteriza por el crecimiento de cientos o miles de pólipos (adenomas) en el colon, a menudo a una edad temprana. En función del número y densidad de pólipos podemos distinguir dos variedades clínicas: La forma clásica, donde se observan más de 100 pólipos, con predominio en colon izquierdo, y la forma atenuada, donde encontramos entre 20-100 pólipos, de aparición más tardía (tercera o cuarta década) y localización proximal con predominio en colon derecho. Podemos distinguir dos formas de herencia: Autosómica dominante asociada al gen APC (*poliposis adenomatosa coli*), con penetrancia superior al 95% y una forma autosómica recesiva asociada a MUTYH (30% de los casos).

El riesgo de desarrollar cáncer colorrectal en la PAF es del 100% si no se trata, mientras que en la *poliposis adenomatosa familiar atenuada* (PAFA) el riesgo de cáncer de colon es mayor que la media de la población aun siendo una enfermedad más leve que la PAF (16). Además de los factores genéticos, existen otros factores de riesgo asociados con el desarrollo de PAF, como la dieta, la obesidad, el consumo de carnes rojas, alcohol y cigarrillo, y la diabetes de tipo 2, entre otros.

## TECNOLOGÍA

La tecnología utilizada para el estudio genético considera "Gold standard" sigue siendo, todavía hoy, la secuenciación Sanger, de difícil aplicación para el análisis de todos los genes que se asocian actualmente al cáncer hereditario. El desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva o de nueva generación (*next generation sequencing* [NGS]) ha supuesto un punto de inflexión en el diagnóstico genético en general. La NGS permite la secuenciación simultánea de miles de millones de pares de bases de ADN de un individuo, con lo que mejora de forma importante la eficiencia, y aumento del rendimiento del análisis con una reducción del tiempo de respuesta y de los costes económicos. Mediante la NGS se puede analizar un gran número de genes, exomas e incluso genomas completos (17, 18).

La secuenciación masiva representa una alternativa en la evaluación del genotipo tumoral, ya que ofrece ventajas significativas para permitir la detección de las mutaciones de baja prevalencia, detectando todos los tipos de variación genética en una única prueba, como variantes de un único nucleótido o mutaciones puntuales, pequeñas inserciones y deleciones, y variantes estructurales tanto equilibradas (inversiones y traslocaciones) como desequilibradas (deleciones o duplicaciones) (19).

Actualmente existen diferentes paneles multigénicos que incluyen genes asociados a cáncer hereditario, basándose en aquellos genes conocidos por aumentar el riesgo de padecer cáncer y frente a los que podemos tomar medidas para poder disminuir su incidencia y/o aumentar la supervivencia de los pacientes con mutación mediante acciones preventivas o quirúrgicas. Estos paneles multigénicos suelen incluir genes de alta y moderada penetrancia,

y en muchas ocasiones incluyen además otros genes de penetrancia más baja o que confieren un riesgo aún no determinado. La NGS permite analizar simultáneamente pacientes con varios síndromes hereditarios diferentes pudiendo identificar la causa genética en un 8-10% más de familias que si utilizamos los métodos clásicos de secuenciación.

La utilización de paneles de genes presenta ventajas como reducción de los costes y disminución de estudios secuenciales, pero como inconveniente se aumenta la complejidad de la interpretación. En general, debemos tener en cuenta las siguientes consideraciones a la hora de la elección de un panel adecuado para la determinación de cáncer hereditario (20):

- Utilidad de la prueba: Si la prueba es para tratamiento de cáncer, necesitan rapidez y deben incluir sólo aquellos genes útiles para la terapia.
- El uso de paneles puede proporcionar resultados inesperados o no previstos: Por ejemplo, usando un panel para cáncer de colon podemos identificar mutaciones en BRCA.
- En el caso de genes de penetrancia moderada o baja no existen evidencias reales de su asociación a cáncer. Los resultados de riesgo asociado para estos genes es difícil de determinar y por tanto es difícil de explicar a los pacientes.
- Identificación de variantes de significado incierto (VSI). La determinación de estas variantes ha aumentado considerablemente, sin embargo, atendiendo a las guías clínicas, no deben utilizarse para predecir el riesgo de cáncer, aunque puede realizarse un seguimiento bibliográfico para determinar su patogenicidad en un futuro lo que conlleva a un asesoramiento complejo.

## UTILIDAD DEL ASESORAMIENTO Y ESTUDIOS GENÉTICOS EN CÁNCER HEREDITARIO

El objetivo principal de los estudios genéticos en cáncer hereditario es la detección de una alteración genética que pueda explicar los casos de cáncer en una familia específica y proporcionar información acerca de quién está en riesgo, pudiéndose beneficiar del seguimiento y métodos de prevención y reducción del riesgo. El asesoramiento genético es un proceso de comunicación donde se expresa la susceptibilidad hereditaria de padecer cáncer y las diferentes medidas a adoptar por los diferentes miembros de una familia.

La susceptibilidad a padecer cáncer hereditario se transmite entre los miembros de la misma familia de acuerdo a distintos patrones de herencia ya que se trata de mutaciones germinales en genes concretos. La herencia de una variante de alto riesgo de padecer cáncer o de alta susceptibilidad, no implica la certeza de desarrollarlo en todos los casos.

Todas las pruebas genéticas presentan limitaciones debidas a los sesgos del propio método estadístico y a la propia realidad biológica de los genes y las variantes; pero,

además, se debe considerar la presencia de fenocopias, es decir, la presencia de enfermedad debida a la influencia del ambiente y no a la presencia de variantes genéticas.

Todo el proceso del asesoramiento genético y práctica asistencial está enmarcado dentro de la ley y ética, tanto del profesional como del propio paciente, debemos considerar la Declaración de la Unesco del 2003 sobre los Datos Genéticos Humanos y el Convenio de Oviedo sobre Derechos Humanos y Biomedicina vigente, además de las normativas propias del Estado o la comunidad, y los principios de autonomía y no maleficencia a través de un adecuado proceso de consentimiento informado.

Las familias con cáncer hereditario presentan varios casos de cáncer, normalmente del mismo tipo, en diferentes generaciones, afectando principalmente a individuos jóvenes (entre los 40 y 50 años en los síndromes de mama/ovario y colorrectal). En estas familias pueden existir también individuos que han tenido más de un tumor primario. Al ser reconocido uno o varios de estas características en una familia por un facultativo, se debe derivar al paciente consultor a una Unidad de Cáncer Familiar, Servicio de Genética Clínica o de Oncología Clínica. La identificación de estas familias permite que sus miembros puedan beneficiarse de medidas eficaces como la detección precoz (21). Los últimos criterios de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) para derivación de pacientes a una consulta de asesoramiento genético se enumeran a continuación. Estos criterios son más laxos que los Criterios Ámsterdam y Bethesda, porque pretende un asesoramiento lo más amplio posible en la población.

#### *Tipos de cáncer hereditario-familiar y criterios de derivación a una Unidad de Gestión Clínica (22)*

Derivación de individuos proveniente de familias con riesgo aumentado de cáncer de mama/ovario (un criterio es suficiente):

- Dos o más casos de cáncer de mama y/u ovario en la misma línea familiar.
- Diagnóstico de cáncer de mama antes de los 50 años.
- Mujer con cáncer de mama y ovario.
- Varón con cáncer de mama.
- Mujer con cáncer de mama bilateral, uno de ellos diagnosticado antes de los 50 años.

Derivación de individuos con diagnóstico de poliposis colónica (un criterio es suficiente):

- Diagnóstico clínico de PAF con más de 100 pólipos adenomatosos diagnosticados mediante colonoscopia.
- Más de 10 pólipos adenomatosos y menos de 100 identificados por colonoscopia (poliposis adenomatosa atenuada).
- Diagnóstico de poliposis hamartomatosa en el colon.
- Diagnóstico de poliposis hiperplásica en el colon.

Derivación de individuos pertenecientes a familias con riesgo aumentado de cáncer de colon, recto y endometrio (un criterio es suficiente):

- Diagnosticado antes de los 50 años de cáncer de colon o recto.
- Dos diagnósticos de cáncer de colon o recto en el mismo individuo independientemente de la edad.
- Dos o más familiares de primer o segundo grado diagnosticados de cáncer de colon, recto o endometrio.
- Familiar de primer o segundo grado diagnosticado de cáncer de colon o de recto y al menos otro tumor del espectro correspondiente al Síndrome de Lynch (cáncer de endometrio, ovario, gástrico, páncreas, uréter y/o pelvis renal, tracto biliar, intestino delgado, tumor cerebral, adenomas sebáceos o queratoacantomas).

Durante el asesoramiento genético se realizan varias visitas al especialista quien realizará la evaluación individual del riesgo para el paciente y cada miembro de la familia, y las determinaciones genéticas oportunas (23).

En la consulta de asesoramiento genético pre-test se:

- Se recoge información sobre los antecedentes familiares de cáncer gracias a la entrevista clínica. Se solicitan datos hasta los parientes de segundo grado, siendo importante recoger información de los siguientes puntos:
  - Tipos de cáncer y edad de diagnóstico
  - Ascendencia materna o paterna hasta familiares de tercer grado.
  - Origen étnico (las personas de algunos orígenes étnicos, como aquellas con ascendencia judía asquenazí, están en mayor riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer)
  - Los resultados de las pruebas genéticas previas relacionadas con el cáncer
    - » Crear un árbol genealógico
    - » Proporciona una evaluación personalizada del riesgo de cáncer
    - » En caso oportuno, se informa y/o recomienda la realización de pruebas genéticas

Durante esta primera consulta o entrevista se informa al paciente de qué estudios genéticos son los más adecuados en su caso y qué resultados podemos esperar ya sean positivos, negativos o VSI. Debemos plantear el estudio genético como una opción y será el paciente el que, conociendo las limitaciones y beneficios de éste, así como de las medidas de detección precoz y prevención del cáncer, deberá tomar su propia decisión. Esta primera consulta debe ser realizada por personal con experiencia en la interpretación de informes y en técnicas de Genética y Biología Molecular ya que la interpretación de los resultados suele ser compleja debido a que no todas las técnicas tienen el mismo nivel de resolución.

**Tabla 4.** Genes comunes y recomendaciones clínicas preventivas. (Shira Peleg, *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 2020).

Gen	Recomendación quirúrgica	Recomendación radiación	Recomendación tratamiento sistémicos
BRCA1/2	Probable mastectomía bilateral	Radiación post-lumpectomía según indicación. Considerar radiación mama contralateral	Considerar inhibidores PARP/platino en caso de metástasis
TP53	Probable mastectomía bilateral	Considerar evitar la radiación debido al riesgo de malignidades secundarias. Debe discutirse la relación riesgo-beneficio	Respuesta limitada a quimioterapia. Evaluar el status HER2. Considerar el riesgo a una segunda malignidad.
CDH1	Existe una insuficiente evidencia de reducción de riesgo tras mastectomía. Evaluar en función de la historia familiar		Terapia adyuvante endocrina.
PTEN	Existe una insuficiente evidencia de reducción de riesgo tras mastectomía. Evaluar en función de la historia familiar		Considerar inhibidores PARP/platino
MSH1, MLH1, MSH6, PMS2, EPCAM	Existe una insuficiente evidencia de reducción de riesgo tras mastectomía. Evaluar en función de la historia familiar	Considerar el riesgo de una segunda malignidad	Valorar inmunoterapia en caso de metástasis
PALB2	Valorar probable mastectomía bilateral		Considerar inhibidores PARP/platino
CHEK2	Existe una insuficiente evidencia de reducción de riesgo tras mastectomía. Evaluar en función de la historia familiar		
ATM	Existe una insuficiente evidencia de reducción de riesgo tras mastectomía. Evaluar en función de la historia familiar	Evitar la radiación en variantes deletéreas ATM. La relación riesgo-beneficio debe discutirse en otras variantes	
BRIP1	Existe una insuficiente evidencia de reducción de riesgo tras mastectomía. Evaluar en función de la historia familiar		Considerar inhibidores PARP/platino

En la consulta post-test ya se conoce los resultados de las pruebas genéticas realizadas previamente por lo que se informa al paciente y/o familiares sobre:

- La probabilidad de presentar una neoplasia. Se utilizan modelos estadísticos que están basados principalmente en la historia personal y familiar de cáncer hereditario. Por ello, es importante obtener la mayor información familiar y la creación del árbol genealógico, a mayor información mayor será la precisión para estimar el riesgo. En muchas ocasiones el árbol familiar es poco informativo por lo que las estimaciones del riesgo no podrán ser precisas. Las familias pueden ser clasificadas como de predisposición baja, moderada y alta de presentar cáncer hereditario en base a la información del árbol genealógico (24).
- En caso de resultados positivos se informa de la probabilidad de transmitir a la descendencia la predisposición al cáncer. La mayoría de los genes implicados en cáncer hereditario son de herencia dominante por lo que existe una probabilidad del 50% de transmitir la variante a la descendencia.

- Las opciones preventivas, diagnósticas y reproductivas que tiene a su alcance para minimizar tanto el riesgo de padecer la enfermedad como de transmitirla.

En esta consulta post-test también se informa sobre las medidas preventivas más eficaces ya que el cáncer hereditario de mama y colorrectal, pueden prevenirse en un porcentaje muy alto de casos si se asesora de manera correcta a los pacientes (25,26). Dentro de estas medidas preventivas podemos hablar de:

- Diagnóstico precoz: En los individuos detectados como portadores de un resultado positivo se realizan las pruebas de diagnóstico precoz de forma más temprana que en la población general y utilizando técnicas no habituales en el cribado de este tipo de cánceres. Este diagnóstico precoz puede reducir la incidencia de cáncer en algunos tumores hasta en el 50% de los casos.
- Quimioprevención: Se basa en el uso de fármacos para reducir el riesgo de padecer cáncer principalmente en el caso de cáncer de mama y poliposis adenomatosa.

- **Cirugía preventiva:** Esta medida es especialmente delicada de informar a los miembros de las familias de alto riesgo y hay que tener muy en cuenta la sensibilidad de los pacientes. Se ofrece la extirpación del órgano de riesgo y se realiza cuando el riesgo de cáncer es extremadamente alto. La reducción de riesgo es muy alta en cáncer de mama y colon hereditario y, por tanto, debemos considerar la intervención quirúrgica como una opción más dentro del asesoramiento genético.

Todas estas medidas preventivas están dirigidas a las personas de alto riesgo de padecer cáncer debido a su historia familiar y que pueden beneficiarse de medidas que ya han demostrado su utilidad; pero es fundamental realizar un asesoramiento genético adecuado realizado por profesionales expertos (25, 26).

## PROYECTO

### INTERÉS DEL PROYECTO

Conocer la causa genética de la predisposición al cáncer en una familia con historia personal o familiar de susceptibilidad al cáncer ayuda a su manejo clínico, a conocer los familiares que presentan riesgo incrementado de padecer cáncer, y permite la detección temprana e incluso la prevención del cáncer en portadores de la mutación causal; todo ello se traduce en una disminución de la morbimortalidad por cáncer en las familias con alto riesgo genético (20).

Desde el punto de vista clínico, podemos utilizar el rendimiento diagnóstico como indicador de la eficiencia de la prueba. El número de familias beneficiadas por la aplicación de paneles multigénicos relacionados con cáncer hereditario supone un incremento de más de un 10% respecto a las familias en las que sólo se analizaban los principales genes asociados a cáncer hereditario. El solapamiento fenotípico entre algunos de los síndromes de cáncer hereditario hace recomendable el uso de paneles de genes más amplios para incrementar así el rendimiento diagnóstico.

Consideramos una necesidad, para el beneficio de los pacientes, la utilización de estos paneles multigénicos para dar una mejor respuesta y asistencia clínica ya que podrán beneficiarse, paciente y familiares, de protocolos de seguimiento prevención y tratamiento; pero también se hace necesario la valoración de la implantación de esta nueva técnica de secuenciación masiva tanto en el rendimiento económico y el rendimiento diagnóstico, es decir, en el número de pacientes donde se haya identificado la causa genética de su patología. Igualmente es de gran importancia conocer el espectro mutacional poblacional para facilitar el manejo clínico de pacientes y familiares. Uno de los principales objetivos planteados por las Sociedades Científicas y profesionales es la interpretación del significado clínico de las variantes genéticas obtenidas en los estudios genéticos. Es, por tanto, muy importante compartir en las bases de datos públicas las variantes obtenidas por cada laboratorio, los criterios de su clasificación y los fenotipos clínicos asociados.

Una valoración de la utilidad diagnóstica de estas nuevas tecnologías implementadas en nuestro laboratorio nos per-

mitirá la posibilidad de ampliar la inclusión del análisis genético incluso a otras patologías de carácter hereditario en nuestro Servicio.

## OBJETIVOS

**OBJETIVO PRINCIPAL:** Valoración del rendimiento diagnóstico de la aplicación de secuenciación masiva mediante la utilización de un panel multigénico de predisposición hereditaria de cáncer de mama/ovario y colorrectal.

**Objetivo 1.1:** Valoración del rendimiento diagnóstico de la aplicación del análisis de mutaciones en genes asociados al desarrollo de cáncer de mama y ovario hereditario distintos de BRCA1 Y BRCA2.

**Objetivo 1.2:** Valoración del rendimiento diagnóstico de la aplicación del análisis de mutaciones en genes distintos de MLH1, MSH6, MSH2 que, según la bibliografía, estén implicados en el desarrollo de cáncer de colon hereditario.

**OBJETIVO SECUNDARIO:** Determinación del espectro mutacional para la caracterización clínica y genética en nuestra población respecto al cáncer hereditario de mama/ovario, y colon.

## RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO DE LOS MISMOS EN EL CONOCIMIENTO CIENTÍFICO, SALUD DEL PACIENTE Y LA TECNOLOGÍA DE LOS LABORATORIOS

Con este estudio esperamos valorar el rendimiento y la aplicabilidad de este diagnóstico en nuestra población, donde debemos obtener al menos un 10% más de pacientes con patología de CHMO y colon hereditario, con lo cual se verán beneficiados un mayor número de familiares de estos pacientes que entrarán en el circuito de consulta de asesoramiento y prevención. Se da cobertura así a una mayor población que pide este tipo de intervenciones sanitarias.

Contribuiremos también a poner en primera línea tecnológica los hospitales públicos, con la inclusión de la secuenciación masiva en los protocolos diagnósticos de enfermedades hereditarias haciendo de la Consulta Genética y el Laboratorio de Genética de uno de los principales Servicios de referencia tecnológica en los que se reflejarán otros Servicios Hospitalarios.

Esperamos contribuir al conocimiento del espectro mutacional poblacional ya que es importante conocer las frecuencias alélicas que nos llevarán a incluir a las diferentes variantes que se obtengan como patogénicas.

## METODOLOGÍA

### TIPO DE ESTUDIO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

La recogida de datos y pacientes se inició en la Consulta de Asesoramiento Genético donde se realiza la historia familiar a los pacientes y se ofrece el estudio genético de la patología de CHMO o colon a aquellos que tengan criterios de inclusión. Se facilitó consentimiento informado propio del Laboratorio de Genética y Biología Molecular,



donde se incluye cláusula de aceptación para conservación de muestras para utilización en investigación. El consentimiento informado debe ser firmado para iniciar el estudio.

**SUJETOS PARTICIPANTES, CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN**

La consulta pre-test cobra una gran relevancia en este punto ya que es muy importante realizar un buen diagnóstico clínico e historia familiar para la selección correcta de las familias que incluiremos en el estudio genético. Y es en esta primera consulta donde se recopilan la historia y todos los informes clínicos de los pacientes.

Siguiendo las recomendaciones de la SEOM los criterios de inclusión en el estudio genético de CHMO se enumeran a continuación:

**Criterios de inclusión de pacientes en el estudio genético de cáncer de mama- ovario (2)**

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO PATOLÓGICAS	
Un caso de cáncer en la familia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cáncer de mama y ovario detectado al mismo tiempo que el cáncer conocido (sincrónico) o una detectado después de 6 meses del primer cáncer (metacrónico) en la misma persona.</li> <li>• Cáncer de mama en pacientes con menos de 35 años</li> <li>• Cáncer de mama bilateral, el primero diagnosticado antes de los 40 años.</li> <li>• Cáncer de mama triple negativo diagnosticado antes de los 50 años.</li> <li>• Carcinoma de ovario seroso-papilar de alto grado.</li> </ul>
Dos casos de cáncer en la familia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cáncer de mama bilateral o cáncer de mama diagnosticado antes de los 50 años.</li> <li>• Un cáncer de mama en varón.</li> <li>• Cáncer de mama + cáncer de ovario.</li> <li>• Dos cánceres de mama antes de los 50 años.</li> </ul>
Tres o más casos de cáncer en la familia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tres o más casos de cáncer de mama y/o ovario independientemente de la edad.</li> </ul>

**Criterios de inclusión en el estudio genético de cáncer de colon (27):**

*Criterios clínicos de sospecha diagnóstica del CCHNP*

- Criterios de Ámsterdam I/II (deben cumplirse todos los criterios)
  - Mínimo tres individuos con cáncer colorrectal u otros tumores asociados al CCHNP (endometrio, intestino delgado, uréter o pelvis renal)
  - Mínimo dos generaciones consecutivas afectas. Uno de los familiares debe ser primer grado de los otros dos
  - Mínimo un caso diagnosticado antes de los 50 años

- Exclusión del diagnóstico de PAF
- Confirmación de los diagnósticos mediante informes anatomopatológicos
- Criterios de Bethesda revisados (debe cumplirse al menos uno de los criterios)
  - Diagnostico antes de los 50 años de cáncer colorrectal
  - Presencia de cáncer colorrectal sincrónico o metacrónico,
  - Cáncer colorrectal y un tumor asociado a CCHNP, independientemente de la edad.
  - Cáncer colorrectal con histología de tumor de IMS-alta diagnosticado antes de los 60 años.
  - Cáncer colorrectal y uno o más familiares de primer grado con un tumor asociado a CCHNP diagnosticado antes de los 50 años.
  - Cáncer colorrectal y dos o más familiares de primer o segundo grado con un tumor asociado a CCHNP independientemente de la edad de diagnóstico.

**MÉTODO ANALÍTICO**

**Extracción de ADN.** Se recogió muestra de sangre de los pacientes, tubo EDTA de 5 ml, en la sala de extracción de muestras del Hospital. Las muestras tienen un código que identificará a los individuos para seguir la trazabilidad de la misma. El ADN se obtuvo utilizando el sistema automático QIAcube y la utilización de kits de extracción de ADN (Quiagen) siguiendo las instrucciones del fabricante.

**Generación de librerías.** Se utilizó el Kit Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics siguiendo las instrucciones del fabricante.

Este Kit incluye 26 genes involucrados en varios cánceres hereditarios mediante NGS diseñado para la identificación de variantes en línea germinal:

- *Cáncer hereditario de mama y ovario: ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, FAM175, MRE11, NBN, PALB2, PICK3CA, RAD50, RAD51C, RAD51D, TP53 y XRCC2.*
- *Síndrome de Lynch: EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2.*
- *Síndrome de poliposis Intestinal: MUTHY, PTEN y STK11.*
- *Poliposis adenomatosa familiar: APC.*

**Selección de genes a estudiar del panel NGS**

Existen diferentes guías que nos pueden ayudar a decidir qué genes debemos incluir en el panel de los asociados en el desarrollo de cáncer hereditario de mama-ovario y cáncer colorrectal. A la hora de decidir qué genes relacionados con el cáncer hereditario vamos a estudiar mediante NGS debemos conocer cuál es el riesgo de cáncer de mama en términos absolutos o relativos respecto al riesgo de cáncer de mama en la población general, si existen

medidas preventivas, médicas y/o quirúrgicas que podamos aplicar para reducir ese riesgo y a qué edad debemos empezar con el seguimiento clínico, y mejorar la supervivencia de los pacientes que presentan la mutación (28).

Bajo riesgo significa menos de dos veces el riesgo de la población general, riesgo moderado de 2 a 4 veces más alto, y un riesgo alto más de cuatro veces mayor que el riesgo normal de la población. Se consideran genes de alto riesgo de desarrollo de cáncer de mama BRCA1/2, TP53, PTEN, CDH1 y STK11. Existen mutaciones en otros genes que producen un riesgo menor de cáncer de mama pero que son más frecuentes que en la población general, los genes BRIP1, ATM, PALB2 y CHEK2 son considerados de riesgo moderado. Para estos genes existe una menor evidencia del seguimiento a realizar en los pacientes. Por último, se han descrito genes de bajo riesgo asociado y que pueden incrementar ligeramente el riesgo de cáncer de mama y en los que el seguimiento indicado dependerá de la historia familiar (28). Estos genes de baja penetrancia en ocasiones se incluyen en los paneles multigénicos, a pesar de que no haya evidencia suficiente de su asociación al cáncer hereditario, como son ARD1, FANCC, MRE11A, RECQL4, RINT1, SLX4, SMARCA4 o XRCC2. Como hemos indicado, las recomendaciones de seguimiento para los pacientes con variantes en estos genes se basan en la historia familiar por lo que en muchas ocasiones los grupos clínicos no los consideran en un panel de genes de diagnóstico, sino que los incluyen para investigación.

Siguiendo estas recomendaciones consideramos que, debido a la baja implicación de riesgo en los cánceres hereditarios y por el poco conocimiento de variantes patogénicas en los genes *BARD1*, *FAM175*, *MRE11*, *NBN*, *PICK3CA*, *RAD50*, *XRCC2* es preferible no analizarlos por la dificultad del asesoramiento genético a los pacientes que puede crear más incertidumbre que facilitar una decisión ante los posibles resultados que se pueden obtener para estos genes de baja penetrancia. Si se analizarán los genes de alta y moderada penetrancia.

## GENES

### GENES IMPLICADOS EN CANCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO (29, 30)

**ATM:** Este gen, localizado en el cromosoma 11q, codifica una proteína perteneciente a la familia PI3/PI4-quinasa. Esta

Tabla 5. Clasificación de genes según su grado de penetrancia (23).

Penetrancia	Síndrome	gen
Alta	CMOH	<i>BRCA1, BRCA2</i>
Alta	LYNCH	<i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM</i>
Alta	Otros	<i>APC, CDH1, MUTYH, PTEN, STK11, TP53</i>
Moderada	Múltiples	<i>ATM, BRP1, CHEK2, NBN, PALB2, RAD51C, RAD51D</i>
Baja	Otros	<i>BARD1, FAM175A, MRE11A, RAD50.</i>

proteína es una importante quinasa de punto de control del ciclo celular; por lo tanto, funciona como un regulador de una amplia variedad de proteínas vía abajo, incluyendo las proteínas supresoras de tumores p53 y BRCA1, la quinasa de punto de control CHK2, las proteínas de punto de control RAD17 y RAD9, y la proteína de reparación del ADN NBS1. Se cree que esta proteína y la quinasa ATR, estrechamente relacionada con ella, son controladoras importantes de las vías de señalización del punto de control del ciclo celular, implicadas en la respuesta celular al daño del ADN y la estabilidad del genoma.

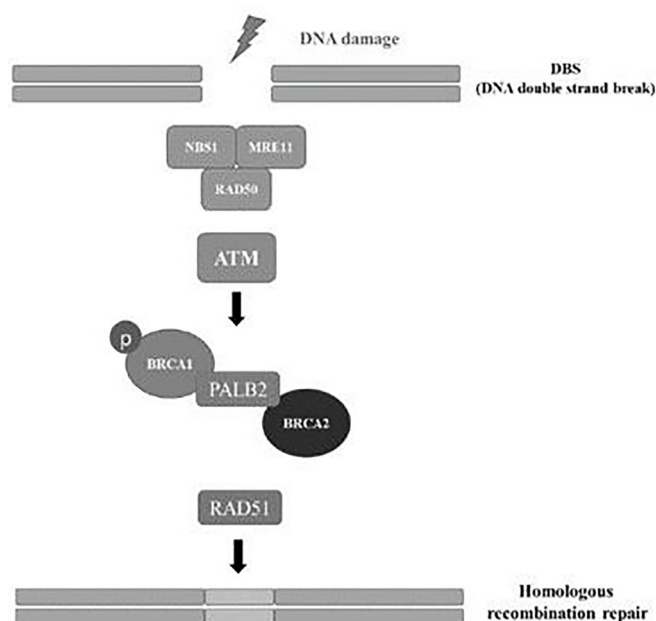
Al detectar roturas de doble cadena (DSB), la quinasa codificada por ATM inicia la respuesta al daño del ADN fosforilando histonas y, posteriormente, otras proteínas, como BRCA1, formando un complejo que actúa en el lugar dañado. Además, ATM fosforila p53, lo que da lugar a la expresión del inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina p21 conduciendo a la senescencia o la apoptosis.

Las mutaciones en este gen están asociadas a la ataxia telangiectasia (A-T), un trastorno autosómico recesivo. Las variantes de la línea germinal en pacientes con A-T dan lugar a una predisposición al cáncer, con mayor frecuencia hematológico o de mama.

**BRCA1:** Con localización en 17q21.31. Este gen actúa como supresor tumoral, codificando una fosfoproteína nuclear que actúa en el mantenimiento de la estabilidad genómica. El gen BRCA1 contiene 22 exones que abarcan unos 110 kb de ADN. La proteína codificada se combina con otros supresores tumorales y proteínas que reparan el daño en el ADN y con transductores de señales para formar un gran complejo proteico conocido como complejo de vigilancia del genoma asociado a BRCA1 (BASC). Este producto génico se asocia con la ARN polimerasa II y, a través del dominio C-terminal, también interactúa con los complejos histona deacetilasa. Esta proteína actúa principalmente en la transcripción, la reparación de roturas de doble cadena en el ADN y la recombinación.

Las mutaciones en BRCA1 en la línea germinal constituyen un signo distintivo de los cánceres hereditarios de mama y ovario. Son responsables de aproximadamente del 40% al 80% de los cánceres de mama y ovario hereditarios. Se ha demostrado que las variantes que alteran la función de la proteína aumentan el riesgo de padecer además otros cánceres como los de próstata y páncreas. También está descrito que el estado mutacional en BRCA1 puede predecir la respuesta al tratamiento sobre el cáncer de ovario concluyendo con varios ensayos en los que ciertas variantes en BRCA1 han mostrado una mejor respuesta a los agentes de platino llevando finalmente a la aprobación por la FDA de los inhibidores de PARP (poli-(A-DP-ribosa-polimerasa) para los cánceres de ovario BRCA positivos. Estos estudios han llevado a la Sociedad de Oncología Ginecológica a recomendar el análisis genético del gen BRCA1 en todas las pacientes con diagnóstico de cáncer de ovario.

**BRCA2:** Localizado en 13q13.1. Las mutaciones heredadas en BRCA1 y en este gen, BRCA2, confieren un mayor riesgo a lo largo de la vida de desarrollar cáncer de mama o de ovario. Es considerado como un gen supresor de tu-



**Imagen 4.** Vía HR activada por DSBs. Una vez que se produce el DSB, el complejo MRN (MRE11, RAD51 y NBS1) recluta y fosforila ATM en el lugar del DSB. Un complejo de BRCA1-PALB2-BRCA2 se transloca al núcleo celular y se une a RAD51. (Lee, J.D. *Cancers* 2022).

mores, tumores con mutaciones en BRCA2 suelen presentar pérdida de heterocigosidad (LOH) del alelo de tipo salvaje. Ambos genes participan en el mantenimiento de la estabilidad del genoma, concretamente en la vía de recombinación homóloga para la reparación de la doble cadena del ADN. El exón más grande de ambos genes es el exón 11, donde se localizan las mutaciones más importantes y frecuentes en pacientes con cáncer de mama. La proteína BRCA2 contiene varias copias del motivo BRC de 70 a. a., que median la unión a la recombinasa RAD51, el complejo formado actúa en la reparación del ADN.

Al igual que en BRCA1, las variantes BRCA2 en la línea germinal se consideran un rasgo significativo de los cánceres hereditarios de mama y ovario. Se ha demostrado que las variantes que reducen la función de la proteína aumentan el riesgo de padecer estos cánceres, así como los de próstata y páncreas. Las enfermedades asociadas con BRCA2 incluyen también Anemia de Fanconi, Grupo de Complementación D1.

### **PREDISPOSICIÓN DE PADECER CÁNCER HEREDITARIO DEBIDO A MUTACIONES EN BRCA1 Y BRCA2**

**Cáncer de mama:** Cáncer de mama es el principal cáncer presente en la población femenina, el 13% de las mujeres tendrán cáncer de mama en algún momento de su vida. Este porcentaje aumenta muy significativamente para aquellas mujeres que heredan una variante patogénica en BRCA1 alcanzando entre el 55% al 72% y el 45% al 69% de las que heredan una variante patogénica en BRCA2 (2).

**Cáncer de ovario:** Se estima que el 1,2% de las mujeres de la población general tendrán cáncer de ovario en algún momento de la vida. Las mujeres que son portadoras de una

variante patogénica en BRCA1, en cambio, tienen una probabilidad del 39% al 44% de desarrollar cáncer de ovario entre los 70 y 80 años y del 11% al 17% si son portadoras de una variante en BRCA2 (2).

Las variantes patogénicas en estos dos genes aumentan también el riesgo de otros tipos de cáncer como el cáncer de trompa de Falopio y el cáncer primario de peritoneo, ambos cánceres comienzan en las mismas células que el tipo más común de cáncer de ovario. Los hombres con variantes patogénicas en BRCA2 y, en un grado menor en BRCA1, también tienen un aumento en el riesgo de padecer cáncer de mama y en menor grado, cáncer de próstata.

Además, algunas variantes en BRCA1 y BRCA2 se asocian a un aumento en el riesgo de cáncer de páncreas tanto en hombres como en mujeres, aunque el aumento en el riesgo es bajo. También se han asociado a subtipos de anemia de Fanconi, un síndrome poco común asociado a tumores sólidos infantiles y a la leucemia mieloide aguda (31).

**BRIP1:** Localizado en 17q23.2. La proteína codificada por este gen es miembro de la familia de las helicasas e interactúa con las repeticiones BRCT del cáncer de mama tipo 1 (BRCA1). El complejo formado es importante en la función reparadora de roturas de doble cadena del ADN, y al estar alterada su función puede inducir cáncer de mama.

Las enfermedades asociadas con BRIP1 incluyen Anemia de Fanconi, Grupo de Complementación J y Cáncer de Mama.

**CDH1:** Localizado en el locus 16q22.1. Este gen codifica una cadherina clásica de la superfamilia de las cadherinas. El splicing alternativo da lugar a múltiples variantes del transcrito, al menos una de las cuales codifica una pre-proteína que se procesa proteolíticamente para generar la glicoproteína madura. Esta proteína de adhesión célula-célula dependiente del calcio está compuesta por cinco repeticiones extracelulares de cadherina, una región transmembrana y una cola citoplasmática altamente conservada.

Las mutaciones en este gen están relacionadas con el cáncer gástrico, mama, colorrectal, tiroides y de ovario. Se cree que la pérdida de función de este gen contribuye a la progresión del cáncer al aumentar la proliferación, invasión y/o metástasis.

**CHEK2:** Localizado en la citobanda 22q12.1. La proteína codificada por este gen es un regulador del punto de control del ciclo celular y un supresor tumoral putativo que se genera en respuesta a daños en el ADN y bloqueos de la replicación, deteniendo así la progresión del ciclo celular. Cuando se activa, esta proteína inhibe la fosfatasa CDC25C, impidiendo la entrada en mitosis, y se ha demostrado que estabiliza la proteína supresora de tumores p53, lo que conduce a la detención del ciclo celular en G1. Esta proteína interactúa con BRCA1 y la fosforila, lo que permite a BRCA1 a restablecer la supervivencia celular tras daños en el ADN.

Se cree que mutaciones en este gen confieren una predisposición a sarcomas, cáncer de mama, cáncer de próstata

ta, tumores cerebrales y síndrome de Li-Fraumeni, un tipo de cáncer familiar muy penetrante que suele asociarse con mutaciones hereditarias en TP53.

**NBN:** Localizado en 8q21.3. Las mutaciones en este gen están asociadas con el síndrome de rotura de Nijmegen, un síndrome de inestabilidad cromosómica autosómico recesivo caracterizado por microcefalia, retraso del crecimiento, inmunodeficiencia y predisposición al cáncer. La proteína codificada es un miembro del complejo de reparación de rotura de doble cadena MRE11/RAD50 que consta de 5 proteínas. Se cree que el producto de este gen está implicado en la reparación de la rotura de la doble cadena del ADN y en la activación del punto de control inducida por el daño en el ADN.

Las enfermedades asociadas con NBN incluyen Nijmegen Breakage Syndrome y Anemia aplásica.

**PALB2:** Localizado en el cromosoma 16p12.2. Este gen codifica una proteína que actúa como supresor de tumores. Esta proteína se une y colocaliza con la proteína de inicio temprano del cáncer de mama 2 (BRCA2) en focos nucleares y probablemente permite la localización intranuclear estable y la acumulación de BRCA2. Desempeña un papel crítico en la reparación de la recombinación homóloga (HRR) a través de su capacidad para reclutar BRCA2 y RAD51 a las roturas del ADN. Estimula fuertemente la actividad de invasión de la cadena de ADN de RAD51, estabiliza el filamento de nucleoproteína frente al polipéptido BRC3-BRC4 y ayuda a RAD51 a superar el efecto supresor de la proteína de replicación A (RPA). Sirve de andamiaje molecular en la formación del complejo BRCA1-PALB2-BRCA2, que es esencial para la recombinación homóloga.

Las enfermedades asociadas con PALB2 además de cáncer de mama incluyen cáncer de páncreas y anemia de Fanconi 3.

**RAD51C:** Este gen es uno de los cuatro localizados en una región del cromosoma 17q22-23 donde la amplificación se produce con frecuencia en los tumores de mama. Este gen es miembro de la familia RAD51. Los miembros de esta familia participan en la recombinación homóloga y la reparación del ADN. Esta proteína puede interactuar con otros parálogos de RAD51 y es importante para la resolución de la unión Holliday. Se ha observado la sobreexpresión de los cuatro genes durante la amplificación, lo que sugiere un posible papel en la progresión tumoral. Forma parte de los complejos proteicos BCDX2 y CX3, parálogos de RAD51, que actúan en diferentes etapas de la vía HRR dependiente de BRCA1-BRCA2.

Las enfermedades asociadas con RAD51C incluyen Cáncer de Mama-Ovario, Familiar 3 y Anemia de Fanconi.

**RAD51D:** Con localización en 17q12. La proteína codificada por este gen es miembro de la familia de proteínas RAD51. Esta proteína forma un complejo con varios otros miembros de la familia RAD51, incluidos RAD51L1, RAD51L2 y XRCC2. Se ha demostrado que el complejo proteico formado con esta proteína cataliza el emparejamiento homólogo entre el ADN monocatenario y bicatenario, y se cree que desempeña un papel en la fase inicial de reparación por recombinación homóloga (HRR) de las roturas de ADN de doble

cadena que se producen durante la replicación del ADN o inducidas por agentes que dañan el ADN. También se une al ADN monocatenario (ssDNA) y tiene actividad ATPasa dependiente del ADN. Forma parte del complejo proteico BCDX2 parálogo RAD51, que actúa en la vía HR dependiente de BRCA1-BRCA2.

Las enfermedades asociadas con RAD51D incluyen cáncer de mama y ovario.

**TP53:** Con localización en el cromosoma 17p13.1. Este gen codifica una proteína supresora de tumores que se activa en respuesta a diversas condiciones de la célula para regular la expresión de genes diana, induciendo así la detención del ciclo celular, la apoptosis, la senescencia, la reparación del ADN o cambios en el metabolismo. Las mutaciones de TP53 son universales en todos los tipos de cáncer. La pérdida de un supresor tumoral es más a menudo a través de grandes eventos deletéreos, tales como mutaciones de cambio de marco, o codones de parada prematura. Sin embargo, en el TP53, muchas de las mutaciones observadas en el cáncer son variantes que provocan la aparición de un codón sin sentido o stop. Estas variantes están ampliamente distribuidas por todo el gen, aunque la mayoría se localizan en el dominio de unión al ADN donde no hay un único punto caliente, siendo las posiciones de aminoácidos 175, 245, 248, 273 y 282 especialmente frecuentes en estas variantes. El gen TP53 se asocia con variantes somáticas en diferentes tipos de cánceres, pero también es importante en la línea germinal. Las mutaciones de TP53 en la línea germinal son un signo distintivo del síndrome de Li-Fraumeni, y parece ser que muchas variantes (tanto de la línea germinal como somáticas) tienen un impacto pronóstico en los resultados de los pacientes.

Las enfermedades asociadas con TP53 incluyen Síndrome de Li-Fraumeni y Papiloma del Plexo Coroideo.

## GENES IMPLICADOS EN CÁNCER COLORECTAL HEREDITARIO (29, 30)

### SÍNDROME DE LYNCH

**EPCAM:** Gen localizado en la citobanda 2p21. Este gen codifica un antígeno asociado al carcinoma y es miembro de una familia que incluye al menos dos proteínas de membrana de tipo I. Este antígeno se expresa en la mayoría de las células epiteliales normales y en los carcinomas gastrointestinales y se está utilizando como diana para el tratamiento inmunoterápico de carcinomas humanos. Puede actuar como una molécula de interacción homofílica entre las células epiteliales intestinales y los linfocitos intraepiteliales en el epitelio de la mucosa para proporcionar una barrera inmunológica como primera línea de defensa contra la infección de la mucosa. Interviene en la proliferación y diferenciación de células madre embrionarias.

Las enfermedades asociadas con EPCAM incluyen Diarrea 5 con enteropatía Tufting congénita y Síndrome de Lynch 8.

**MLH1:** Localizado en 3p22.2. Se trata de un gen supresor de tumores implicado en la reparación de los desajustes del ADN. La proteína codificada por este gen puede for-

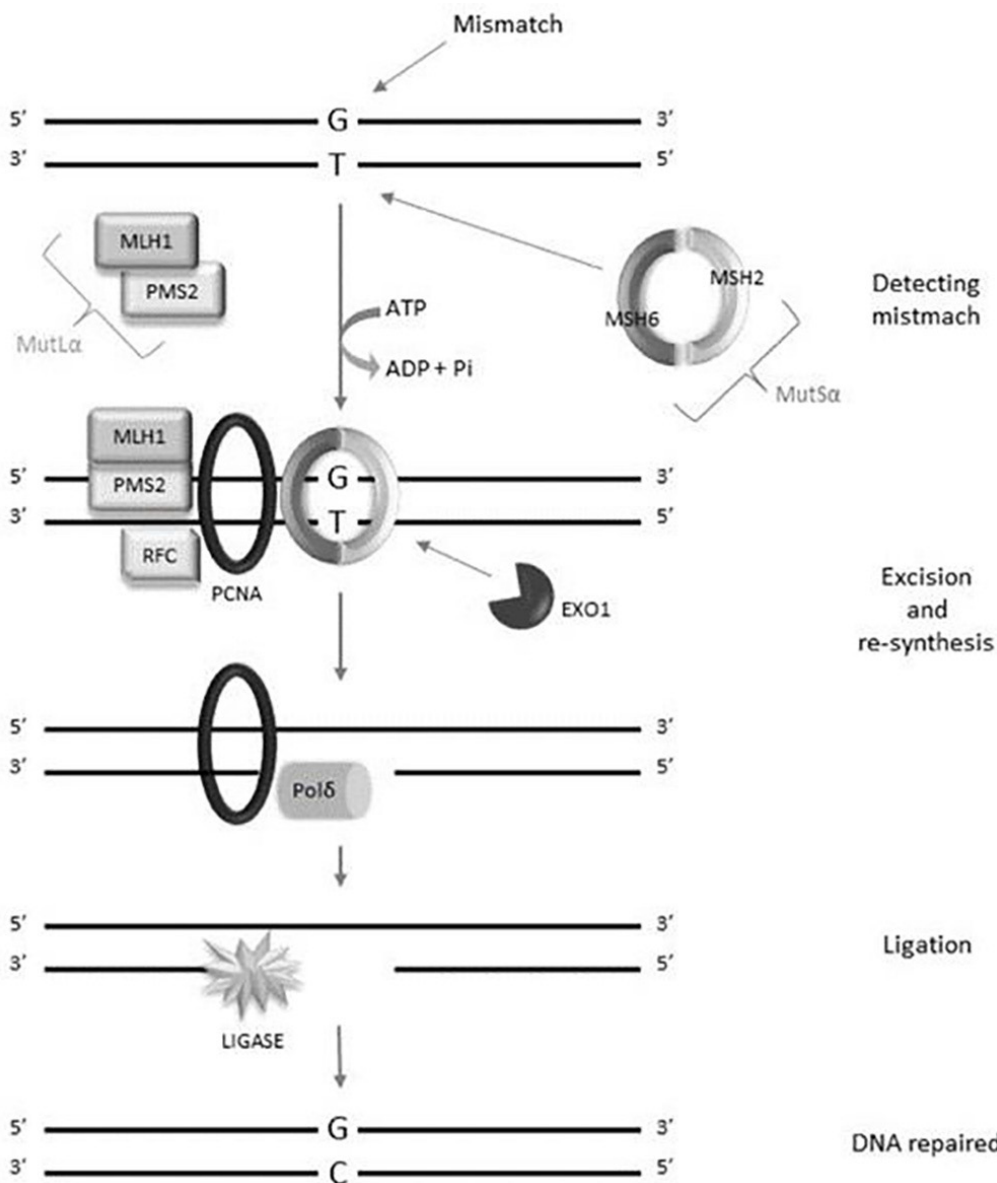


Imagen 5. Complejo de proteínas del sistema de reparación de desajuste. (Cherri et. al, Ther Adv Med Oncol 2022).

mar heterodímeros con la endonucleasa de reparación de desajustes PMS2 y MLH3 para formar MutL alfa, parte del sistema de reparación de desajustes del ADN. MutL alfa (MLH1-PMS2) interactúa físicamente con las subunidades de unión a la ADN polimerasa III, lo que sugiere que puede desempeñar un papel para reclutar la ADN polimerasa III al sitio de la MMR. También está implicado en la señalización de daños en el ADN, un proceso que induce la detención del ciclo celular y puede conducir a la apoptosis en caso de daños importantes en el ADN.

Es el gen principalmente responsable del síndrome de Lynch cuyas neoplasias malignas más frecuentes son los carcinomas colorrectales y endometriales. Además de las mutaciones en la línea germinal, se han descrito mutaciones somáticas en este gen en cánceres colorrectales y de endometrio.

**MSH2:** Con localización en 2p21-p16.3. Es un componente del sistema post-replicativo de reparación de errores de emparejamiento del ADN (MMR). Forma dos heterodímeros diferentes: MutS alfa (heterodímero MSH2-MSH6) y MutS

beta (heterodímero MSH2-MSH3) que se unen a los desajustes del ADN iniciando así la reparación del ADN. Cuando se unen, los heterodímeros doblan la hélice del ADN y protegen aproximadamente 20 pares de bases. MutS alfa reconoce los desajustes de una sola base y los bucles de inserción-delección de dinucleótidos (IDL) en el ADN. MutS beta reconoce bucles de inserción-delección más grandes, de hasta 13 nucleótidos de longitud. La unión y la hidrólisis de ATP desempeñan un papel fundamental en las funciones de reparación de los emparejamientos erróneos. La actividad ATPasa asociada a MutS alfa regula la unión de forma similar a un interruptor molecular: El ADN mal emparejado provoca el intercambio ADP→ATP, lo que da lugar a una transición conformacional reconocible que convierte a MutS alfa en una pinza deslizante independiente de la hidrólisis a lo largo de la espina dorsal del ADN.

Las enfermedades asociadas con MSH2 incluyen Síndrome de Muir-Torre y Síndrome de Lynch 1.

**MSH6:** Localizado en 2p16.3. Componente del sistema post-replicativo de reparación de errores de empareja-

**Tabla 6.** Riesgos de cáncer por gen en individuos con síndrome de Lynch a los 70 años en comparación con la población general. (Peltomäki, P. Gastroenterol. 2023).

Tipo de cáncer	Población general	Riesgo de cáncer a los 70 años							
		MLH1		MSH2		MSH6		PMS2	EPCAM
		F	M	F	M	F	M	F+M	F+M
CCR	2%	44%	53%	42%	46%	20%	12%	3%	75%
Endometrio	1%	35%		46%		41%		13%	12%
Ovario	0,7%	11%		17%		11%		3%	
Estómago	1%	8%	16%	10%	16%	2%	4%		
Intestino delgado	< 1%								
Hepatobiliar	< 1%	3%	4%	13%	16%	6%	2%		
Urinario	< 1%	3%	5%	7%	9%	1%	4%		
Próstata	4%		7%		16%		5%	5%	
Mama	5%	11%		13%		11%		8%	

miento del ADN (MMR). Este gen codifica un miembro de la familia MutS de reparación de desajustes del ADN. La proteína codificada se heterodimeriza con MSH2 para formar un complejo de reconocimiento de desajustes que funciona como un interruptor molecular bidireccional que intercambia ADP y ATP a medida que se unen y disocian los desajustes del ADN.

Las mutaciones en este gen pueden estar asociadas con el SCCHNP, el cáncer colorrectal y el cáncer de endometrio.

**PMS2:** Localizado en el cromosoma 17p22.1. Componente del sistema post-replicativo de reparación de errores de emparejamiento del ADN (MMR). La proteína codificada por este gen es un componente clave del sistema de reparación de desajustes que funciona para corregir las pequeñas inserciones y deleciones que pueden producirse durante la replicación del ADN y la recombinación homóloga. Esta proteína forma heterodímeros con el producto génico del gen mutL homólogo 1 (MLH1) para formar el heterodímero MutL-alfa. Las mutaciones en este gen se han asociado con el CCHNP y el síndrome de Turcot.

### SÍNDROME DE POLIPOSIS INTESTINAL

**MUTYH:** Este gen, localizado en el cromosoma 1p34.1, codifica una ADN glicosilasa implicada en la reparación del daño oxidativo del ADN. La enzima elimina bases de adenina de la espina dorsal del ADN en lugares donde la adenina está emparejada de forma inapropiada con guanina, citosina u 8-oxo-7,8-dihidroguanina, una de las principales lesiones oxidativas del ADN. La proteína se localiza en el núcleo y las mitocondrias. Se cree que el producto de este gen desempeña un papel en la señalización de la apoptosis mediante la introducción de roturas de cadena sencilla tras el daño oxidativo. Las mutaciones en homocigosis en este gen dan lugar a una predisposición hereditaria al cáncer colorrectal, denominada poliposis asociada a MUTYH (MAP).

Las enfermedades asociadas con MUTYH incluyen Poliposis adenomatosa familiar 2 y Cáncer gástrico.

**PTEN:** Localizado en 10q23.31. Es un supresor tumoral multifuncional que se pierde con mucha frecuencia en el cáncer humano. La proteína codificada contiene un dominio similar a la tensina, así como un dominio catalítico similar al de las proteínas tirosina fosfatasa, pero a diferencia de éstas, PTEN defosforila preferentemente sustratos fosfoinositídicos. Regula negativamente los niveles intracelulares de fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato en las células y funciona como supresor tumoral al regular negativamente la vía de señalización AKT/PKB. La proteína PTEN tiene también una isoforma más larga que se asocia preferentemente con la membrana interna mitocondrial contribuyendo a regular el metabolismo energético en las mitocondrias.

PTEN se encuentra asociado a cáncer de próstata, glioblastoma, endometrio, pulmón y mama en diversos grados. Se ha observado que hasta el 70% de los pacientes con cáncer de próstata presentan pérdida de expresión del gen. Forma parte de la vía PI3K/AKT/mTOR y los inhibidores de mTOR han sido relativamente ineficaces en el tratamiento de pacientes con pérdida de PTEN. Actualmente se están investigando nuevos enfoques con microARN.

**STK11:** Localizado en el locus 19p13.3. Codifica una proteína quinasa serina/treonina supresora de tumores que controla la actividad de los miembros de la familia de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), desempeñando así un papel en diversos procesos como el metabolismo celular, la polaridad celular, la apoptosis y la respuesta al daño del ADN. También fosforila proteínas no pertenecientes a la familia AMPK como STRADA, PTEN y posiblemente p53/TP53. Las mutaciones en este gen se han asociado con el síndrome de Peutz-Jeghers autosómico dominante, así como con cánceres de piel, páncreas y testículos.

## POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR

**APC:** Este gen con localización en 5q22.2 codifica una proteína supresora de tumores que actúa como antagonista de la vía de señalización Wnt. También interviene en otros procesos, como la migración y adhesión celular, la activación transcripcional y la apoptosis. La actividad de APC está correlacionada con su estado de fosforilación. Interviene en la migración celular inducida por el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). Es necesaria para la regulación al alza de MMP9 a través de la vía de señalización JNK en células tumorales colorrectales.

Las mutaciones asociadas a la enfermedad tienden a agruparse en una pequeña región del gen APC denominada región de agrupación de mutaciones (MCR) y dan lugar a un producto proteico truncado.

Las enfermedades asociadas con APC incluyen Poliposis Adenomatosa Familiar 1 y Cáncer Gástrico. En los individuos heterocigóticos se desarrollan múltiples pólipos adenomatosos benignos en las primeras décadas de la vida, solo uno o 2 sufren transformación maligna. Se ha descrito una variante, conocida como síndrome de Gardner, debida a una heterogeneidad genética en el gen APC. Estos pacientes, además de los pólipos con transformación maligna, presentan osteomas y desmoides (tumores originados en la pared abdominal).

## SECUENCIACIÓN

El análisis de secuenciación se realizó en un secuenciador MiSeq de Illumina, mediante amplificación por captura, y generación de ficheros FASTQ, BAM y VCF. El mínimo de lectura de bases y la cobertura del amplicón fue de 50x y 100x respectivamente.

Los datos de secuenciación fueron analizados por el software MySeq Reporter, para generación de archivos FASQ, alineación con el genoma de referencia Homo sapiens hg19 para crear los archivos BAM y posterior llamada de variante, para generar los archivos VCF. Después de esto, se utilizó Variant Studio 3.0 para el filtrado de variantes y anotaciones.

**Anotación de variantes, tipos de mutaciones:** La anotación del genoma es el proceso por el cual se le adjudica información biológica a las secuencias de ADN. Se interpretarán en la plataforma SOPHIA DDM, diseñada para el análisis de NGS en el diagnóstico de rutina. En cuanto a las consecuencias, consideramos las variantes:

**Cambio de sentido o missense:** Son variantes que afectan a una única base de un triplete codificando así un aminoácido diferente del que debería, es decir, en esa posición de la proteína habrá un aminoácido incorrecto. De esta forma se puede alterar más o menos la función de la proteína dependiendo de la localización e importancia del aminoácido.

**Sin sentido o nonsense:** En este tipo de mutación hay un cambio en una de las bases de un triplete que dará lugar a un nuevo codón de terminación o de fin de la cadena de aminoácidos. Se trunca así la proteína, que según dónde se produzca la ganancia del codón stop preservará algo de función o no.

**Mutación en el sitio de empalme o de splicing:** Alteración genética en la secuencia de ADN que ocurre en el límite entre un exón y un intrón (sitio de empalme). Este cambio puede alterar el corte y empalme del ARN dando lugar a la pérdida o inclusión de exones y/o intrones que alteran la secuencia de codificación de la proteína.

**Deleciones e inserciones sin desplazamiento de pauta de lectura o inframe:** En este tipo de mutación se pierden (delección) o se inserta (inserción) tres o más bases en múltiplo de tres (con pérdida o ganancia de aminoácidos).

**Deleciones e inserciones con desplazamiento de pauta de lectura o frameshift:** Este tipo de mutación provoca la inserción o pérdida de pares de bases no múltiplos de 3 cambiando así el marco de lectura de la proteína con la incorporación de aminoácidos erróneos con la posibilidad de generar un triplete STOP prematuro.

El programa permite además el análisis de variaciones en el número de copias de ADN (CNV). Estas CNVs pueden ser tan largas que pueden comprometer un gen entero o varios genes contiguos.

## CLASIFICACION DE VARIANTES. RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS GENETICOS

Tras el análisis de cada uno de las secuenciaciones realizadas, se enfrentaron las secuencias con la referencia humana hg19 y fueron filtradas y clasificadas en base a las recomendaciones publicadas por el Colegio Americano de Genética Médica y Genómica en cinco en cinco categorías: Benignas (clase 1), probablemente benignas (clase 2), de significado incierto (clase 3), probablemente patogénicas (clase 4) y patogénicas (clase 5) (34), atendiendo a la frecuencia alélica (MAF<1%), patogenicidad in silico (mediante la utilización de los software Align-GVGD, SIFT, PolyPhen, Mutation Taster).

Las variantes obtenidas se identificaron por consulta de las bases de datos públicas: Clin-Var (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), COSMIC (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/>) y Ensembl (<http://www.ensembl.org/>). HGMD (<https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>).

Atendiendo a la clasificación de variantes obtenida y a los datos clínicos del paciente las pruebas genéticas pueden tener varios resultados posibles: Positivo, negativo, negativo verdadero, negativo sin información, variante de importancia indeterminada o variante benigna (21, 23). Los datos de cada paciente se recogieron durante la consulta de Asesoramiento Genético, datos demográficos y clínicos atendiendo al tipo de cáncer hereditario, datos familiares, características anatomopatológicas del cáncer, en caso de ser un paciente afecto de cáncer, etc.

- **Resultado positivo.** Un resultado positivo de una prueba significa que la variante genética está asociada a un síndrome hereditario de predisposición al cáncer. Este resultado indica que dicha variante puede explicar el origen del desarrollo del tumor en el caso de que la persona ya presente la enfermedad. Si el portador de la variante no presenta aún la enfermedad nos indica que existe un riesgo aumentado de padecer cáncer hereditario.

tario en el futuro con lo que se puede intervenir clínicamente para reducir ese riesgo.

- **Resultado negativo:** Significa que no se ha detectado una variante genética en los genes analizados para la que está diseñada la prueba. Este resultado es más útil cuando ya se sabe que en una familia está presente una variante genética que causa una enfermedad específica. Si un miembro de la familia que se hizo la prueba no ha heredado la variante nos indica que esta persona no tiene el síndrome hereditario de predisposición al cáncer presente en su familia. Este resultado se considera un “*verdadero negativo*” y podemos informar a esa persona de que el riesgo de padecer cáncer es similar al de la población general con lo que el seguimiento y prevención será el recomendado a la población general. La obtención de un resultado negativo no es tan útil cuando está presente en una persona con fuertes antecedentes familiares de cáncer, pero en la que no se conoce variante patogénica asociada al mismo, en este caso, un resultado negativo de la prueba se clasifica como “*negativo sin información*” ya que generalmente no provee información útil. Hay que tener muy en cuenta que un resultado negativo no descarta la posibilidad de desarrollar cáncer en un futuro, ya que la mayoría de los casos son esporádicos. También cabe la posibilidad de que existan otros genes (tanto conocidos como desconocidos) relacionados con cáncer hereditario que no se hayan incluido en el estudio genético.
- **Resultado no concluyente o de importancia indeterminada:** Este resultado indica que se ha encontrado una variante de significado incierto (VSI o VUS, por sus siglas en inglés de Variant of Uncertain Significance). Esto quiere decir que, en la actualidad, los conocimientos científicos no son suficientes y se desconoce si la variante se asocia con un mayor riesgo de cáncer, por lo que el resultado es no concluyente. Estas VSI normalmente no se toman en cuenta para las decisiones de atención clínica para disminución de riesgo de cáncer. Suelen ser cambios en la secuencia de ADN (missens, intrónico, delección o inserción inframe) infrecuentes, con efecto biológico o significación clínica desconocida y no reconocida por las bases de datos o la literatura como patogénica.

Tras la obtención de un resultado no concluyente conviene realizar un seguimiento de los resultados en las distintas bases de datos, ya que en un futuro podría esclarecerse si la variante está o no implicada en el desarrollo del cáncer (35).

- **Variante benigna.** Este resultado se obtiene cuando la presencia de un cambio genético es común en la población general entre las personas sin cáncer. Estos resultados no se suelen informar ya que es común que todo el mundo tenga variantes benignas o polimorfismos que no están asociadas a un mayor riesgo de cáncer.

Los resultados de las pruebas genéticas se basan en el conocimiento científico disponible en el momento en que se realiza la prueba. El conocimiento sobre la clasificación de las variantes genéticas va aumentando a medida que los investigadores obtienen más información sobre las asociaciones de las mutaciones a las enfermedades. Con el tiempo lo que sucede más frecuentemente es que las variantes ini-

cialmente clasificadas como VSI, cambian su clasificación a “*benignas*” (sin importancia clínica), pero a veces puede ser reclasificada como asociada a mayores riesgos de cáncer. En la actualidad se recomienda realizar revisión de VSI de forma anual a partir del segundo año de haber realizado el estudio genético (35).

Como hemos indicado, un resultado positivo no implica el desarrollo de cáncer, sino un riesgo aumentado de padecerla. Conocer esta información tiene un gran valor, pues permite tomar medidas lo antes posible encaminadas a evitar su aparición como realizar intervenciones quirúrgicas o farmacológicas e incluso medidas más sencillas como llevar un estilo de vida saludable o dejar de fumar, entre otras. La información de los estudios genéticos de predisposición al cáncer no es solo útil para la persona que se lo realiza, sino también para sus familiares. Estos, ante un resultado positivo de un familiar, pueden someterse también a la prueba para conocer si presentan igualmente la variante (24).

En un último análisis se generó un documento Excel que nos permitió realizar el análisis estadístico, evaluando el número de pacientes con variantes patogénicas o VSI en genes diferentes de los principales según tipo de cáncer y determinar el espectro mutacional de nuestra población.

## LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Puede darse el caso que en determinados pacientes no se encuentre mutación asociada al cáncer, bien porque el gen mutado no está incluido en el panel multigénico utilizado, bien porque no se trate de cáncer hereditario con mutación en células germinales.

## RESULTADOS

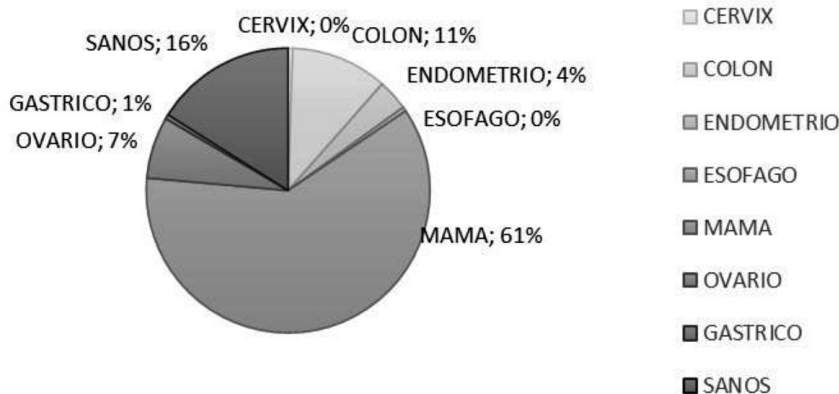
### MUESTRAS DE PACIENTES

Se analizó el ADN de la línea germinal de 198 pacientes pertenecientes a familias con CHMO y CCR de alto riesgo mediante el Panel de Secuenciación Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics. Las características de la cohorte estudiada se detallan en la Tabla 6. Las familias estudiadas fueron afectas predominantemente de cáncer de mama y CCR; sin embargo, se observan otras neoplasias malignas tanto en los probandos como en algunos miembros de la familia, incluyendo cáncer de endometrio, gástrico, ovárico, esófago, cérvix (Tabla 7 e imagen 6). La edad media en el momento del diagnóstico fue de 47.5 años en los pacientes con cáncer de mama y 57 años en los pacientes con cáncer de colon. Entre los pacientes el 14% fue analizado para los genes implicados en CCR del panel (9 genes) (MLH1, MSH2, MSH6, APC, MUTYH, STK11, EPCAM, PTEN, PMS2), el 22% para genes implicados en cáncer de mama (15 GENES) (ATM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1, MSH2, MSH6, PALB2, PTEN, RAD51C, RAD51D, STK11 Y TP53) y en el 64% de los pacientes se analizaron genes relacionados con cáncer de mama y colon (19 genes) (Imagen 7). El resto de los genes del panel (7 genes BARD1, FAM175, MRE11, NBN, PICK3CA, RAD50, XRCC2) se decidió no analizarlos dada su baja penetran-



Tabla 7. Características de los pacientes. (Dx, diagnóstico).

		ESTUDIO COLON	ESTUDIO MAMA	DX < 50 AÑOS	DX > 50 AÑOS	SANOS	EDAD MEDIA DX	EDAD MEDIA NGS	EDAD MEDIA NGS SANOS
HOMBRES	24	22	2	1	11	12	58.5	61	59
MUJERES	173	27	147	94	60	19	48.5	53	51
<b>TOTAL</b>	<b>198</b>	<b>49</b>	<b>149</b>	<b>95</b>	<b>71</b>	<b>31</b>	<b>53.5</b>	<b>56.5</b>	<b>55</b>



TIPO CÁNCER	Nº PACIENTES	EDAD MEDIA DX
CÉRVIX	1	34
COLON	22	57
ENDOMETRIO	7	57.5
ESÓFAGO	1	63
GÁSTRICO	1	84
MAMA	120	47.5
OVARIO	15	50.5
SANOS	31	55

Tabla 8. Imagen 6. Características de los tipos de cáncer de los probandos.

cia en el desarrollo de cáncer y la dificultad que entraña la explicación a pacientes y familiares de la probabilidad de que esa variante sea causa real de cáncer y la probabilidad de desarrollar cáncer durante su vida, atendemos a sí a las últimas indicaciones clínicas.

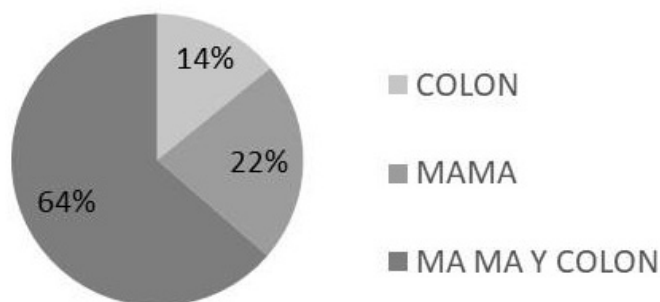


Imagen 7. Porcentaje de pacientes en los cuales se analizan los genes implicados en cáncer de mama (15 genes) (ATM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1, MSH2, MSH6, PALB2, PTEN, RAD51C, RAD51D, STK11 Y TP53), cáncer de colon (9 genes) (MLH1, MSH2, MSH6, APC, MUTYH, STK11, EPCAM, PTEN, PMS2) o todos los genes (19 genes).

### RESULTADOS DE SECUENCIACIÓN

De los 198 pacientes estudiados, encontramos 29 pacientes con variantes patogénicas o probablemente patogénicas (15%), todas ellas validadas por secuenciación Sanger o MLPA (Tabla 8). De ellas, 18 (62%) corresponden a pacientes con cáncer de mama y ovario y 11 (38%) a pacientes con cáncer de colon. Las Figuras 8 y 9 resumen las variantes encontradas en los 198 pacientes estudiados. De los pacien-

tes con CHMO, el 12% presentan variantes informativas patogénicas, el 65% no muestra variante en ninguno de los genes estudiados y el 12% presentan variantes no informativas o variantes de significado incierto (VSI). En los pacientes con cáncer de colon y relacionados, el 22% presentan variantes informativas, el 55% no presentan variantes en los genes estudiados y el 23% presentan VSI.

Tabla 9. Análisis de variantes encontradas en los probandos mediante secuenciación NGS.

	Negativos	Patogénica	VSI
MAMA	97	18	34
COLON	27	11	11
TOTAL	124	29	45
%	62%	15%	23%

La tabla 9 muestra los resultados clínicos y características moleculares de los pacientes con variantes patogénicas. De los 18 pacientes con cáncer de mama en los que se han descrito variantes informativas, 7 tenían mutaciones en BRCA1 y 2, lo que representa que el 39% de las mutaciones afectan a los principales genes responsables de cáncer de mama, confirmando así que estos genes son los responsables mayoritarios de desarrollar cáncer de mama y ovario. Los otros genes están asociados con fenotipos específicos y riesgos de padecer cáncer de mama por ser

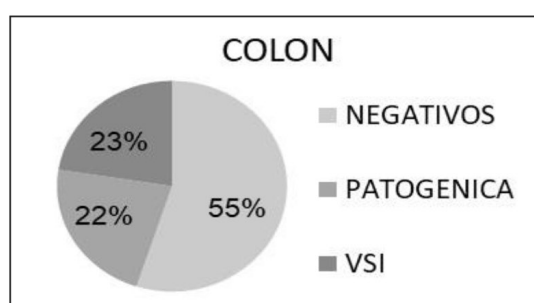
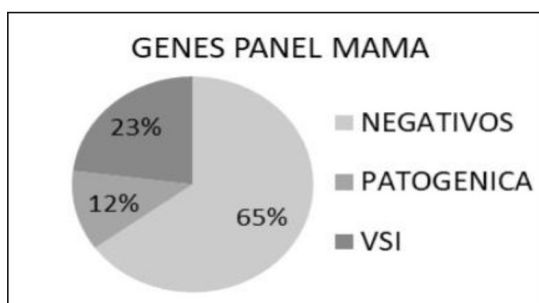


Imagen 8 y 9. Representación esquemática de las variantes encontradas en los pacientes según su información.

socios en la función de BRCA1 o BRCA2; como ATM, en el que encontró 5 pacientes con mutación en este gen (28%) y PALB2 en el que uno de los analizados presenta mutación (5%); o genes implicados en el control del ciclo celular o transducción de señales mitóticas (CHEK2) encontrándose 4 pacientes con mutación (22%). Además, se encontraron dos pacientes con mutación en MUTYH que representan el 5,5% de las mutaciones encontradas.

De los 11 pacientes con cáncer de colon en los que se han descrito variantes informativas, 5 (45%), tenían mutaciones en MLH1/MSH6/PMS2 genes MMR (mismatch repair), principales responsables de predisposición al cáncer, y 6 (55%) presentaban mutaciones no MMR. Se encontró dos pacientes con mutación en APC (18%), 1 en PALB2 (10%), 1 en EPCAM (10%) y dos pacientes con variante en MUTYH (18%). Cabe destacar que la variante en MUTYH en los 3 pacientes que la portan es la misma variante, c.1187G>A (p. Gly396Asp), si bien tan sólo uno de ellos es homocigoto para la misma, paciente 41299322, los otros dos pacientes son heterocigotos para variante en MUTYH por lo que no se considera causante de la enfermedad.

### TIPO PREDICCIÓN Y FRECUENCIA DE MUTACIONES POR GEN

La distribución por gen de las mutaciones encontradas se puede observar en la imagen 11. El mayor número de mutaciones se ha encontrado en el gen BRCA2 con 5 mutaciones incluyendo dos varones que presentaron cáncer de mama, seguidos de ATM y CHEK2 ambos con 4 mutaciones. En total se han localizado 12 mutaciones en genes MMR y HR (homologous recombination) (46%) (2 en MLH1, 2 en MSH6, 2 en BRCA1, 5 en BRCA2, 1 en PMS2). El tipo, la predicción y la frecuencia de todas las mutaciones encontradas se pueden observar en la Tabla 9. Se obtuvieron 2 variantes de cambio de sentido (missense), 16 cambio en la pauta de lectura (frameshift) 4 por duplicaciones de nucleótidos y 12 por deleciones, con resultado de codón stop en la proteína, 5 por cambio de nucleótido con resultado de codón stop, 2 que afectan a la zona de splicing y una CNV. Todas estas variantes eran raras, 20 de ellas descritas en las bases de datos como patogénicas (ClinVar y HGMD), las otras 6 no están descritas en las bases de datos consultadas, pero se consideraron

ID	SEXO	CRITERIO FAMILIAR	TIPO DE CÁNCER	EDAD NGS (EDAD Dx)	GEN	VARIANTE c.	VARIANTE p.	EXON	TIPO DE MUTACION	N.º rs	PREDICCIÓN	CLINVAR	
41298802	HOMBRE	POLIPOSIS FAMILIAR	COLON POLIPOSICO	58 (40)	APC	c.3183_3187delACAAA	p.Gln1062Terfs	16	ganancia stop	rs587779352	PATOG	Descrita	
54231228	MUJER	POLIPOSIS FAMILIAR	COLON POLIPOSICO	35 (35)	APC	c.2805C>G	p.Tyr935Ter	16	ganancia stop	rs137854575	PATOG	Descrita	
51294603	MUJER	BETHESDA	COLON	74 (70)	EPCAM	c.53_73del21	p.Ala18_Gln24fs*43	1	delección inframe	NO rs DESCRITA EN ClinVar	PATOG	Descrita	
54160966	MUJER	AMSTERDAN I, II	COLON	37 (36)	MLH1	c.117-1G>T		INTRON 1	Aceptor de splicing		PATOG	Descrita	
44008103	MUJER	BETHESDA	SANA	37 (SANA)	MLH1	c.1667G>C	p.Ser556Thr	14	cambio de sentido	rs63751596	PATOG	Descrita	
54170575	MUJER	BETHESDA	COLON	59 (57)	MSH6	c.3996_3999dupATT	p.Arg1334Ilefs*8	9	duplicación inframe		PROB PATOGE	No descrita	
44008535	MUJER	AMSTERDAN I	ENDOMETRIO	59 (42)	MSH6	c.762dupT	p.Glu255Ter	4	ganancia stop		PROB PATOGE	No descrita	
54170047	MUJER	BETHESDA	SANA	67 (SANA)	MUTYH	c.1187G>A	p.Gly396Asp	13	cambio de sentido	rs36053993	PATOG	Descrita	HETERO
41299322	MUJER	BETHESDA	SANA	59 (SANA)	MUTYH	c.1187G>A	p.Gly396Asp	13	cambio de sentido	rs36053993	PATOG	Descrita	HCMD
51322891	MUJER	BETHESDA	ENDOMETRIO	54 (53)	PALB2	c.1535dupA	p.Tyr512Ter	4	ganancia stop		PROB PATOGE	No descrita	
54164225	MUJER	BETHESDA	ENDOMETRIO/MAMA	56/69 (71)	PMS2	c.2186_2187delITC	p.Leu729Glnfs*5	13	delección inframe	rs587779335	PATOG	Descrita	
44008538	MUJER	C. mama menor de 35 años.	MAMA	36 (35)	ATM	c.8251_8254delACTA	p.Thr7251Serfs*54	56	Delección inframe	rs786202120	PATOG	Descrita	
51364727	MUJER	Tres casos, dos en primer grado y a edad temprana	MAMA	45 (38)	ATM	c.3046G>T	p.Gly1016Ter	20	Ganancia stop		PROB PATOGE	No descrita	
54171977	MUJER	más de tres casos familiares	MAMA	67 (66)	ATM	c.3046G>T	p.Gly1016Ter	20	Ganancia stop		PROB PATOGE	No descrita	
21066251	MUJER	2 familiares con cáncer antes de los 50 años	MAMA	36 (36)	ATM	c.1564_1565delGA	p.Glu522Ilefs*27	10	Delección inframe	rs587779817	PATOG	Descrita	
51323314	MUJER	cáncer bilateral	MAMA	53 (29/72)	ATM	c.2839-2A>G		INTRON 28	Aceptor de splicing	rs1060501703	PATOG	Descrita	
44008542	MUJER	3 familiares con C. mama y C. ovario	MAMA	36 (36)	BRCA1	c.68_69delAG	p.Glu23Valfs*17	2	Delección inframe	rs386833395	PATOG	Descrita	

51322425	MUJER	C. ovario alto grado + 2 familiares 1 C. mama y 1 C. ovario	OVARIO	49 (49)	BRCA1	c.83_84delTG	p.Leu28Argfs*11	3	Delección inframe	rs80357728	PATOG	Descrita	
41296506	HOMBRE	Hombre	MAMA	72 (72)	BRCA2	c.4060dupA	p.Thr1354Asnfs*7	11	duplicación inframe		PROB PATOGE	No descrita	
51323025	MUJER	menor de 30 años	MAMA	37 (26)	BRCA2	c.6209_6212delAAAG	p.Glu2070Valfs*9	11	Delección inframe	rs276174866	PATOG	Descrita	
51308072	HOMBRE	Hombre	MAMA	51 (51)	BRCA2	c.2376C>A	p.Tyr792Ter	11	Ganancia stop	rs80358503	PATOG	Descrita	
51323693	MUJER	Cancer de mama bilateral, uno de ellos con 37 años	MAMA	53 (37)	BRCA2	c.5720_5723delCTCT	p.Ser1907Ter	11	Ganancia stop	rs80359530	PATOG	Descrita	
41296949	MUJER	más de tres familiares con cáncer	MAMA	42 (38)	CHEK2	DUPLICACION DE exones 6,7 y 8			CNV		PROB PATOGE	No descrita	
44240619	MUJER	triple negativo menor de 50 años	MAMA	48 (45)	CHEK2	c.1100delC	p.Thr367Metfs*15	11	Delección inframe	rs555607708	PATOG	Descrita	
41299401	MUJER	C. mama con recidiva metastasica	MAMA	59 (42)	CHEK2	c.507delT	p.Phe169Leufs*1	5	Delección inframe	rs587780183	PATOG	Descrita	
54166951	MUJER	7 familiares con diversos cánceres 3 menores de 50	UTERO	67 (54)	CHEK2	c.409C>T	p.Arg137Ter	4	Ganancia stop	rs730881701	PATOG	Descrita	
44008937	MUJER	Familia con C. mama y C. ovario	SANA	51 (SANA)	MUTYH	c.1187G>A	p.Gly396Asp	13	cambio de sentido	rs36053993	PATOG	Descrita	hetero
41291637	MUJER	3 familiares C. mama	MAMA	69 (68)	PALB2	c.1653T>A	p.Tyr551Ter	4	Ganancia stop	rs118203997	PATOG	Descrita	
41298384	MUJER	madre C. mama y C. ovario familia reducida	SANA	74 (SANA)	BRCA2	c.1792delA	p.Thr598Hisfs*15	10	Delección inframe	rs886040389	PATOG	Descrita	

Tabla 10. Características, criterios de inclusión y variantes obtenidas en pacientes analizados para genes implicados en susceptibilidad a CMOH y cáncer colorrectal.



Imagen 10. Número de variantes encontradas en el estudio clasificadas por tipo de error producido en el ADN.

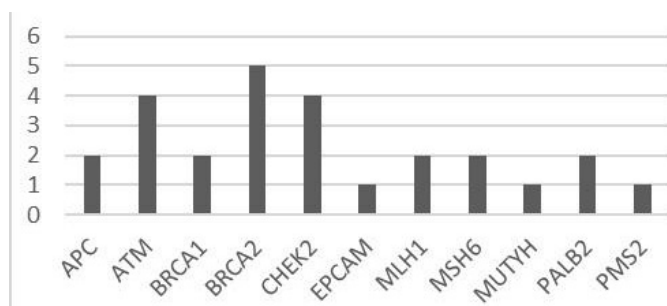


Imagen 11. Número de mutaciones encontradas con el uso del Panel de Secuenciación Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics.

probablemente patogénicas debido al tipo de mutación (ganancia de stop o frameshift y delección de varios exones) y las predicciones in silico. Estas variantes de novo fueron: MSH6 c.3996\_3999dupATT, MSH6 c.762dupT, PALB2 c.

1535dupA, ATM p.Gly1016Ter, BRCA2 c.4060dupA, CHEK2 duplicación de exones 6, 7 y 8.

### FRECUENCIA DE VSI EN GENES DE SUSCEPTIBILIDAD AL CÁNCER

Todas las variantes encontradas por NGS fueron analizadas por ClinVar, y aquellas variantes clasificadas como clase 3 fueron seleccionadas como VSI (23% de los pacientes). La imagen 11 muestra que la mayoría de los VSI se localizaron en el gen ATM un gen considerado como de media penetrancia en la predisposición al cáncer de mama.

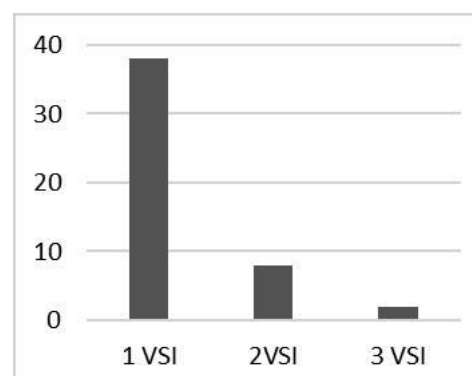


Imagen 12. Frecuencia de VSI encontradas utilizando el Panel de Secuenciación Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics.

La Imagen 12 muestra que la relación entre el número de pacientes y el número de variantes por paciente es inversamente proporcional: 38 pacientes tenían 1 VSI, mientras que sólo dos pacientes tenían 3 VSI. Tres pacientes (IDs 51294603, 51323693 y 44008937) con VSI también tenía una mutación deletérea concomitante.

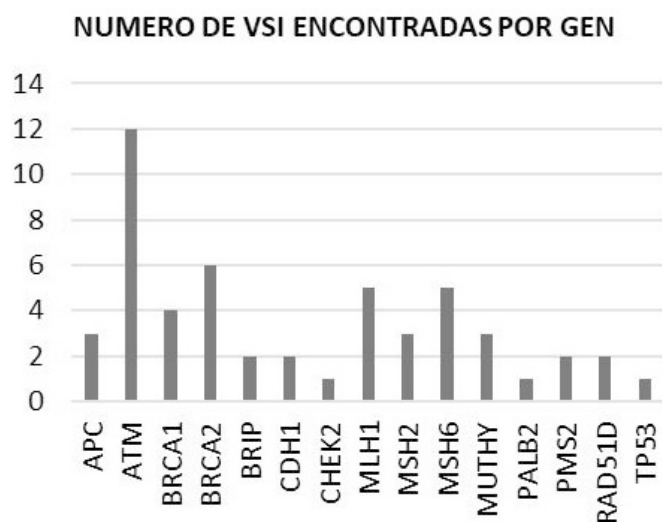


Imagen 13. Número de pacientes con VSI y genes implicados.

## DISCUSIÓN

En conjunto, las familias con algún pariente con cáncer representan un número significativo de casos en las Unidades de Asesoramiento Genético y se consideran un gran problema en la clínica. A pesar de ello, la comprensión genética de los síndromes hereditarios ha crecido a lo largo de los años, lo que ha llevado a un aumento de la demanda de pruebas genéticas (18). La limitación de los antiguos métodos de cribado debido a su menor sensibilidad y a la reducción del número de genes estudiados ha conducido al aumento de las pruebas de panel multigénicos en oncología, y dado las ventajas de analizar múltiples genes, los beneficios de su aplicación en la práctica clínica son obvias (20).

En este estudio, 198 pacientes fueron analizadas usando el Panel de Secuenciación NGS Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics que se centra en genes conocidos por su papel en la predisposición al cáncer.

En nuestro estudio los pacientes tienen una media de edad de 55 años. Las edades en el momento del diagnóstico de cáncer de mama fueron menores que en el síndrome de Lynch, que es muy similar a la edad de los pacientes sanos que consultan por antecedentes familiares. En nuestra población, el estudio genético se ha realizado unos cinco años después del diagnóstico de la enfermedad, siendo principalmente mujeres con diagnóstico de cáncer de mama, igualmente los pacientes sanos que consultan por antecedentes familiares son en su mayoría, mujeres con familiares que han padecido cáncer de mama. Probablemente este sesgo sea debido a la gran difusión de la prevención y seguimiento de cáncer de mama realizado por los diferentes sistemas sanitarios (22, 23). Se han publicado directrices específicas para los portadores de las familias que tienen algún síndrome asociado a cáncer de mama y colorrectal (1-4) que pueden beneficiarse de las medidas preventivas establecidas para el diagnóstico precoz de la enfermedad.

En los últimos años se han publicado numerosos estudios que abordan los beneficios de las pruebas de paneles de NGS para el diagnóstico de cánceres hereditarios en comparación con las anteriores pruebas de detección de un solo

gen. La última versión del Registro de Pruebas Genéticas del NCBI enumera más de 200 paneles multigénicos propuestos por diferentes laboratorios (4). Todos ellos coinciden en las enormes ventajas del panel especialmente en lo referente al tiempo y rentabilidad y a su mayor sensibilidad, la única cuestión que permanece abierta al debate es la selección de los genes que deben incluirse (17). La dificultad estriba principalmente con los genes de riesgo moderado. Cuando una variante BRCA1 patogénica se identifica en una mujer, se ofrecen las pruebas a sus familiares y, cuando son negativos, se tranquiliza a los familiares. Cuando se identifica una variante patogénica en un gen de riesgo moderado, como por ejemplo ATM, especialmente en una mujer con antecedentes familiares graves, no podemos afirmar que sea la razón que "recapitule" la historia familiar (37). El panel multigénico se presenta generalmente como una sola prueba, pero en realidad se analizan numerosas pruebas cuyos resultados son tan numerosos como el número de genes probados. Debido a que la utilidad clínica de los genes de riesgo moderado no está firmemente establecida y porque las pruebas disponibles para los parientes no son inequívocas, existen grupos que seleccionan el análisis de genes de los diferentes paneles en función de sus posibles resultados y la dificultad que entrañan los mismos a la hora de realizar un adecuado asesoramiento genético y clínico. Por ejemplo, el Grupo Francés de Genética y Cáncer (GGC) - Unicancer eligió no incluir ATM y CHEK2 en el panel multigénico de cáncer de mama y ovario (36). En nuestro caso hemos utilizado un panel de 26 genes, sin embargo, la elección de los genes a analizar se basó en el conocimiento actual de las variantes patogénicas de estos genes en el desarrollo de cáncer principalmente establecidas para genes de alta penetrancia y por tanto en la alta posibilidad de detectar VSI de difícil interpretación en genes de moderada y baja penetrancia con la dificultad clínica que ello conlleva en el asesoramiento a las familias. Por todo ello, en nuestra Unidad Clínica se ha propuesto, por el momento, no realizar el análisis de estos últimos genes, reduciendo el análisis a 19 genes.

De todos los pacientes que fueron evaluados, el 65% fueron informados de que no se había encontrado ningún gen implicado en su patología. Este resultado no los exime de padecer cáncer en un futuro, tal como se les indica en la Consulta de Asesoramiento Genético de la Unidad. El 14,6% presentaron variantes informativas. Este resultado es muy reconfortante ya que en los diversos estudios de viabilidad del estudio genético asociado a cáncer hereditario revelan un rendimiento entre el 10-15% (10, 17, 19), este rendimiento es aceptable para la implementación de los estudios genéticos de genes asociados a cáncer hereditario en los hospitales. De las variantes patogénicas encontradas, el 62% presentaba mutaciones en genes de alta penetrancia, y por tanto sus familiares serían susceptibles de beneficiarse de un verdadero asesoramiento genético, tomando medidas tales como reducir la vigilancia de los no portadores, que evitarían el estrés asociado a la espera de que se desarrolle un cáncer.

De las variantes patogénicas, siete eran nuevas (24% de las variantes patogénicas encontradas) y no se habían descrito anteriormente en las bases de datos de variantes

verificadas (ClinVar, InSiGHT y UMD). Hay suficiente evidencia para afirmar que estas 7 variantes nuevas son patogénicas, según se desprende del análisis realizado mediante la plataforma Varsome y Franklin, por lo que se añadirán a las bases de datos públicas para su referencia futura.

De los pacientes con variantes patogénicas, 18 (62%) corresponden a pacientes con cáncer de mama y ovario y 11 (38%) a pacientes con cáncer de colon. También es posible pensar que los pacientes seleccionados para el estudio genético de cáncer colorrectal no están bien seleccionados y puede que se haya utilizado un criterio más laxo para la inclusión de los mismos en el estudio.

Seis de las familias de CCHNP portan una mutación patógena de la línea germinal la presentan en uno de los genes MMR: MLH1, MSH6, PMS2, y deleciones del gen EPCAM que silencian a MSH2, y por lo tanto se consideran familias con Síndrome de Lynch. El panel también permitió la identificación de mutaciones en otros genes conocidos de alta penetrancia para CCR, como MUTYH (bialélico), APC, así como en el caso de penetrancia moderada genes como MUTYH (monoalélico), CHEK2, ATM, y PALB2. Entre todos los genes no MMR, APC, MUTYH son bien conocidos por estar implicados en CCR polipósico. En cuanto al portador bialélico de MUTYH, no hubo información de la presencia de pólipos en el momento de la selección del paciente, pero una mirada más profunda en la historia familiar reveló que el paciente presentó múltiples pólipos. Por el contrario, los 2 portadores monoalélico de la mutación MUTYH no mostraron ningún signo de poliposis hasta donde sabemos. Sin embargo, el riesgo que confieran las mutaciones monoalélicas de MUTYH es desconocido, por lo que es improbable que sean la única causa de cáncer en las familias correspondientes, una de las pacientes donde se encontró variante patogénica en MUTYH de hecho tenía historia de cáncer de mama y colon, con lo que el resultado encontrado refleja uno de los resultados indeseables del estudio genético utilizando panel de genes mixtos, encontrando resultados difícil de asimilar por la familia al considerar el posible riesgo de presentar un cáncer distinto al que van a consultar.

Ocho de las familias con historial de cáncer de mama presentan variantes patogénicas en BRCA1, BRCA2 y PALB2 de alta penetrancia. Estos pacientes y sus familiares se verán beneficiados de las medidas de prevención y seguimiento de la enfermedad. Las guías nacionales sobre la mastectomía profiláctica y la resonancia magnética de mama están bien establecidos y homogéneos en lo que respecta a los portadores de variantes en genes de alto riesgo, mientras que las directrices en genes de riesgo moderado (ATM, CHEK2) no son homogéneos (37). El riesgo de desarrollar cáncer de mama entre mujeres con una mutación en el gen CHEK2 se estima que es aproximadamente un 25%. Por su parte, ATM está asociado a Ataxia-telangiectasia una enfermedad neurodegenerativa autosómica recesiva, la frecuencia de portadores de variantes patogénicas no es infrecuente en la población, se estima que la población adulta caucásica heterocigota para una variante patogénica en ATM es del 1-2%; aunque el desarrollo de la enfermedad es raro por necesitar la presencia de los dos alelos con variantes patogénicas. La heterocigosidad para la variante de pérdida de función en ATM se ha asociado con un aumento

moderado del riesgo de cáncer de mama y un exceso de riesgo de próstata, páncreas y ovario. En estos pacientes portadores heterocigotos el asesoramiento es muy diferente por el riesgo asociado a estos genes, al igual que el seguimiento y prevención que deben seguir. Algunos autores recomiendan la resonancia magnética de mamas cuando el resultado de una prueba es positivo, mientras que otros tienen en cuenta los antecedentes familiares más que el resultado de la prueba de secuenciación. La heterogeneidad de las directrices y prácticas relativas a los genes de riesgo moderado ilustran hasta qué punto la utilidad clínica no está aun firmemente establecido (9, 23). Los portadores de ATM también tienen un riesgo potencialmente mayor de padecer CCR, gástrico y melanoma, aunque aún no está bien establecido (37). Está descrito que las variantes patogénicas en ATM, aunque no de forma significativa, son más frecuentes en mujeres con cáncer de mama unilateral y menos comunes en mujeres con cáncer de mama bilateral. Sin embargo, se necesitan más datos para evaluar el riesgo exacto de cáncer bilateral entre pacientes con mutaciones ATM (37). Por tanto, con respecto a los pacientes con variantes en genes de penetrancia moderada, 38% en nuestro estudio, se necesita más investigación sobre las implicaciones clínicas de las variantes, especialmente en portadores no afectados, para un asesoramiento y una gestión del riesgo adecuados con planes basados en datos para la vigilancia y/o la reducción del riesgo.

El estudio arroja un alto porcentaje de VSI (23%), sin embargo, es similar al descrito en otros estudios, con lo que se confirma la aparición de un alto número de este tipo de variantes que dificulta el asesoramiento genético a las familias. Es evidente que con la tecnología NGS se irán incrementando el número de genes a estudiar en numerosas enfermedades incluidas los cánceres de tipo familiar y hereditario con lo que el número de VSI se verá también incrementado. La mayoría de las VSI son variantes de cambio de sentido (un codón sufre un cambio en uno de los nucleótidos dando lugar a la codificación de un aminoácido diferente); En nuestro estudio el mayor número de VSI se han encontrado en el gen ATM, cuya implicación en el desarrollo de cáncer aún está en estudio, sobre todo aquellas variantes de cambio de sentido no descritas aún como patogénicas. Consideramos muy significativo este resultado de VSI en el gen ATM, que es mayor incluso que en los genes de alto riesgo, ya que puede avalar el alto porcentaje de individuos portadores heterocigotos de variantes en este gen, que probablemente sean polimorfismo, pero también cabe la posibilidad de que se necesite de alguna otra variante para que se desarrolle la enfermedad. En definitiva, estos resultados para ATM pueden verificar la controversia de su implicación en el desarrollo de cáncer en los portadores de variantes en ATM, ser considerado como de bajo riesgo en lugar de riesgo moderado.

A pesar de la incertidumbre que genera al paciente ser portador de una VSI consideramos, al igual que numerosas guías clínicas, que también se beneficiarían del estudio genético, aunque lo único que podemos hacer por ahora sea realizar un seguimiento de las bases de datos públicas para su posible reclasificación como patogénicas

o benignas y estudiar la segregación cuando sea posible para mejorar su asesoramiento genético en el futuro.

En conclusión, el manejo clínico del individuo puede verse modificado gracias a la detección de nuevas mutaciones patogénicas en genes de alta penetrancia y éstas pueden contribuir a la explicación de la heredabilidad del cáncer en nuestras familias. El enfoque de la utilización de un panel de NGS tiene la ventaja de analizar múltiples genes en múltiples muestras simultáneamente, lo que reduce los costes y el tiempo y aumenta la sensibilidad en comparación con las pruebas de detección de un solo gen. Sin embargo, su utilidad puede ser limitada ya que en muchas ocasiones van a dar respuesta a la agregación de determinado cáncer en las familias. Los estudios genéticos deben ser considerados como una herramienta dentro del proceso del asesoramiento genético. Hemos determinado que hay un número relativamente frecuente de superposición de fenotipos entre los diferentes síndromes de cáncer hereditario, ya que la información proporcionada por la familia suele ser incompleta y el fenotipo tumoral es a veces más amplio de lo previsto. Por lo tanto, creemos que la mejor estrategia es agrupar todos los síndromes en un solo panel multigénico predisponente al cáncer, como lo propone algunos otros grupos, en lugar de dividir a los pacientes en función de sus fenotipos. Por lo tanto, los paneles multigénicos deben ser incluidos en los laboratorios clínicos para el cribado de las familias con cáncer de alto riesgo, independientemente de otros análisis en el tumor. El número de genes que se incluirán en estos paneles es discutible, y debe considerarse en función del conocimiento aportado por los diferentes estudios y las herramientas clínicas y bioinformáticas para la determinación de patogenicidad de las variantes encontradas.

## CONCLUSIONES

- En este estudio, fueron analizadas 198 familias usando el Panel de Secuenciación Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics, que se centra en 26 genes que se sabe que juegan un papel en la predisposición al cáncer hereditario. De estos genes consideramos analizar genes de alta y moderada penetrancia, 19 genes. De todas las familias que fueron evaluadas, sólo el 15% (29 pacientes) fueron informativas. Un 23% (45 pacientes) presentaron una o varias VSI. Los 124 pacientes restantes (62%) fueron informados de que no se había encontrado ningún gen implicado en su patología.
- De los pacientes con variantes informativas, el 65,4% presentaba mutaciones probables patógenas en genes de alta penetrancia; La prueba de panel identificó 5 mutaciones MMR en nuestra cohorte (2 en MLH1, 2 en MSH6 y 1 en PMS2), y 7 mutaciones HR (2 en BRCA1 y 5 en BRCA2) lo que representan el 8% de los pacientes estudiados. El panel también permitió la identificación de mutaciones en otros genes conocidos de alta penetrancia de CCR. genes, como MUTYH (bialélico), APC, así como en el caso de penetrancia moderada genes como MUTYH (monoalélico), CHEK2, EPCAM y PALB2, lo que representa el 8.5%. Por tanto, el uso de un panel multigénico resulta aparentemente rentable en el análisis de pacientes.

- Seis de las variantes identificadas eran nuevas y no se han descrito anteriormente en cualquiera de las bases de datos de variantes verificadas (ClinVar y HGMD), MSH6 c.3996\_3999dupATTT, MSH6 c.762dupT, BRCA2 c.4060dupA, PALB2 c.1535dupA, CHEK2 duplicación de exones 6,7 y 8, ATM c.3046G>T. Hay suficiente evidencia para afirmar que las 6 variantes nuevas perjudiciales son patogénicas, por lo que se añadirán a las bases de datos públicas para su referencia futura.
- Si bien todos los autores coinciden en las enormes ventajas del panel, especialmente en lo referente al tiempo y rentabilidad y a su mayor sensibilidad, la única cuestión que permanece abierta al debate es la selección de los genes que deben incluirse. La superposición de fenotipos entre los diferentes síndromes de cáncer hereditario no es infrecuente, bien porque el espectro tumoral es a veces más amplio de lo esperado bien porque la información proporcionada por la familia es a veces incompleta; Por lo tanto, creemos que la mejor estrategia es agrupar todos los síndromes en un solo panel multigénico predisponente al cáncer, como lo propone algunos otros grupos en lugar de dividir a los pacientes en función de sus fenotipos.
- Sin duda, los familiares de los pacientes con mutaciones informativas se beneficiarán de un análisis de portadores de mutación lo que conducirá a un manejo clínico de los mismos en función de los resultados. Aquellos pacientes que presentaron VSI (23%) también se beneficiaría de esta medida, ya que serán incluidos en seguimiento de reclasificación según las bases de datos públicas, y un posible estudio de segregación cuando se recomienden para mejorar su asesoramiento genético en el futuro.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España 2022. [Internet]. [https://seom.org/images/LAS\\_CIFRAS\\_DEL\\_CANCER\\_EN\\_ESPANA\\_2022.pdf](https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf)
2. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Cáncer hereditario [Internet]. 3ª ed. 2019. Disponible en: [https://seom.org/images/Libro\\_Cancer\\_hereditario\\_2019.pdf](https://seom.org/images/Libro_Cancer_hereditario_2019.pdf)
3. Nenciar P, Harrington KJ. The biology of cancer. *Medicine*. 2020 Feb;48(2):67–72.
4. Estimaciones de la incidencia del cáncer en España, 2022. Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN), 2022.
5. Chirivella I., Garcés Honrubia V. Cáncer de mama hereditario más allá de BRCA1/BRCA2. *Genética Médica y genómica*. 2018; 2,2: 67-77.
6. National Cancer Institute website. Genetic testing for inherited cancer susceptibility syndromes. [www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/genetic-testing-fact-sheet](http://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/genetic-testing-fact-sheet).

7. Hampel H, Bennett RL, Buchanan A, et al. A practice guideline from the American College of Medical Genetics and Genomics and the National Society of Genetic Counsellors: Referral indications for cancer predisposition assessment. *Genetics in Medicine* 2015; 17(1):70-87.
8. Rooney, M.M.; Miller, K.N.; Plichta, J.K. Genetics of Breast Cancer: Risk Models, Who to Test, and Management Options. *Surg. Clin. N. Am.* 2023, 103, 35–47.
9. Peleg S., Menes T., and Sonnenblick A. Comparison of Patient Susceptibility Genes 67 Across Breast Cancer: Implications for Prognosis and Therapeutic Outcomes. *Pharm. Per. Med.* 2020;13 227–238 227.
10. Tung N., Lin N., Kidd J., et al. Frequency of Germline Mutations in 25 Cancer Susceptibility Genes in a Sequential Series of Patients with Breast Cancer. *J Clin Oncol*, 2016. 34, 1460-8.
11. Valle, L.; de Voer, R.M.; et al. Update on Genetic Predisposition to Colorectal Cancer and Polyposis. *Mol. Asp. Med.* 2019, 69, 10–26.
12. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, et al. Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the US Multi-society Task Force on colorectal cancer. *Am. J. Gastroenterol.* 2014 Aug;109(8):1159-1179
13. Garutti M., Foffano L., Mazzeo R., et al. Hereditary Cancer Syndromes: A Comprehensive Review with a Visual Tool Genes (Basel). 2023 May; 14(5): 1025.
14. Walsh MF, Cadoo K, Salo-Mullen EE, et al. Genetic factors: hereditary cancer predisposition syndromes. In: Niederhuber JE, Armitage JO, Kastan MB, Doroshow JH, Tepper JE, eds. *Abeloff's Clinical Oncology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020: chap 13.
15. Taieb, J.; Svrcek, M.; Cohen, R.; et al. Deficient Mismatch Repair/Microsatellite Unstable Colorectal Cancer: Diagnosis, Prognosis and Treatment. *Eur. J. Cancer* 2022, 175, 136–157.
16. Lynch P. Historia del cáncer colorrectal hereditario no polipósico (HNPCC) *Rev. Med. Clin. Condes* - 2017; 28(4) 512-523
17. Coppa A., Nicolussi A., D'Inzeo S., et al. Optimizing the identification of risk-relevant mutations by multigene panel testing in selected hereditary breast/ovarian cancer families. *Cancer Medicine* 2018; 7(1):46–55.
18. Price K., Svenson A., King E., et al. Inherited Cancer in the Age of Next-Generation Sequencing. *Biological Research for Nursing*. 2018, Vol. 20(2) 192-204
19. Santillán-Garzón S, Diego-Álvarez D, Buades C, et al. Diagnóstico molecular de enfermedades genéticas: del diagnóstico genético al diagnóstico genómico con la secuenciación masiva. *Rev Med Clin Condes*. 2015; 26(4): 458-469.
20. Documento de consenso sobre la implementación de la secuenciación masiva de nueva generación en el diagnóstico genético de la predisposición hereditaria al cáncer \_ *Med Clin (Barc)*. 2018; Vol151, Num 2.
21. Riley BD, Culver JO, Skrzynia C, et al. Essential elements of genetic cancer risk assessment, counseling, and testing: updated recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *Journal of Genetic Counselling* 2012; 21(2):151–161.
22. SEOM. Documento consenso cáncer de mama hereditario. Disponible en: <https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/sociosyprofs/documentacion/manuales/canHer/mama.pdf>.
23. SEOM. Principios del asesoramiento genético. Disponible en <https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/infopublico/publicaciones/cancerHereditario/modulo2.pdf>
24. Schmidlen, T.J.; Bristow, S.L.; Hatchell, K.E.; et al. The Impact of Proband Indication for Genetic Testing on the Uptake of Cascade Testing Among Relatives. *Front. Genet.* 2022, 13, 1441.
25. Peltomäki, P.; Nyström, M.; Mecklin, J.-P. et al. Lynch Syndrome Genetics and Clinical Implications. *Gastroenterology* 2023, 17, 405–423.
26. Buckley, K.H.; Niccum, B.A.; Maxwell, K.N. et al. Gastric Cancer Risk and Pathogenesis in BRCA1 and BRCA2 Carriers. *Cancers* 2022, 14, 5953.
27. Lindor NM, McMaster ML, Lindor CJ. Concise handbook of familial cancer susceptibility syndromes—second edition. *Journal of the National Cancer Institute Monographs* 2008; 38:1–93.
28. Beitsch P.D., Whitworth P.W., Hughes K., et al. Underdiagnosis of Hereditary Breast Cancer: Are Genetic Testing Guidelines a Tool or an Obstacle? *J. Clin. Oncol.* 2019;37: 453–460.
29. Gene Reviews® [Internet]. Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024.
30. <https://www.genecards.org/> . GeneCards Version 5.19
31. Lee, J.D.; Ryu, W.-J.; Han, H.J.; et al. Molecular Characterization of BRCA1 c.5339T>C Missense Mutation in DNA Damage Response of Triple-Negative Breast Cancer. *Cancers* 2022, 14, 2405.
32. Yadav, S.; Hu, C.; Hart, S.N., et al. Evaluation of Germline Genetic Testing Criteria in a Hospital-Based Series of Women With Breast Cancer. *J. Clin. Oncol.* 2020, 38, 1409–1418.
33. Cherri S., Oneda E., Noventa S., et al. Microsatellite instability and chemosensitivity in solid tumours. *Ther Adv Med Oncol* 2022, Vol. 14: 1–26.
34. American Cancer Society. Síndromes de cáncer en las familias. <https://www.cancer.org/es/cancer/prevencion-del-riesgo/genetica/sindromes-de-cancer-familiar>.

35. Mersch J, Brown N, Pirzadeh-Miller S, et al. Prevalence of variant reclassification following hereditary cancer genetic testing. JAMA 2018; 320 (12):1266-1274.
36. Moretta J, Berthet P, Bonadona V, et al. Groupe Génétique et Cancer d'Unicancer. The French Genetic and Cancer Consortium guidelines for multigene panel analysis in hereditary breast and ovarian cancer predisposition. Bull Cancer. 2018 Oct;105(10):907-917.
37. Graffeo R, Rana HQ, Conforti F, et al. Moderate penetrance genes complicate genetic testing for breast cancer diagnosis: ATM, CHEK2, BARD1 and RAD51D. Breast. 2022 Oct; 65:32-40.

**ANEXO I. Descripción de las características de los pacientes y las VSI encontradas.**

54182947	HOMBRE	58	COLON	SANA	SANA	APC	c.5506G>A	p.Gly1836Arg
51307072	MUJER	46	M/C	MAMA	46	APC	c.3529A>G	p.Ile1177Val
54234869	MUJER	60	M/C	MAMA	59	APC	c.1691G>A	p.Arg564Gln
31040799	MUJER	62	M/C	ENDOMETRIO	62	ATM	c.8560C>T	p.Arg2854Cys
54168677	MUJER	61	M/C	MAMA	49	ATM	c.1595G>A	p.Cys532Tyr
54169606	mujer	57	M/C	MAMA	34	ATM	c.2494 C>T	p.Arg 832 Cys
62756105	MUJER	65	M/C	MAMA	64	ATM	c.8810T>C	p.Val2937Ala
54168718	MUJER	57	M/C	MAMA	54	ATM	c.6067G>A	p.Gly2023Arg
51233235	MUJER	37	M/C	MAMA	SANA	ATM	c.4388T>G	p.Phe1463Cys
51273160	MUJER	28	MAMA	MAMA	28	ATM	c.8560C>T	p.Arg2854Cys
41298797	MUJER	39	MAMA	OVARIO	37	ATM	c.3478G>C	p.Val1160Le
54233837	MUJER	85	M/C	COLON	68	ATM	c.5470C>T	p.Leu1824Phe
54175082	MUJER	47	M/C	MAMA	44	BRCA1	c.2662C>T	p.His888Tyr
54166941	MUJER	57	M/C	MAMA	48	BRCA1	c.4261C>T	p.His1421Tyr
23068902	MUJER	63	MAMA	MAMA	63	BRCA1	c.3823A>G	p.Ile1275Val
44008977	MUJER	35	M/C	CERVIX	34	BRCA1	c.4935G>C	p.Arg1645Ser
41296453	MUJER	51	M/C	MAMA	51	BRCA2	c.3188A>G	p.Gln1063Arg
41062830	MUJER	48	MAMA	MAMA	47	BRCA2	c.2729A>G	p.His910Arg
51273174	MUJER	40	MAMA	MAMA	40	BRCA2	c.556G>C	p.Ala186Pro
51322736	MUJER	65	MAMA	OVARIO	63	BRCA2	c.3053A>G	p.Lys1018Arg
41291635	MUJER	69	MAMA	SANA	SANA	BRCA2	c.7426_7428delGAA	p.Glu2476del
51364217	MUJER	63	M/C	MAMA	47	BRCA2	c.1796C>T	p.Ser599Phe
54173974	MUJER	55	M/C	MAMA	49	BRIP1	c.2493-11A>G	
51273297	MUJER	73	MAMA	OVARIO	73	BRIP1	c.1421T>C	p.Leu474Pro
54178134	MUJER	54	M/C	MAMA	40	CDH1	c.2644G>A	p.Asp882Asn
41060584	MUJER	42	M/C	MAMA	40	CDH1	c.113C>T	p.Thr38Met
41299323	MUJER	50	MAMA	MAMA	49	CHEK2	c.1556G>T	p.Arg519Leu
21321533	HOMBRE	57	M/C	SANA	SANA	MLH1	c.453+20 G>A	
44166040	HOMBRE	69	COLON	COLON	58	MLH1	c.1852A>	p.Lys618Glu
54145473	HOMBRE	50	COLON	SANA	SANA	MLH1	c.2024G>A	p.Ser675Asn
50206438	MUJER	60	COLON	SANA	SANA	MLH1	c.2024G>A	p.Ser675Asn
63073723	MUJER	40	COLON	COLON	40	MLH1	c.1852A>G	p. Lys618Glu
44007640	MUJER	41	M/C	COLON	40	MSH2	c.1045C>G	p.Pro349Ala
54230798	MUJER	54	M/C	MAMA	39	MSH2	c.2785C>T	p.Arg929Ter
51307953	MUJER	49	M/C	SANA	SANA	MSH2	c.2459-12A>G	
41060583	HOMBRE	57	COLON	COLON	54	MSH6	c.1762C>G	p.His588Asp
44008104	MUJER	73	M/C	ENDOMETRIO	72	MSH6	c.663A>C	p.Glu221Asp
44008727	MUJER	75	M/C	MAMA	65	MSH6	c.1677C>T	p.Cys559=
44007606	MUJER	45	M/C	MAMA	40	MSH6	c.457+17C>T	
41296943	MUJER	53	M/C	MAMA	55	MUTYH	c.481G>C	p.Asp161His
54230782	MUJER	56	M/C	MAMA	51	PMS2	c.1004A>G	p.Asn335Ser
21321028	MUJER	36	M/C	MAMA	35	RAD51D	c.869G>A	p.Arg290Gln
54170617	MUJER	45	M/C	MAMA	45	TP53	c.100C>G	p.Pro34Ala
44008704	MUJER	55	M/C	SANA	SANA	TP53	c.994-17C>G	