

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Estructura familiar no informativa y fenotipo tumoral triple-negativo
como variables predictivas de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en
mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Jon Zugazagoitia Fraile

Directores

**Miguel de la Hoya Matecón
Pedro Pérez Segura
Eduardo Díaz-Rubio**

Madrid, 2016

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



**ESTRUCTURA FAMILIAR NO INFORMATIVA Y FENOTIPO TUMORAL TRIPLE-
NEGATIVO COMO VARIABLES PREDICTIVAS DE MUTACIONES GERMINALES
EN *BRCA1/2* EN MUJERES JOVENES CON CANCER DE MAMA ESPORADICO**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por:

Jon Zugazagoitia Fraile

Directores:

Miguel de la Hoya Matecón

Pedro Pérez-Segura

Eduardo Díaz-Rubio

Madrid, 2014

Don Miguel de la Hoya Mantecón, Doctor en Ciencias e Investigador I3-SNS del Instituto de Investigaciones Sanitarias San Carlos (IdISSC), Don Pedro Pérez-Segura, Doctor en Medicina y Cirugía y Médico Adjunto del servicio de Oncología Médica del Hospital Clínico San Carlos y Don Eduardo Díaz-Rubio, Catedrático de Medicina por la Universidad Complutense de Madrid y Jefe del Servicio de Oncología Médica del Hospital Clínico San Carlos,

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado: **“Estructura familiar no informativa y fenotipo tumoral triple-negativo como variables predictivas de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico”** que presenta el Licenciado en Medicina y Cirugía D. Jon Zugazagoitia Fraile, ha sido realizado bajo nuestra dirección y reúne, a nuestro juicio, la originalidad y contenidos suficientes para que sea presentado ante el tribunal correspondiente y pueda optar al Grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid.

Para que así conste, y a los efectos oportunos, firman la presente en Madrid a 5 de junio de 2014.

Dr. Miguel de la Hoya Matecón

Dr. Pedro Pérez-Segura

Prof. Eduardo Díaz-Rubio

*A quienes no pueden leer estas páginas
pero habitan en nuestros recuerdos.*

Agradecimientos

Este trabajo es fruto de la colaboración de muchas personas, cuya huella, directa o indirectamente, ha quedado impregnada en cada una de las páginas de este manuscrito. Algunas me han otorgado su incondicionable ayuda y apoyo científico. Otras me han enseñado a vivir, me han formado como persona y me han inculcado los valores del trabajo bien hecho. Y otra, con quien hace años emprendí un eterno viaje y con la cual comparto mi vida, ha contribuido a todo.

A mis directores de tesis,

Miguel de la Hoya, por ayudarme no solo en la elaboración de esta tesis, sino también por haberme enseñado la metodología y el buen hacer científico, a pensar, a entender que las cosas tienen su orden y su tiempo, a razonar con sentido crítico y en definitiva, a enseñarme cómo se debe investigar. Este trabajo también es tuyo, nunca hubiera podido hacerlo sin tu ayuda.

Pedro Pérez-Segura, por haber tenido la idea de este proyecto y haber contado conmigo para llevarlo a cabo. Por haberte tenido cerca durante mi residencia desde el primer día. Eres una persona especial para mí, me siento afortunado por saber que puedo contar contigo para cualquier cosa.

Eduardo Díaz-Rubio, por haberme ofrecido la posibilidad de realizar esta tesis e iniciarme en mi vida académica, y por contagiarnos diariamente su espíritu docente.

A Trinidad Caldés y todas las personas del laboratorio de oncología molecular del Hospital Clínico San Carlos, por darme la posibilidad de rotar y aprender con ellos.

A los oncólogos del Hospital Clínico San Carlos y compañeros de residencia, por haberme formado como oncólogo y haberme hecho sentir parte integrante del servicio durante mi residencia.

A todos mis compañeros y profesores de universidad, por haberme hecho pasar años inolvidables y haberme hecho querer seguir ligado a la vida académica.

A todos los centros y personas que han colaborado en la inclusión de las pacientes para este trabajo.

A mi familia,

Mi Madre, por haberme enseñado a hacer las cosas desde la humildad, con trabajo y esfuerzo, y por haberme inculcado valores que ahora considero fundamentales. Me lo diste todo, no se cómo agradecer eso.

Mi Hermana, por estar siempre a mi lado y tras de mí por si caía. Por haber compensado parte importante de lo que nos ha faltado. Te apoyaré siempre.

Mi Padre, Mi abuelo, Mi abuela, aunque no podáis leer estas páginas este trabajo también es vuestro. Sereis siempre un referente para mí. Gracias por haberme hecho sentir tan querido.

A Ti, luz en mis sombras, comparto enteramente contigo este trabajo, su esfuerzo, su tiempo, mi vida.

Resumen

Resumen

Un porcentaje no desdeñable de mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico son portadoras de mutaciones germinales en *BRCA1/2*. Esta prevalencia está estrechamente condicionada por otras variables como el tipo de población, fenotipo tumoral y edad de diagnóstico de cáncer de mama. La presencia de una estructura familiar no informativa es una variable predictiva de la presencia de mutaciones en *BRCA1/2* en estas pacientes, pero este hallazgo no ha sido debidamente validado en cohortes independientes. Existe una fuerte asociación entre las mutaciones en *BRCA1* y los tumores mamarios de tipo triple negativo (TN). En el presente trabajo analizamos la utilidad de las variables estructura familiar no informativa y fenotipo TN como variables predictivas de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en una cohorte de mujeres jóvenes (≤ 35 años) con cáncer de mama esporádico previamente remitidas (1998-2012) a unidades de asesoramiento genético españolas ($n = 341$). Retrospectivamente, la estructura familiar fue clasificada en informativa, no informativa o no clasificable mediante la revisión centralizada de los pedigreos disponibles en el momento de realizarse los respectivos estudios genéticos. Asimismo, los tumores de mama fueron clasificados en TN, no-TN y no clasificables mediante la revisión de las historias clínicas. Veinticuatro pacientes (7.12 %) fueron portadoras de mutaciones patogénicas, 14 en *BRCA1* y 10 en *BRCA2*. Tanto la estructura familiar no informativa (OR = 3.61, $p = 0.027$) como el subtipo TN (OR = 3.14, $p = 0.013$) fueron variables independientes de la presencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2*. La prevalencia de mutaciones en el subgrupo de mujeres con al menos un factor predictivo (estructura familiar no informativa, subtipo TN o ambos) fue del 13.5 %, frente al 2.8 % en aquellas mujeres con estructura familiar informativa y tumores no-TN (OR = 5.31, $p = 0.006$). Demostramos, con la información disponible en un contexto de práctica clínica rutinaria, la utilidad de la estructura familiar y el fenotipo TN como modelo predictivo de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico. Nuestro estudio sugiere que restringir el análisis tan solo a aquellas mujeres con al menos un factor predictivo podría ser una estrategia válida para optimizar la realización de estudios genéticos en este subgrupo de mujeres.

Índice

Índice

Índice de figuras y tablas	11
Glosario de Abreviaturas	12
Summary	13
I. INTRODUCCION	19
1. Susceptibilidad genética al cáncer y asesoramiento genético	20
1.1. Principios básicos de la susceptibilidad genética al cáncer	
1.2. El proceso de asesoramiento genético en cáncer	
2. Cáncer de mama y cáncer de mama hereditario	23
2.1. Cáncer de mama. Generalidades	23
2.1.1. Epidemiología y factores de riesgo	
2.1.2. Biología y taxonomía molecular del cáncer de mama	
2.1.3. Cáncer de mama triple negativo y el subtipo “basal-like”	
2.1.4. Cáncer de mama en mujeres jóvenes	
2.2 Cáncer de mama hereditario	27
2.2.1. Bases genéticas del cáncer de mama hereditario.....	27
2.2.2. Principales genes de susceptibilidad al cáncer de mama: <i>BRCA1/2</i>	31
2.2.2.1. <i>Aspectos moleculares</i>	
2.2.2.2. <i>Epidemiología de las mutaciones en BRCA1/2</i>	
2.2.2.3. <i>Identificación y criterios de selección de estudio genético de BRCA1/2</i>	
2.2.2.4. <i>Otras neoplasias no mama/ovario asociadas a mutaciones en BRCA1/2</i>	
II. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	49

Índice

III. MATERIAL Y METODOS	51
1. Diseño del estudio y variables clínicas	
2. Mutaciones germinales en <i>BRCA1/2</i>	
3. Análisis estadístico	
IV. RESULTADOS	56
1. Características demográficas de nuestra población	
2. Prevalencia de mutaciones germinales en <i>BRCA1/2</i>	
3. Modelo predictivo de la presencia de mutaciones en <i>BRCA1/2</i> combinando la estructura familiar no informativa y el estatus TN	
V. DISCUSION	66
VI. CONCLUSIONES	76
Bibliografía	78
Apéndices	94
1. <i>Criterios de selección para estudio genético de BRCA1/2</i>	
2. <i>Genogramas representativos de la nuestra clasificación de familias</i>	

Índice de figuras

Figura 1. Base genética de la heredabilidad en cáncer de mama.....	30
Figura 2. Epidemiología y heredabilidad del cáncer de mama.....	30
Figura 3. Estructura de los genes BRCA1 y BRCA2.....	32

Índice de tablas

Tabla 1. Subtipos moleculares de cáncer de mama.....	24
Tabla 2. Principales alelos de susceptibilidad al cáncer de mama.....	29
Tabla 3. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en cohortes de mujeres con cáncer de mama seleccionadas por edad.....	41,42
Tabla 4. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en cohortes de mujeres con cáncer de mama esporádico sin selección por edad.....	43
Tabla 5. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en mujeres con cáncer de mama esporádico y seleccionadas por edad.....	43
Tabla 6. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en cohortes de mujeres con tumores TN.....	44
Tabla 7. Prevalencia de mutaciones y variables predictivas de mutación para cada uno de los centros participantes.....	55
Tabla 8. Características demográficas de nuestra cohorte.....	58
Tabla 9. Mutaciones patogénicas de nuestra población de pacientes.....	59
Tabla 10. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en función de la estructura familiar.....	60
Tabla 11. Prevalencia de mutaciones patogénicas en BRCA1/2 en función del fenotipo tumoral.....	61
Tabla 12. Prevalencia de mutaciones patogénicas en BRCA1/2 en función de historia familiar de otros tumores no mama/ovario.....	63
Tabla 13. Modelo de regresión logística predictivo de mutaciones en BRCA1/2..	65
Tabla 14. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 estratificada por estructura familiar y estatus TN.....	65

Glosario de abreviaturas

RR: Riesgo Relativo.

SNP: Single Nucleotide Polimorphism.

GWAS: Genome-Wide Association Studies.

ASCO: American Society of Medical Oncology.

CDI: Carcinoma Ductal Infiltrante.

TN: Triple Negativo.

IHQ: Inmunohistoquímica.

RE: Receptor de Estrogenos.

RP: Receptor de Progesterona.

CMO: Cáncer de mama y ovario.

BRCT: BRCA1 C-Terminal.

NLS: Nuclear Localization Signals.

SCD: SQ-cluster domain.

CG: Conversión Génica.

SSA: Single Strand Annealing.

NHEJ: Non Homologous End-Joining.

BIC: Breast Cancer Information Core.

LOVD: Leiden Open Variation Database.

VSC: Variantes Sin Clasificar.

ENIGMA: Evidence-Based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles.

CIMBA: Consotium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2.

NCCN: National Comprehensive Cancer Network.

SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica.

FPMGX: Fundación Pública Gallega de Medicina Genómica.

dHPLC: Denaturing High Pressure Liquid Chromatography.

DGGE: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis.

HRMA: High Resolution Melting Analysis.

IC: Intervalo de Confianza.

ESMO: European Society of Medical Oncology.

Summary

1. Introduction

The risk of breast cancer in first-degree relatives of women with breast cancer is approximately two times higher than in women from the general population. So far, *BRCA1* and *BRCA2* are the best characterized breast cancer high-risk genes, but they only explain approximately 20% of the excess familial risk. Since *BRCA1* and *BRCA2* germ-line deleterious mutations (hereafter referred as *BRCA* mutations) cause autosomal dominant hereditary cancer syndromes, a positive family history of breast and/or ovarian cancer is the most relevant clinical feature guiding *BRCA* mutation testing in daily clinical practice. However, germ-line mutations are present in a non-negligible fraction of the sporadic breast and ovarian cancer cases, although prevalence estimates are very much dependent on ascertainment factors such as ethnicity, tumor subtype and age of diagnosis. Since the identification of *BRCA* germline mutations is clinically relevant, most current guidelines include sporadic early-onset breast cancer as an inclusion criterion for *BRCA* mutation testing. Unfortunately, there is no consensus defining early-onset breast cancer, with age of diagnosis varying enormously (threshold ranging from 30 to 50 years) depending on the authors.

In a seminal paper, Weitzel et al. demonstrated that limited family structure is a significant predictor of *BRCA* germline mutations in sporadic early-onset (<50y) breast cancer cases, highlighting the importance of comprehensive family data collection (including both maternal and paternal branches) for proper breast/ovarian cancer genetic risk assessment in this group of patients. Yet, as far as we know, these findings have not been validated in an independent cohort of sporadic early-onset breast cancer cases.

An overwhelming amount of data supports a strong association between Triple Negative Breast Cancer (TNBC) and *BRCA1* germline defects. *BRCA* mutation testing in TNBCs below 50 has demonstrated to be cost-effective, and current clinical guidelines have incorporated TNBC as a criterion for *BRCA* testing, regardless of family history. However, the role of TNBC as predictor of *BRCA* status

in the subgroup of sporadic early onset breast cancers with limited family structure has not been formally addressed.

In the present study, we have analyzed the prevalence of *BRCA* mutations, TNBC subtype, and Limited Family Structures in a cohort of early-onset (≤ 35 y) sporadic breast cancer patients ascertained through Genetic Counseling Units from Spain. Our primary objective was to evaluate the feasibility of limited family structure and TNBC subtype as predictors of *BRCA* germline defects in this subgroup of patients.

2. Methods

2.1. Clinical Variables

We have included in the present study a cohort of 341 female breast cancer patients that, at the time of risk assessment (1998-2012 period), were considered sporadic (no personal or familiar history of breast and/or ovarian cancer in first and second-degree relatives) but selected for genetic testing because of an early onset diagnosis (≤ 35 years). The cohort included 3 patients diagnosed of bilateral synchronic breast cancers. Data was contributed by six Academic Hereditary Cancer Clinics from Spain. For the purpose of this study, all clinical variables were retrieved from multigenerational pedigrees and medical records available at the time of risk assessment and genetic testing. Breast cancer cases were classified into 3 different categories according to a family structure variable. For that purpose, we centrally reviewed the corresponding multigenerational pedigrees. The family structure variable was defined as in Weitzel et al. (limited family structure defined as fewer than two first or second-degree female relatives surviving past age 45 years in either the maternal or paternal lineage; otherwise the participant was considered to have an adequate family structure), with the single notable difference that, in addition to limited and adequate family structures, we have introduced a third category of non-assessable family structures. The latter reflects the fact that some pedigrees do not provide all information required for proper classification into limited or adequate family structures (for instance, missing ages in relatives). As in Weitzel et al., if maternal

and/or paternal pedigree information was missing (for whatever reason, including adoptees), the family structure was classified into the limited category.

Breast cancer cases were classified as well into 3 different categories according to information on estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) statuses retrieved from medical records. Centrally reviewing of primary pathology reports was not attempted, so ER, PR and HER2 status were scored as positive or negative according to standardized criteria for routine clinical practice in each institution. Tumours with negative expression data for all 3 markers were considered TNBCs. Tumours with positive expression data for one or more markers were considered non-TNBCs. Tumours with missing data for all 3 markers, or combining lack of expression for some markers with missing data for other markers, were considered non-assessable for TNBC subtype.

2.2. BRCA 1 and BRCA2 germline mutations

Germ-line mutation scanning included the full coding sequence and intron/exon boundaries of both genes. Depending on the participating centre and/or year of analysis, mutation scanning was performed by direct sequencing, dHPLC, DGGE or HRM. *BRCA1* mutation scanning was performed in all 341 participants, whereas *BRCA2* mutation scanning was performed in 332 participants (out of 9 participants not tested for *BRCA2* mutations, five were carriers of *BRCA1* mutations).

BRCA mutations were considered pathogenic (disease causing) if they are predicted to introduce premature termination codons and/or are defined as such by the Breast Cancer Information Core (BIC).

2.3. Statistical analysis

In all statistical analysis, bilateral synchronic cases were considered as independent events. Association between categorical variables were investigated using the Fisher's exact test. Analyses were performed with JavaStat software (www.statpages.org). Binary Logistic Regression Analyses were performed with the SPSS statistical package for windows (version 13.0). The enter method was used to calculate the logarithm of odds of carrying a pathogenic mutation in *BRCA1*, *BRCA2*, or both, as a linear function of TNBC and Limited Family Structure.

3. Results

A total of 341 sporadic breast cancer cases were included in our study. The median age of diagnosis was 32 year-old. No statistically significant differences across contributing institutions were observed. According to family structure, breast cancer cases classified as follows: 166 cases displayed an adequate family structure (48.6%), 99 cases displayed a limited family structure (29%), and the remaining 76 cases were considered non assessable (22.3%). The cohort included 57 TNBCs (16.7%), 213 non-TNBs (62.5%) and 71 non-assessable tumours (20.8%). A total of 216 breast cancer cases (63.3%) were assessable for both family structure and TNBC.

Twenty-four patients (7.12 %) carried a deleterious germ-line mutation, 14 in *BRCA1* (4.10 %) and 10 in *BRCA2* (3.01%). None of the 3 women diagnosed of bilateral synchronic breast cancer carried a deleterious germ-line mutation. We detected germ-line mutations in 13.1% of the sporadic breast cancer cases with limited family structure. The prevalence dropped to 4.8% in cases with adequate family structure, and to 4% in cases with non-assessable family structure. The enrichment of germ-line mutations observed in sporadic cases with limited family structures was statistically significant (OR=3.17; 95% CI 1.29-7.94, p=0.006). The analysis was performed as well in the subset of patients with assessable family structures (N=265), with similar findings (OR=2.99; 95% CI 1.10-8.24, p=0.016). Apparently, both *BRCA1* and *BRCA2* contributed to this finding with similar size-effects, although gene-specific analyses did not reach statistical significance in all cases.

As expected, we identified a strong association of *BRCA1* germ-line mutations with TNBC tumours (OR=5.82, 95% CI 1.57-22.33, p=0.004). No association between *BRCA2* germ-line mutations and immune-phenotypic data was observed. We did observe an excess of colorectal, prostate, gastric and melanoma malignancies among first and second-degree relatives of mutation carriers if compared with non-mutated counterparts. However, no statistically significant association was found except for a marginally significant association of melanoma and *BRCA2* mutations (OR 7.80, 95% CI 0.99-48.07, p=0.046).

Logistic regression analysis indicated that both TNBC and limited family structure are significant predictors of *BRCA* mutation status with similar size effects. Remarkably, gene-specific analysis suggested that limited family structure is a predictor of both *BRCA1* and *BRCA2* mutation status. For *BRCA1*, the size effect of TNBC is higher than the size-effect of limited family structure. TNBC did not predict *BRCA2* mutation status.

The highest prevalence of *BRCA* mutations was observed in TNBCs with limited family structure (25%). Out of 216 breast cancer cases assessable for TNBC and family structure, approximately half (N=111) were positive for at least one *BRCA* mutation predictor (TNBC, limited family structure, or both). The prevalence of *BRCA* germ-line mutations in this subgroup of breast cancer cases was 13.5%, whereas it dropped to 2.8% in non-TNBCs with adequate family history (N=105). The difference was statistically significant (OR=5.31, 95%CI 1.38-23.89, p=0.006). The prevalence of germ-line mutations in the group of sporadic cases with non-assessable predictors (family structure, TN status, or both) was 4.8% (N=125).

4. Discussion

In 2007, Weitzel et al. published a seminal study highlighting the importance of family structure when estimating *BRCA* mutation prevalence in sporadic breast cancer patients. In particular, they demonstrated that limited family structure is a significant predictor of *BRCA* genetic defects in single cases of early-onset (<50y) breast cancer (OR=2.88, 95% CI 1.16-7.36, p=0.018). The study was conducted in 306 single-case breast cancer patients diagnosed at age \leq 50 year. Despite its clinical relevance, so far only the NCCN guidelines consider limited family structure as independent criteria for mutation testing. Probably, the lack of validation studies might have limited its clinical use. Indeed, a recent report failed to replicate the predictive role of limited family structure in a larger cohort (N=474) of early-onset (<40y) sporadic breast cancer cases from Korea (OR=1.26, 95% CI 0.55-2.98). It is possible that the definition of limited family structure as proposed by Weitzel et al. is not directly applicable to other populations. As the Korean authors asseverate, breast cancer in Asian women trends to develop at younger ages and this, together with other epidemiologic and environmental

factors, might have underscored the value of family structure for mutation prediction in this subset of patients. As far as we know, no other study conducted to investigate the predictive role of family structure has been reported so far.

In the present study, we show that limited family structure predicts *BRCA* mutation status in a large cohort (N=341) of Spanish early-onset (≤ 35 y) sporadic breast cancer cases. Moreover, the effect size is very similar to that reported previously by Weitzel et al. (OR of 2.99 vs. OR of 2.88). However, our study shows as well remarkable differences. First, Weitzel et al. do not report non-assessable family structures (apparently, all pedigrees are classifiable into limited or adequate categories), whereas up to 22.3% of our pedigrees are non-assessable. This certainly reflects the daily routine in representative genetic counseling units, where obtaining a detailed pedigree is not always feasible. Our data strongly support the need of comprehensive family data collection and should serve to improve this practice. Second, in the Weitzel et al. cohort limited family structures were observed in up to 50% of all breast cancer cases (50% of all assessable pedigrees), whereas we observed limited family structure in only 29% of all breast cancer cases (37% of all assessable pedigrees). Third, we have incorporated TNBC subtype into the analysis. Central pathologic reviewing was not performed. Whereas this might imply a sort of heterogeneity in pathologic diagnosis, probably make our data more reproducible for the real-world clinical practice setting. Regardless of these differences, we have been able to replicate Weitzel et al. observations in an independent population. Indeed, our study expands Weitzel et al. findings by supporting that limited family structure is a predictor of both *BRCA1* and *BRCA2* mutation status separately, with similar size-effects, regardless of TNBC subtype. Further on, despite the limitations commonly linked to routine clinical practice, we have been able to elaborate a model with Family Structure and TNBC subtype as independent predictors of *BRCA* mutation status.

Current guidelines recommend *BRCA* testing in all sporadic early-onset breast cancers (< 35), regardless of family structure and TNBC subtype. Our data suggests that restricting these analyses to the subset of cases featuring at least one predictive factor (limited family structure, TNBC, or both) might be cost-effective.

I. Introducción

1. SUSCEPTIBILIDAD GENETICA AL CANCER Y ASESORAMIENTO GENETICO

1.1. Principios básicos de la susceptibilidad genética al cáncer

El cáncer es una enfermedad genética y en la mayoría de los casos esporádica. Alteraciones genómicas acumulativas a nivel celular conllevan a la adquisición de capacidades biológicas aberrantes que finalmente darán lugar a la transformación neoplásica(1). La mayoría de estos eventos genómicos y/o epigenómicos ocurren a nivel del DNA somático. No obstante, algunas mutaciones pueden acontecer en línea germinal y podrán ser transmitidas en sucesivas generaciones, incrementando el riesgo de cáncer en aquellos individuos que las heredan. La susceptibilidad genética al cáncer se puede agrupar en tres grandes bloques en función de la penetrancia, riesgo relativo (RR) y frecuencia poblacional de los genes (alelos) implicados en esta susceptibilidad(2):

a. Genes de baja frecuencia y alto riesgo: El RR de desarrollar cáncer en portadores respecto a no portadores suele ser muy elevado (> 10-20) y por tanto las mutaciones germinales en estos genes dan lugar a patrones de herencia mendelianos, cuya susceptibilidad se transmite en la mayoría de los casos de forma autosómica dominante(3). Su determinación se ha realizado mediante estudios de ligamiento de familias afectas. Clínicamente se manifiestan como síndromes hereditarios clásicos que cumplen características comunes, a saber: alta incidencia de cáncer en la familia en sucesivas generaciones, aparición de cáncer a edades tempranas, ocurrencia de los mismos tipos de cáncer o varios cánceres en el mismo individuo, bilateralidad en órganos pares o multifocalidad entre otros(4). Estos síndromes son poco frecuentes y los alelos implicados no explican más del 5-10 % de la susceptibilidad genética al cáncer(2).

b. Genes de moderada/baja frecuencia y riesgo intermedio: El segundo grupo de alelos se caracterizan por ser en general poco frecuentes (1-2 %), conferir un riesgo moderado de padecer la enfermedad (RR 2-4) y co-segregar de manera incompleta con el fenotipo. Habitualmente no cumplen un patrón de herencia mendeliana clásica y sus efectos se suelen interpretar en el contexto de una herencia poligénica(2). Clínicamente no suelen presentar características típicas de

los síndromes hereditarios(3,5). Su identificación se realiza mediante estudio de casos y controles de genes candidatos(2).

c. Genes de elevada frecuencia y bajo riesgo: el tercer bloque representa un grupo de alelos cuyas variantes genéticas son frecuentes o muy frecuentes en la población general (> 10 %) pero el riesgo en portadores de forma aislada es muy bajo (RR 1.05-1.5). Cada alteración genética por si sola no sería relevante, pero el riesgo se incrementaría de forma multiplicativa si se asocia a otras de similares características en base a un modelo poligénico acumulativo(6). Los polimorfismos de nucleótido único (SNPs, del inglés *single nucleotide polymorphisms*) son las variantes genéticas más frecuentes en la población general, por lo que son buenos candidatos para estudiar este modelo. Tras conocerse la secuencia completa del genoma humano, la identificación de estos alelos se está realizando a través de estudios de asociación de genoma completo (GWAS, del inglés *genome-wide association studies*) mediante el “tipaje” de cientos de miles de SNPs en miles de casos y controles(2).

Por otro lado, la mayoría de estos síndromes de cáncer hereditario son consecuencia de mutaciones en genes supresores. A diferencia de los proto-oncogenes, las mutaciones en genes supresores son recesivas a nivel celular y es necesaria la alteración de ambos alelos para dar lugar a la transformación neoplásica. En los síndromes hereditarios, el primer alelo mutado es heredado (mutación en DNA germinal) y el segundo se altera a nivel somático(1,5).

1.2. El proceso de asesoramiento genético en cáncer

Un mayor conocimiento de las bases genéticas de susceptibilidad al cáncer y la creciente realización de estudios genéticos a individuos predispuestos ha convertido al consejo genético en una especialidad que requiere la participación de un equipo multidisciplinar formado por oncólogos médicos, genetistas, biólogos moleculares y psicólogos. Las personas consideradas a riesgo de padecer un determinado síndrome de cáncer hereditario deben ser remitidas a estas unidades especializadas para recibir un correcto asesoramiento genético(2,7).

Podríamos dividir el proceso de asesoramiento genético en varias etapas(3,7,8):

- Sospecha clínica de un síndrome de cáncer hereditario: a diferencia de la práctica médica habitual centrada en el individuo, el asesoramiento genético se centra en la familia. Como punto de partida, la obtención de un adecuado árbol genealógico familiar (pedigree o genograma) multigeneracional (al menos 3 generaciones) que incluya una detallada historia personal y familiar de cáncer será la herramienta que nos permitirá identificar posibles síndromes de predisposición hereditaria al cáncer(4,7).

- Valoración de la indicación de estudios genéticos: Una vez hecho esto, la selección de pacientes candidatos a realizar test genéticos estará basada no solo en la probabilidad “a priori” de detectar una determinada mutación, sino también en los potenciales beneficios clínicos derivados del resultado del mismo y en los aspectos psicosociales de la persona a estudio(2,7). Debemos tener presente que los resultados del test genético tienen repercusiones tanto en el individuo como en sus familiares. Las guías de la sociedad americana de oncología médica (ASCO, del inglés *American Society of Clinical Oncology*) consideran que un estudio genético solo debería realizarse si se cumplen uno de los siguientes supuestos: a. El individuo presenta altas posibilidades de ser portador en base a la presencia de historia personal y familiar sugerente de susceptibilidad genética al cáncer; b. Los resultados de los test genéticos pueden ser adecuadamente interpretados; c. Estos resultados supondrán una implicación clínica en cuanto a tratamientos y estrategias de prevención; d. Las pruebas genéticas se realizan en el marco del asesoramiento genético(2,9).

- Información sobre las implicaciones personales y familiares de la identificación de un gen ligado a un incremento de la susceptibilidad genética a cáncer, así como del riesgo de padecer cáncer en portadores de mutación.

- Asesoramiento sobre los beneficios y limitaciones de los test y resultados genéticos. Esto incluye informar acerca del riesgo de padecer cáncer en portadores (resultado verdadero positivo o informativo), posibilidad de obtener resultados no concluyentes o de significado incierto y el significado de un resultado negativo en su contexto personal y familiar.

- Realización de estudio genético previa obtención de consentimiento informado.

- Interpretación e información del resultado.

- Plan de tratamiento y/o seguimiento médico en función de los resultados del mismo. Incluirá recomendaciones clínicas, apoyo psicológico y la importancia de estudiar a otros componentes de la familia si fuera necesario.

Es importante destacar que estas premisas y todo asesoramiento genético en la actualidad está basado en detectar y asesorar aquellos síndromes monogénicos que derivan de genes de alta penetrancia, ya que estos resultados son interpretables y se pueden ofrecer recomendaciones clínicas específicas en función de los mismos. Los avances en genómica del cáncer están permitiendo identificar múltiples alelos de susceptibilidad de moderada y baja penetrancia que permiten explicar parte del modelo poligénico de heredabilidad del cáncer. No obstante, son resultados difícilmente aplicables por el momento a la práctica clínica y por lo tanto su empleo y detección debe considerarse actualmente experimental (3,5,7,9).

2. CANCER DE MAMA y CANCER DE MAMA HEREDITARIO

2.1. Cáncer de mama. Generalidades

2.1.1. Epidemiología y factores de riesgo

Globalmente el cáncer de mama es la neoplasia más frecuente y una de las principales causas de muerte en la mujer en países industrializados(2,10,11). En España se diagnostican aproximadamente 22.000 casos al año, y al igual que el resto de países de la Unión Europea, es la principal causa de mortalidad por cáncer en la mujer(6,12,13).

Diversos estudios epidemiológicos han identificado múltiples factores de riesgo, entre los que se incluyen factores genéticos, reproductivos, hormonales y medioambientales. Destacan entre todos ellos la presencia de antecedentes familiares y la edad como los más importantes. Algunos estudios epidemiológicos han estimado un RR para el desarrollo de cáncer de mama entre 2-3 veces superior en mujeres con familiares de primer grado afectas(2,14,15).

2.1.2. Biología y taxonomía molecular del cáncer de mama

Desde hace tiempo se ha advertido que el cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, afirmación que hasta hace pocos años estaba basada en aspectos

clínicos y morfo-patológicos. Desde un punto de vista morfológico, el carcinoma ductal infiltrante (CDI) supone el 70 % de todas las neoplasias de mama. El CDI es realmente un diagnóstico por defecto, ya que incluye todos aquellos tumores no clasificables en subtipos histológicos concretos y diferenciados. Entre estos últimos se incluyen el lobulillar, medular, tubular, mucinoso y otros subtipos menos comunes(16). Por tanto la morfología no permite clasificar de forma precisa a pacientes con comportamientos biológicos y clínicos homogéneos. Durante la última década, las plataformas o “arrays” basados en el análisis del mRNA de tumores de mama han permitido establecer una clasificación más homogénea en base a perfiles moleculares(17,18). Perou et al. publicaron por primera vez en el año 2000 una clasificación de cáncer de mama en subtipos intrínsecos basados en perfiles de expresión genómica. Utilizando un “array” de cDNA en 38 tumores de mama, clasificaron estos tumores en 4 subtipos diferentes: luminales, HER2, basales o “basal-like” y “normal breast”(19). Trabajos posteriores permitieron clasificar los tumores luminales en luminal A y B, además de otorgar un valor pronóstico diferente a cada uno de estos subtipos moleculares(20). Este hallazgo ha tenido una implicación clínica importante, en la medida en que ha permitido reconsiderar la forma de entender y tratar esta enfermedad. Posteriormente se han añadido otros subtipos moleculares a esta clasificación (“clauding-low”)(20) y recientemente se ha planteado la existencia de hasta 10 subtipos de cáncer de mama diferentes(21). Las principales características de la clasificación molecular universalmente aceptada hasta el momento se resumen en la **tabla 1**.

Tabla 1. Subtipos moleculares de cáncer de mama (adaptado de Eroles et al.)(20)

Subtipo molecular	Frecuencia	Marcadores mioepiteliales (CK 5/6, EGFR)	Patrón inmunohistoquímico	Grado histológico	Pronóstico
Luminal A	50-60 %	-	RE+, RP+, HER2-	Bajo	Bueno
Luminal B	10-20 %	-	RE+, RP-/+, HER2-/+	Moderado/Bajo	Intermedio
“Basal-like”	10-20 %	+++	RE-, RP-, HER2-	Alto	Malo
HER 2	10-15 %	+/-	RE-, RP-, HER2+	Alto	Malo
“Normal breast”	5-10 %	++	RE-/+, HER2-	Bajo	Intermedio
“Claudin-low”	12-14 %	+/-	RE-, RP-, HER2-	Alto	Malo

2.1.3. Cáncer de mama triple-negativo (TN) y el subtipo “basal-like”

La determinación mediante técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) de la expresión de receptores hormonales (RE, RP) y la oncoproteína HER2 es una herramienta indispensable para la clasificación y el tratamiento del cáncer de mama en la práctica clínica (**tabla 1**). La sobreexpresión de estos receptores (sobre todo la amplificación en el caso de HER2) es factor predictivo de respuesta a terapia antihormonal e inhibidores la actividad quinasa de HER2 respectivamente(20).

Se denominan tumores TN a aquellos que carecen de expresión (y/o amplificación en el caso de HER2) de los tres receptores. Desde un punto de vista epidemiológico suponen aproximadamente entre un 10-20 % de todos los tumores de mama. Se diagnostican con más frecuencia en mujeres jóvenes, y están sobre-representados en determinadas poblaciones como las mujeres Afro-Americanas(22). Respecto a su historia natural, constituyen en subtipo de tumores que globalmente presentan mal pronóstico, con recaídas que habitualmente acontecen entre los 3-5 años del diagnóstico (a diferencia de los tumores RE positivos, las recaídas tardías son muy poco comunes). Frecuentemente tienen alto grado histológico y elevados índices de proliferación celular. Este rápido crecimiento y su ocurrencia en mujeres jóvenes hace que en ocasiones pasen desapercibidos en programas de prevención secundaria(23). En cuanto al tratamiento médico, no existe por el momento un fármaco diana-específico frente a estos tumores, siendo un campo de enorme interés para la investigación clínica y traslacional(24).

Es importante destacar que si bien la mayoría de los tumores TN (hasta un 80 %) se engloban dentro del subtipo “basal-like” en base a perfiles genómicos de expresión, no son términos completamente equiparables(23). Algunos tumores TN se engloban dentro de otras clasificaciones moleculares como los “claudin-low” o los “normal-breast” y hasta un 40 % de los tumores “basal-like” no tienen un fenotipo TN. Quizá lo más característico de los tumores “basal-like” es su elevada expresión de genes de codifican para proteínas basales o mioepiteliales(23,25,26). Existe una estrecha asociación entre el gen de susceptibilidad a cáncer de mama *BRCA1* (*BReastCAncergene1*) y los tumores TN y “basal-like”(23,26). Como analizaremos posteriormente con más detalle, la mayoría de los tumores de portadoras de mutación germinal en *BRCA1* (80 %) son TN o pertenecen al subtipo “basal-like”, y la prevalencia de mutaciones patogénicas en *BRCA1* en cohortes de

pacientes con tumores TN es superior a la esperada(26,27). Por otro lado, se ha descrito que *BRCA1* puede ser disfuncional y estar infra-expresado por mecanismos de “silenciación” epigenética en algunos tumores de mama esporádicos de tipo basal en ausencia de mutación germinal patogénica (“BRCAness”)(28).

2.1.4. Cáncer de mama en mujeres jóvenes

El punto de corte para considerar que una mujer ha desarrollado cáncer de mama a una edad joven es arbitrario, pero en general se define como aquel que acontece por debajo de los 40 años. Aproximadamente 1 de cada 300 mujeres < 40 años desarrollarán cáncer de mama, una incidencia que es similar en todos los países del mundo(29). No obstante, se ha descrito que en determinadas áreas geográficas y poblaciones como la asiática o en mujeres afroamericanas, la edad de presentación de cáncer de mama es inferior a la población caucásica(30). Los factores de riesgo conocidos son similares a los de la población de mayor edad, y al igual que en la población general, se estima que aproximadamente un 10 % tienen un componente hereditario(29).

Existen características histopatológicas específicas de los tumores que aparecen en mujeres jóvenes respecto a los que se dan en la población general. Cabe destacar la baja frecuencia de carcinomas *in situ*, entre otras razones por que estas mujeres no son incluidas en programas de detección precoz(29). Por otro lado, determinados subtipos histológicos y moleculares como los tumores TN, HER2 positivos y luminales B parecen estar sobre-representados en este grupo poblacional, en parte por su baja positividad para RE(29,31).

Las mujeres jóvenes con cáncer de mama tienen peor pronóstico comparadas con la población general. No está claro si estas diferencias se deben exclusivamente a la edad o son en realidad secundarias a aspectos patológicos o a perfiles de expresión genética característicos de estas pacientes(29,31,32). En cualquier caso, varios estudios han mostrado que la edad joven es un factor pronóstico independiente de recaída local, cáncer de mama contralateral y muerte tras recaída(29).

2.2. Cáncer de mama hereditario

2.2.1 Bases genéticas del cáncer de mama hereditario

Desde una perspectiva epidemiológica, entre los casos incidentes de cáncer de mama en la población general, aproximadamente un 80 % son esporádicos (ausencia de antecedentes familiares significativos reportados), un 10-15 % de los mismos presentan agregaciones familiares pero sin un patrón de herencia evidente y en torno a un 5-10 % de los casos presentan agregaciones familiares compatibles con un patrón de herencia mendeliana, y se englobarían dentro de lo que entendemos como síndromes genéticos clásicos o hereditarios(15,33,34). Un hecho contrastado es que el riesgo de cáncer de mama en familiares de primer grado de pacientes afectas es el doble que en mujeres de la población general(15). Estudios epidemiológicos han demostrado que las causas genéticas y no las medioambientales son responsables de este agrupamiento familiar(6). A pesar de extensos esfuerzos, este componente genético del cáncer de mama no está completamente aclarado (**figura 1**). El cáncer de mama hereditario es probablemente el paradigma de los tumores hereditarios y sus los alelos o genes de susceptibilidad conocidos se agrupan en los 3 grupos previamente comentados(2,35) (**tabla 2**).

a. Genes de alta penetrancia: A comienzos de los años 90, el análisis de ligamiento de familias con múltiples casos de cáncer de mama y ovario (CMO) se localizó la primera región cromosómica (17q12-q21) compatible con contener un gen de herencia mendeliana y transmisión autosómica dominante que explicaba el exceso de cáncer observado en estas familias(36). Este gen fue clonado en 1994 y conocido como gen *BRCA1*(37). Posteriormente, y estudiando familias que no presentaban ligamiento para *BRCA1* y las cuales contenían varones con cáncer de mama, se localizó el segundo locus de susceptibilidad a nivel del cromosoma 13q12-13q, identificado posteriormente como el gen *BRCA2* (*BReastCAncergene2*)(38,39). Ambos constituyen los principales genes de susceptibilidad al cáncer de mama conocidos. Se estima que tan solo el 20 % de la heredabilidad del cáncer de mama es atribuible a mutaciones en *BRCA1/2* (**figura**

1)(40), pero explican en torno al 50 % de los casos de cáncer de mama que englobaríamos dentro de los síndromes hereditarios clásicos. Se han llevado a cabo numerosos estudios de ligamiento para identificar otros genes de alta penetrancia que expliquen el exceso de riesgo restante pero ninguno de ellos está específicamente relacionado con el síndrome de CMO. Probablemente uno de los más relevantes y recientemente descubiertos es el gen *RAD51C*(41), si bien se postula que probablemente predispone fundamentalmente a cáncer de ovario(42). Por último existen otros genes de alta penetrancia también relacionados con cáncer de mama hereditario pero cuya alteración en general forma parte de otros síndromes genéticos con un fenotipo más complejo. Ejemplos de ello son los genes *TP53* (síndrome de Li-Fraumeni), *PTEN* (síndrome de Cowden), *LKB1* (síndrome de Peutz-Jeghers) y *CDH1* (síndrome de cáncer gástrico difuso) (**tabla 2**) (2,43).

b. Genes de moderada penetrancia: Este segundo grupo de alelos han sido identificados mediante estudios de asociación en casos y controles de genes candidatos, en su mayoría genes que intervienen conjuntamente con *BRCA1* y *BRCA2* en los procesos de reparación del DNA. Destacan el gen *ATM*, *CHEK2*, *PALB2* y *BRIP1* (**tabla 2**)(44). Su frecuencia poblacional es variable pero en general baja, si bien en determinadas subpoblaciones pueden ser frecuentes e incluso tener mutaciones fundadoras (la mutación 1100delC en el gen *CHEK2* está presente hasta en el 1 % en población germana y finlandesa)(2). En conjunto, estos alelos de riesgo moderado representan aproximadamente el 5 % de la susceptibilidad genética en cáncer de mama (**figura 1**)(45).

c. Genes de baja penetrancia: La tercera categoría de genes se ha identificado mediante estudios pangenómicos de asociación (GWAS) en extensas series de miles de casos y controles. Teóricamente estos alelos explicarían el componente genético responsable del exceso de riesgo restante en base a un modelo poligénico(6,40,43). Hasta el momento tan solo se han identificado 72 regiones en el genoma que conjuntamente explicarían aproximadamente el 14 % de la heredabilidad del cáncer de mama (**tabla 2, figura 1**)(35).

Tabla 2. Principales alelos de susceptibilidad al cáncer de mama

	Genes	Identificación	Frecuencia poblacional	RR en portadores	Heredabilidad del cáncer de mama
Penetrancia alta	<i>BRCA1, BRCA2, RAD51, TP53, PTEN, LKB1, CDH1</i>	Estudios de ligamiento	Muy baja (< 0.1 %)	Elevado (> 10-20)	20-25 %
Penetrancia moderada	<i>ATM, CHEK2, PALB2, BRIP1</i>	Estudios de asociación de genes candidatos en casos y controles	Baja (< 1%)	Moderado (2-4)	5 %
Penetrancia baja	> 70 loci	GWAS en casos y controles	Común (10-50 %)	Bajo (1.05-1.5)	14 % (conocido)

Estos alelos de susceptibilidad en absoluto solapan individualmente con los patrones epidemiológicos previamente referidos, tal y como representamos en la **figura 2**. Por ejemplo, un determinado porcentaje de tumores esporádicos se explica o presentan mutaciones patogénicas en los genes *BRCA1/2*, al igual que, aunque poco frecuente, un determinado número de casos catalogados como “hereditarios” se explican por genes de moderada o incluso baja penetrancia.

Figura 1. Base genética de la heredabilidad en cáncer de mama

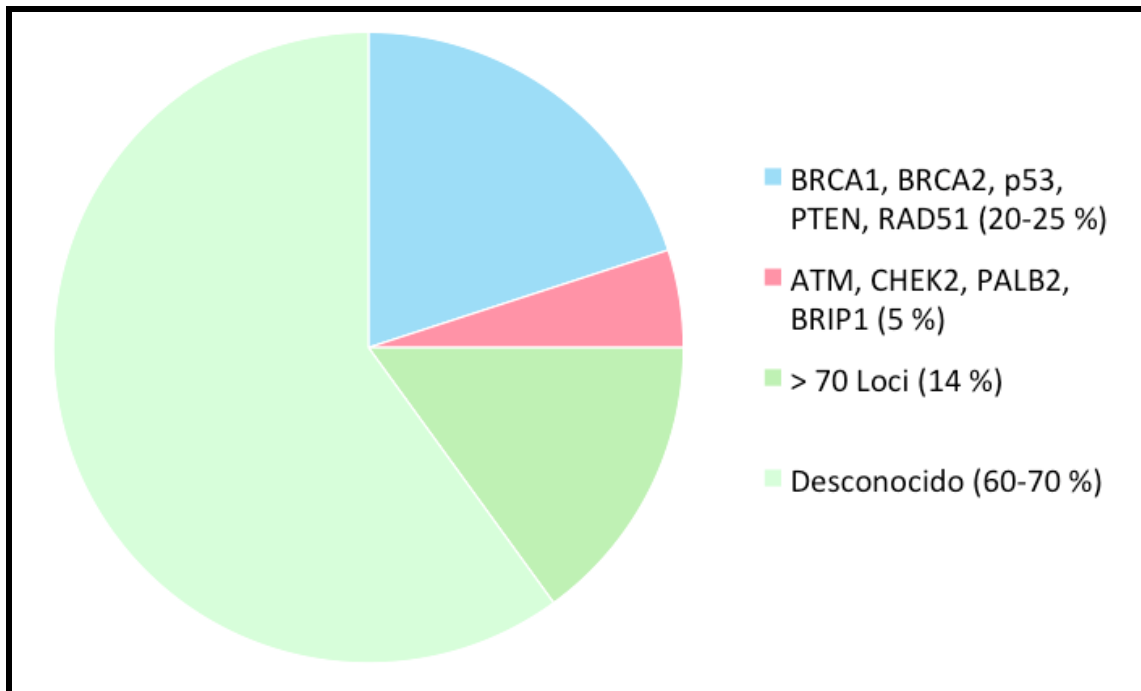
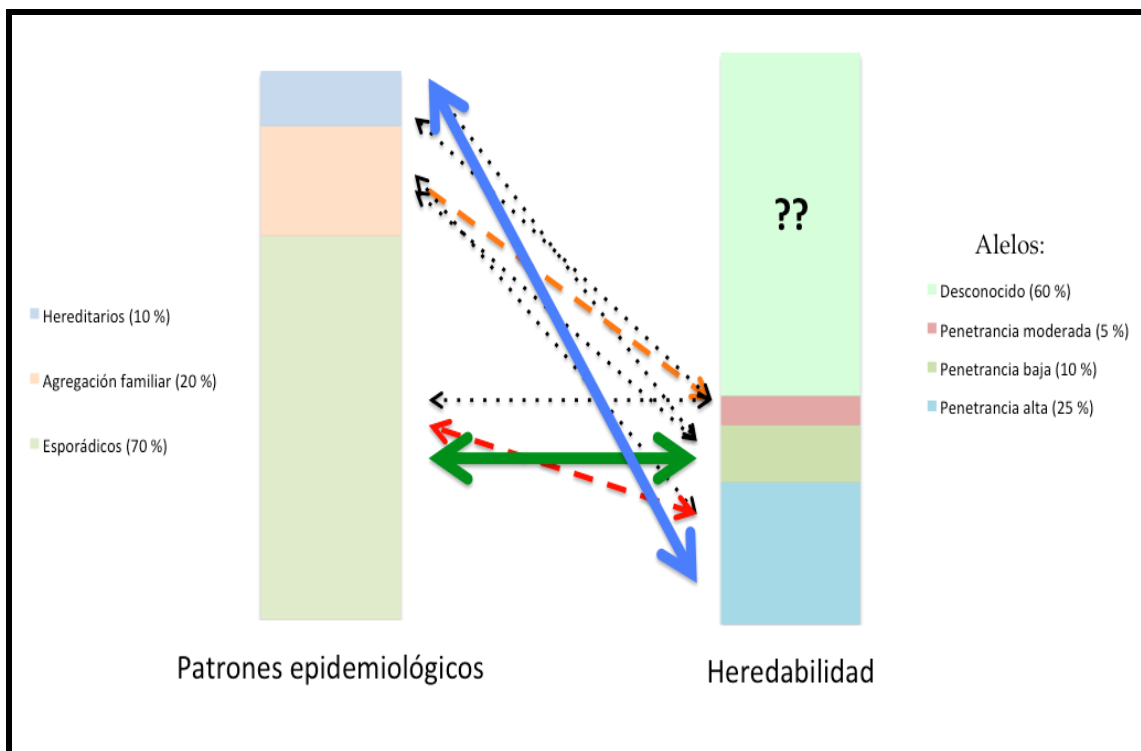


Figura 2. Epidemiología y heredabilidad del cáncer de mama



2.2.2 Principales genes de susceptibilidad a cáncer de mama: *BRCA1* y *BRCA2*

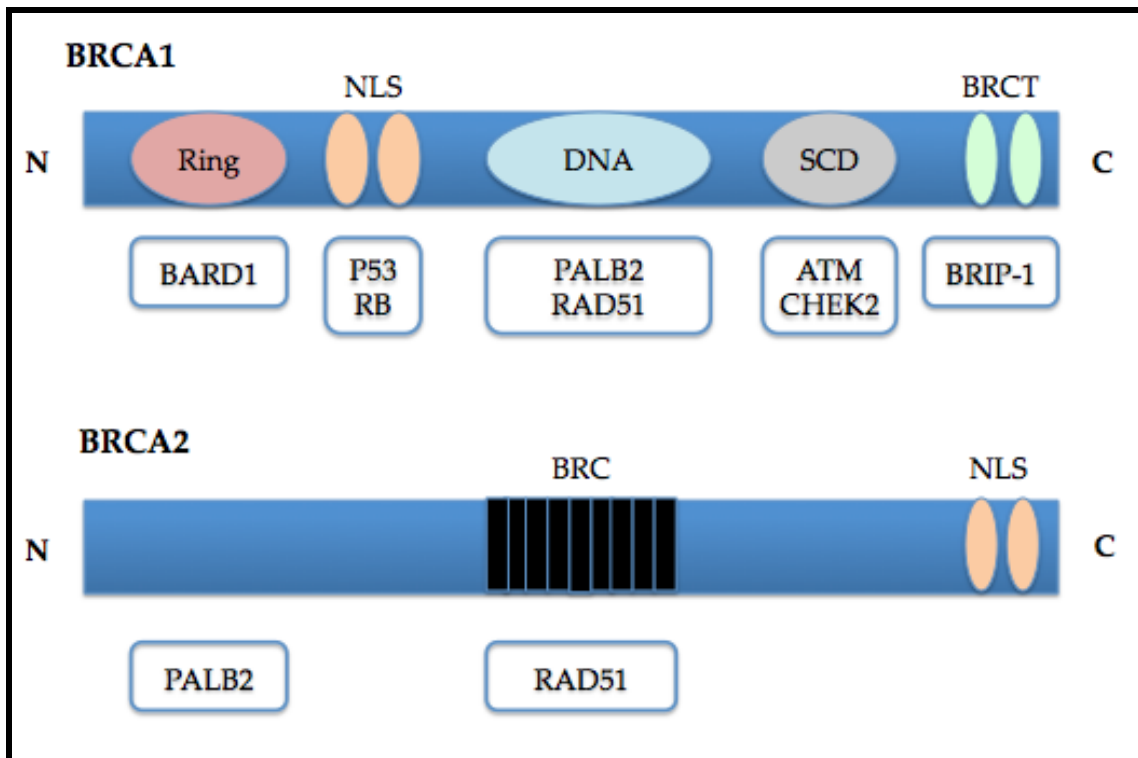
2.2.2.1. Aspectos moleculares

Estructura de los genes y proteínas BRCA1/2

El locus *BRCA1* se localiza en 17q21.31 y tiene un tamaño aproximado de 81kb. El transcrito maduro de referencia, de 7094 nucleótidos, está formado por 23 exones (22 exones codificantes) y codifica para una proteína de 1863 aminoácidos (220 kD) denominada BRCA1(46). Esta proteína contiene 2 importantes regiones filogenéticamente muy conservadas y similares a otras unidades funcionales conocidas: un dominio RING de unión a zinc de 109 aminoácidos en su extremo amino-terminal y dos copias en tándem del dominio BRCT (BRCA1 C-Terminal) en su extremo carboxi-terminal(47). El dominio RING media las interacciones entre diversas proteínas como BARD1 adquiriendo capacidad de poliubiquitinización(46). Por otro lado, el dominio BRCT funciona como unidad de anclaje a fosfoproteínas implicadas en la respuesta al daño en el DNA(47). Además de estos 2 dominios existen otros de vital importancia que median las interacciones entre BRCA1 y otras proteínas implicadas en mantener la estabilidad genómica como CHEK2, PALB2 y ATM entre otras(48). Entre ellos se encuentran 2 señales de localización celular codificadas por el exón 11 (NLS, del inglés *nuclear localization signals*), los dominios de unión a DNA y el dominio SCD (*SQ-Cluster Domain*)(46)(**figura 3**).

El locus *BRCA2* se localiza en 13q13.1 y tiene un tamaño aproximado de 84kb. El transcrito maduro de referencia, de 10.930 nucleótidos, está formado por 27 exones (26 exones codificantes) y codifica para una proteína de 3410 aminoácidos (384kD) denominada BRCA2. Su dominio más importante y filogenéticamente más conservado (codificado por el exón 11) contiene 8 copias (repeticiones BRC) de unos 80-300 aminoácidos en la porción central de la proteína, claves en para su función de reparación del DNA y su unión a la proteína RAD51. Existe un segundo dominio de unión a RAD51 en el extremo carboxi-terminal (TR2), donde también se encuentran las señales de localización nuclear (NLS)(46)(**figura 3**).

Figura 3. Estructura de los genes BRCA1 y BRCA2



Funciones de las proteínas BRCA1/2

Los genes *BRCA1/2* actúan como genes supresores de tumores y codifican para sendas proteínas nucleares implicadas en numerosos procesos celulares, incluidas la regulación del ciclo celular y la transcripción. Ambas proteínas juegan un papel común y crucial en mantener la integridad genómica a través de mecanismos de reparación de los daños inducidos en el DNA, y en concreto en la reparación de las rupturas en la doble hebra del DNA(48). Estas rupturas pueden ocurrir de forma endógena (durante la replicación o la meiosis) o ser consecuencia de agentes exógenos como la luz ultravioleta(49). Un fracaso completo en los mecanismos de reparación de estas roturas de doble hebra dará lugar a la apoptosis celular, mientras que una reparación defectuosa de los mismos puede dar lugar a un acúmulo de mutaciones y/o alteraciones cromosómicas que en última instancia podrían desencadenar el proceso de carcinogénesis(49). Para prevenir esto, las células eucariotas disponen de 2 grandes mecanismos de reparación de los daños en la doble hebra del DNA: los mecanismos de recombinación homóloga, mediada bien por conversión génica (CG, que implica la “invasión” de la secuencia homóloga

en la cromatide hermana para emplearla como “molde” o “plantilla” para el proceso de reparación) o mediante el anillamiento de cadena sencilla (SSA, del inglés *single strand annealing*, que emplea secuencias homólogas pero no utiliza la invasión de la cromatide hermana), y la reparación mediante unión de extremos no homólogos (NHEJ, del inglés *non homologous end-joining*)(48). Mientras que los mecanismos de recombinación homóloga mediados por CG (ruta dependiente de RAD51) son en general “libres de error”, el SSA (independiente de RAD51) y el NHEJ son propensas a cometer errores durante la reparación del DNA, con el consiguiente acúmulo de mutaciones e inestabilidad genómica.

Tras una ruptura en la doble hebra del DNA, las células normales optaran por mecanismos de recombinación homóloga libres de error para repararlos, vía RAD51 y CG. De forma simple y esquemática, el proceso requiere que el daño en la doble cadena del DNA sea reconocido por las quinasas ATM y ATR, la mediación en las señales se realice por CHEK2 y BRCA1, y la reparación la completen los “efectores” BRCA2 y RAD51. Hay además otras múltiples proteínas implicadas en el proceso que interaccionan con BRCA1/2, entre las que destacan BRIP1 y PALB2(50). Sin embargo, las células con un funcionamiento inadecuado de los genes *BRCA1/2*, los procesos de recombinación homóloga estarán ausentes o serán ineficaces, por lo que la célula solo podrá repararlos mediante sistemas propensos a la introducción de errores como NHEJ y SSA. Esto dará lugar bien a muerte celular o a la acumulación sucesiva de errores en el DNA genómico e inestabilidad genómica, que podría conducir a la transformación neoplásica de la célula(48-50).

Como hemos visto, BRCA1/2 juegan papeles diferentes en este mantenimiento de la integridad del genoma(50). BRCA1, a través de la formación de varios complejos proteicos, juega un papel central como regulador de este proceso, tanto como mediador en la reparación del DNA a través de recombinación homóloga como en el control del ciclo celular, procesos de ubiquitinización proteica, remodelación de la cromatina y regulador de varios factores de transcripción entre otros, lo que le convierte en uno de los principales reguladores de la estabilidad e integridad genómica(47). BRCA2 parece tener un papel más limitado, y su principal función sería actuar localmente como efector de los procesos de reparación vía CG, a través de su interacción con RAD51(51).

Mutaciones en los genes BRCA1/2

Las mutaciones en *BRCA1/2* se distribuyen a lo largo de todo el gen. Hasta el momento se han detectado aproximadamente 3500 cambios en la secuencia de estos genes que están recogidas en 2 bases de datos principales: la base de datos BIC (del inglés *Breast Cancer Information Core*) (www.research.nhgri.nih.gov/bic/) y LOVD (del inglés *Leiden Open Variation Database*) (www.lovd.nl/3.0). Estas mutaciones se pueden clasificar en 3 grandes grupos en función de su patogenicidad:

a. Mutaciones patogénicas: alteraciones genéticas capaces de causar síndromes hereditarios de CMO y que, por tanto, son de utilidad en el proceso de consejo genético. La inmensa mayoría de las mutaciones patogénicas en *BRCA1/2* dan lugar a proteínas truncadas y/o inactivas. Estas alteraciones pueden ser de naturaleza variada, a saber: alteraciones en la secuencia del DNA en forma de inserciones o deleciones que provoquen codones de parada prematuros (bien alterando el marco de lectura o directamente; *frameshift* y *non-sense* respectivamente); alteraciones en la secuencia del DNA que den lugar a cambios de aminoácido (*missense*) en lugares estructural y filogenéticamente muy conservados de la proteína (por ejemplo en el dominio RING en BRCA1); mutaciones adyacentes a regiones intrón-exón que den lugar a la alteraciones de los mecanismos de *splicing*; alteraciones genéticas que afecten a la integridad y/o estabilidad del mRNA; grandes reordenamientos del gen(52).

b. Mutaciones no patogénicas: También denominadas “neutras” o “variantes de escaso significado clínico”, son aquellas variantes en la secuencia del DNA que no causan síndromes hereditarios de CMO. Muchas mutaciones se consideran no patogénicas por estar presentes en > 1 % de la población general, o son más raras pero se ha demostrado que no segregan con la enfermedad, o se han identificado en *trans* con mutación patogénica(53).

c. VSC o variantes de significado incierto: Estas alteraciones incluyen en la mayoría de los casos mutaciones tipo *missense* que dan lugar a cambios de aminoácido cuyo significado es desconocido. No obstante, también pueden afectar por ejemplo a secuencias intrónicas o exónicas cuya repercusión en los procesos de *splicing* sea desconocida o variantes en las secuencias reguladoras que podrían afectar a la

transcripción génica. Se estima que hasta en un 15 % de los análisis genéticos se detectan variantes genéticas de significado incierto(52) y se han descrito aproximadamente 1800 tipos de estas variantes hasta la fecha(53). Existe un consorcio internacional (ENIGMA, del inglés *Evidence-Based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles*) que combina variables genéticas, clínicas y morfo-patológicas de las VSC a lo largo de todo el mundo para tratar de clasificarlas en base a modelos de probabilidad *a posteriori*(53).

Correlación genotipo-fenotipo. Penetrancia de las mutaciones en BRCA1/2

Las estimaciones de penetrancia para el desarrollo de CMO son altamente variables y dependen nuevamente tanto de la población como del tipo de familias estudiadas. Las primeras estimaciones se hicieron en las mismas familias que se habían empleado para identificar *BRCA1/2* mediante análisis de ligamiento. Estos resultados estaban claramente sobrestimados debido al evidente sesgo de selección(54,55). Posteriormente se realizaron estudios poblacionales analizando mutaciones fundadoras sobre poblaciones muy concretas y más recientemente en familias más representativas seleccionadas de las unidades de consejo genético. Estos datos han sido recogidos en 2 grandes metaanálisis y concluyen que el riesgo es más moderado(56,57). Así, el metaanálisis más reciente estima una penetrancia acumulada a los 70 años para cáncer de mama del 57 % (IC 95 % 47-66) en portadoras de mutación en *BRCA1* y del 49 % (IC 95 % 40-57) para portadoras de mutación en *BRCA2*. El riesgo acumulado de desarrollar cáncer de ovario a los 70 años sería del 40 % (IC 95 % 35-46) y 18 % (IC 95 % 13-23) para portadores de mutación en *BRCA1* y *BRCA2* respectivamente(57). De igual forma, ambos son consistentes en concluir que el riesgo acumulado de CMO a los 70 años es mayor para *BRCA1*, y en particular estas diferencias son más notables para el desarrollo de cáncer de mama a edad joven y para cáncer de ovario(56,57). En lo que respecta a cáncer de mama joven, se estima que el RR de desarrollar cáncer de mama entre los 30-39 años es de 33 (IC 95 % 23-49) para las portadoras de mutación en *BRCA1* frente a no portadoras, y de 16 (IC 95 % 6-39) para *BRCA2* respectivamente(56). Un estudio multicéntrico español (no incluido en estos metaanálisis) ha llegado a conclusiones similares y ha estimado una penetrancia de cáncer de mama a los 70 años del 52 % (IC 95 % 26-69) para portadoras de mutación en *BRCA1* y 47 % (IC

95 % 29-60) para *BRCA2*, y de cáncer de ovario del 22 % (IC 95 % 0-40 %) y 18 % (IC 95 % 0-35 %) respectivamente(58). Es importante recordar que estos datos son valores globales y no deben ser aplicados a todos los portadores por igual. La expresión fenotípica está individualmente condicionada por factores genéticos y ambientales que actúan a modo de modificadores de riesgo(44). Uno de los principales y más relevantes hallazgos en este contexto fue la confirmación de que un polimorfismo en *RAD51* (135G>C) triplicaba el riesgo de desarrollar cáncer de mama en portadoras de mutación en *BRCA2* cuando aparece en homocigosis (HR 3.18, IC 95 % 1.39-7.27)(59). En los últimos años, el estudio de SNPs identificados mediante GWAS en población general y realizando GWAS en portadoras de mutación, se han identificado varios loci que podrían modificar el riesgo de CMO en portadoras de mutaciones patogénicas en *BRCA*. El consorcio internacional CIMBA (del inglés *Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2*) esta destinado a la identificación e integración de todos estos loci(60). Por otro lado, la estimación del riesgo de una mujer portadora no se puede considerar independiente de su propia historia familiar particular. Estas consideraciones deben tenerse en cuenta a la hora ofrecer información acerca de la probabilidad de desarrollar la enfermedad en un probando concreto(61).

Mutaciones en *BRCA1/2* y anatomía patológica de los tumores de mama

Los tumores de mama asociados a mutaciones germinales en *BRCA*, y más concretamente a *BRCA1*, presentan características morfológicas, inmunofenotípicas y moleculares específicas con respecto a los tumores esporádicos(62,63). Para los objetivos de este trabajo, tan solo abordaremos las características distintivas en lo que respecta a patrones inmunofenotípicos.

Sin duda la característica más específica de los tumores que asientan en portadoras de *BRCA1* respecto a los esporádicos es la negatividad para RE(26,63). Esto ha sido corroborado y cuantificado en numerosas series y se estima que en torno a 60-90 % de estos tumores son RE negativos. Con mucha frecuencia carecen también de expresión de RP y HER2, por lo que la inmensa mayoría de ellos (hasta un 80 %) son tumores TN(64-66). En esta misma línea, la inmensa mayoría de estos tumores expresan marcadores mioepiteliales de los tumores “basal-like”(67) y varias series han intentado utilizar estos marcadores a nivel

inmunohistoquímico para ayudar a predecir mutaciones germinales en *BRCA1* (68-71). Los tumores que asientan en portadores de mutación en *BRCA2* son más heterogéneos desde un punto de vista inmunohistoquímico, lo que dificulta distinguirlos de los tumores esporádicos. A diferencia de *BRCA1*, ningún parámetro inmunofenotípico está claramente asociado a tumores *BRCA2* respecto a los esporádicos (62). La prevalencia de expresión de RE es muy similar a lo observado en tumores esporádicos (64,65) pero la positividad para la proteína HER2 es muy infrecuente (0-3 %)(63).

2.2.2.2 Epidemiología de las mutaciones en *BRCA1/2*

Las estimaciones de prevalencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2* está estrechamente condicionada por numerosas variables, entre las que se incluyen como más importantes el tipo de población o etnia estudiada, la historia y estructura familiar de nuestra paciente probando, la edad de presentación de CMO y los subtipos histológicos de cáncer de mama (72). Esto supone que para realizar estimaciones de prevalencia precisas en una determinada cohorte, deberíamos conocer la información acerca de estas variables. Existen numerosos y heterogéneos estudios publicados al respecto, que trataremos de clasificar en función de los criterios de inclusión y tipo de pacientes estudiadas.

a. Prevalencia poblacional

La prevalencia poblacional de portadoras de mutaciones en *BRCA1/2* es muy difícil de estimar debido al tamaño y la laboriosidad en análisis de ambos genes. Determinadas poblaciones o áreas geográficas presentan mutaciones cuya prevalencia es inusualmente alta. Análisis de haplotipos han demostrado que tienen un origen “fundador” y por tanto provienen de un ancestro portador común. Estas mutaciones, en regiones con cierto grado de endogamia, serían transmitidas en sucesivas generaciones y a lo largo de los años constituirían mutaciones altamente recurrentes y características de estas áreas geográficas. Las más conocidas y extensamente estudiadas son las propias de los judíos Ashkenazi (185delAG y 5382insC en *BRCA1* y 6174delT en *BRCA2*) o la mutación fundadora islandesa en *BRCA2* (999del5), si bien pueden aparecer en múltiples áreas

geográficas de todo el mundo(72). En España destaca la mutación c.330A>G en *BRCA1* en población gallega. Dado que este tipo de mutaciones representan la inmensa mayoría de las mutaciones patogénicas en dichas etnias y/o áreas geográficas, el análisis genético dirigido a la detección específica de las mismas posibilita el estudio genético de poblaciones muy amplias. De esta forma se ha estimado que hasta un 2 % de la población judía Askenazhi es portadora de alguna de las tres mutaciones fundadoras(73). De igual forma, en Islandia el 0-4-0.6 % de la población general sería portadora de la mutación 999del5 en *BRCA2*(74). No se han realizado estudios semejantes para mutaciones no fundadoras precisamente por su gran coste y laboriosidad, pero estudios realizados en población anglosajona han estimado una prevalencia poblacional aproximada entre 0.07-0.11 % para *BRCA1* y 0.12-0.14 % para *BRCA2* respectivamente(75,76).

b. Prevalencia en cohortes de mujeres con cáncer de mama no seleccionadas

Varios grupos cooperativos y estudios multicéntricos han analizado la prevalencia de mutaciones patogénicas en cohortes de pacientes con CMO no seleccionadas por historia familiar, edad de presentación u otras variables de alto riesgo. Son cohortes de casos extraídos de la población general y su prevalencia en función de las diferentes áreas geográficas se ha estimado en torno a 0-7 % para *BRCA1* y 1-3 % para *BRCA2*(72).

c. Prevalencia en cohortes de mujeres seleccionadas por criterios de alto riesgo

La mayoría de los análisis genéticos en la práctica clínica se realizan en base a un elevado número de familiares afectados de CMO y/o a una edad temprana de presentación de CMO. Existe una enorme variabilidad en función de si ambas variables se presentan conjuntamente en la misma familia y también del área geográfica y etnia estudiadas, con prevalencias que varían entre 20-40 % para ambos genes y pudiendo superar el 50 % en casos de familias con CMO en la misma rama(72,77).

d. Prevalencia en cohortes de mujeres jóvenes con cáncer de mama

Numerosos estudios realizados en poblaciones de todo el mundo se han centrado en investigar la prevalencia de mutaciones en mujeres jóvenes con cáncer de

mama independientemente de su historia familiar u otros factores (**tabla 3**). Estas cohortes son bastante heterogéneas en cuanto al punto de corte de edad establecido, la presencia y el número de familiares afectos y las técnicas empleadas en la detección de mutaciones entre otras variables. Por ello, las estimaciones no son completamente reproducibles en todos ellos, pero en general estiman una prevalencia no superior a 15-20 %, siendo en muchos estudios < 10 % para ambos genes conjuntamente.(30,75,76,78-100). En España se han llevado a cabo 2 estudios de este tipo y ambos muestran una prevalencia del 1 y 5 % para *BRCA1* y *BRCA2* respectivamente(90,91).

e. Prevalencia en cohortes de mujeres con cáncer de mama esporádico.

Desde un punto de vista epidemiológico, el término esporádico se traduce en la ausencia antecedentes familiares pero no implica la ausencia de un componente genético. El término genera cierta confusión y de hecho algunos estudios han considerado esporádico a aquellos casos que no cumplen criterios de alto riesgo o criterios estrictos para análisis genético, y podían por tanto incluir mujeres cuya historia familiar no se consideraba significativa(101,102). Sin embargo, centrándonos solo en aquellos estudios que han seleccionado mujeres con cáncer de mama estrictamente esporádico, estiman una prevalencia de mutaciones que no supera el 2 %(103-105) (**tabla 4**).

f. Prevalencia en cohortes de mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico

En la **tabla 5** mostramos algunos de los estudios que han seleccionado cohortes de mujeres en base a una edad joven de presentación y la ausencia de antecedentes familiares de CMO. La mayoría de ellos han incluido mujeres que han sido remitidas a unidades de alto riesgo o consejo genético y, si bien la edad de selección no es homogénea en todos ellos, son bastante consistentes en estimar prevalencias entre 2-5 % para ambos genes por separado(106-110). Ninguno de ellos aporta datos acerca del fenotipo tumoral de las pacientes sometidas a los análisis genéticos.

e. Prevalencia en mujeres con tumores TN

En base a la asociación entre tumores TN/"Basal-Like" con las mutaciones fundamentalmente en *BRCA1*, numerosos estudios han tratado de establecer la prevalencia de mutaciones patogénicas en *BRCA1/2* en cohortes de mujeres con tumores TN, bien no seleccionadas o seleccionadas en base a otros criterios como edad y/o ausencia de historia familiar de CMO (**Tabla 6**). Se ha estimado una prevalencia de mutaciones patogénicas en *BRCA1/2* en un 10-15 % de pacientes no seleccionadas, ascendiendo a un 20-35 % en aquellas pacientes con alguno de los 2 factores de riesgo en las diversas series(70,111-119).

Tabla 3. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en cohortes de mujeres con cáncer de mama seleccionadas por edad

Estudio	Año	Población	Muestra	N	Edad	Mutación B1	Mutación B2	Mutación B1 esporádicos	Mutación B2 esporádicos
Fitzgerald et al. (78)	1996	EEUU	Poblacional	30	< 30	13.3 %	-	NE	-
Filtzgerald et al. (78)	1996	Askenazhi	Poblacional	39	< 40	20.5%	-	NE	-
Langston et al. (79)	1996	Washington	Poblacional	80	< 35	7.5 %	-	NE	-
Krainer et al. (80)	1997	EEUU	Poblacional	73	< 32	12 %	2.7 %	NE	NE
Krainer et al. (80)	1997	Askenazhi	Poblacional	39	< 40	20.5 %*	5.1 %*	NE	NE
Peto et al. (75)	1999	Reino Unido	Poblacional	254	< 36	3.5 %	2.4 %	11/562 (2 %)^	13/562 (2.3 %)^
				363	36-45	1.9 %	2.2 %	2/291 (0.6 %)	5/291 (1.7 %)
Hooper et al. (81)	1999	Australia	Poblacional	388	< 40	2.3 %	2.3 %	6/266 (2.2 %)^	5/266 (1.8 %)^
ABCSG (76)	2000	Reino Unido	Poblacional	1435	< 55	0.7 %	1.3 %	NE	NE
Malone et al. (82)	2000	EEUU	Poblacional	203	< 35	5.9 %	3.4 %	1/96 (1 %)^	0/96 (0 %)^
Gershoni-Baruch et al. (83)	2000	Askenazhi	Hospitalaria	172	< 42	24.4 %*	8 %*	6/93 (6.4 %)	3/93 (3.2 %)
Plaschke et al. (84)	2000	Alemania	Poblacional	40	< 40	-	12.5 %	NE	NE
Tonin et al. (85)	2001	Canada	Hospitalaria	61	≤ 40	6.5 %**	6.5 %**	0/26^	1/26 (3.8 %)^
Loman et al. (86)	2001	Suecia	Poblacional	234	< 41	6.8 %	2.1 %	3/140 (2.1 %)	2/140 (1.4 %)
Yassae et al. (87)	2002	Irán	Hospitalaria	83	< 45	3.6 %	2.4 %	0/69 (0 %)	1/69 (1.4 %)

* BRCA1 (185delAG y 5382insC) y BRCA2 (6174delT).

** BRCA1 (4446C>T, 2953del3+C and 3768insA) y BRCA2 (2816insA, 6085G>T, 6503delTT and 8765delAG).

^ Solo especifica la ausencia de antecedentes para cáncer de mama.

^^ Solo incluye pacientes de primer grado.

B1: BRCA1; B2: BRCA2; NE: no especificado

Tabla 3. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en cohortes de mujeres con cáncer de mama seleccionadas por edad (cont.)

Estudio	Año	Población	Muestra	N	Edad	Mutación B1	Mutación B2	Mutación B1 Esporádicos	Mutación B2 Esporádicos
Laloo et al. (88)	2003	Reino Unido	Poblacional	99	< 30	9 %	7 %	1/63 (1.5 %)	1/63 (1.5 %)
Hamann et al. (89)	2003	Alemania	Hospitalaria	91	< 41	3.3 %	2.2 %	2/50 (4 %)	1/50 (2 %)
De Sanjose et al. (90)	2003	España	Poblacional	136	< 46	0.7 %	5.8 %	0/73 (0 %)	2/73 (2.7 %)
Martinez-Ferrandis et al. (91)	2003	España	Hospitalaria	124	< 41	0.8 %	4 %	0/96 (0 %) ^{^^}	3/96 (3.1 %) ^{^^}
Choi et al. (92)	2004	Korea	Hospitalaria	60	< 40	8.3 %	6.6 %	NE/52	NE/52
Bonadona et al. (93)	2005	Francia	Poblacional	232	< 45	6.5 %	2.6 %	5/121 (4.1 %)	3/121 (2.4 %)
Lubinski et al. (94)	2006	Polonia	Poblacional	3479	< 50	5.7 %*	-	NE	NE
Loizidou et al. (95)	2007	Chipre	NE	26	< 40	7.7 %	15.3 %	1/11 (9 %)	1/11 (9 %)
Musolino et al. (96)	2007	Italia	Poblacional	66	< 40	15.1 %	9 %	2/23 (8.7 %)	1/23 (4.3 %)
Haffty et al. (30)	2009	Varias	Hospitalaria	333	< 45	9.6 %	5.7 %	9/177 (5 %) [^]	5/177 (3 %) [^]
Ghadirian et al. (97)	2009	Canada	Hospitalaria	564	< 50	1.2 %**	3.5 %**	18/408 (4.4 %) ^{^^}	18/408 (4.4 %) ^{^^}
Lee SC et al. (98)	2012	Malasia	Hospitalaria	100	< 35	11 %	6 %	NE	NE
Carraro et al. (99)	2013	Brasil	Hospitalaria	55	≤ 35	12.7 %	7.3 %	NE	NE
Pal et al. (100)	2013	Afroamericana	Poblacional	46	< 50	2.2 %	4.3 %	NE	NE

*4153delA, 5328insC y C61G.

**BRCA1 (C4446T, 3875delGTCT, G1081A, 2953delGTA/insC) BRCA2 (3398delAAAAG, 6085 G>T, 8765delAG).

[^]Solo especifica la ausencia de antecedentes para cáncer de mama.

^{^^}Solo incluye pacientes de primer grado.

^{^^}No especificado por tipo de gen mutado.

B1: BRCA1; B2: BRCA2; NE: no especificado

Tabla 4. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en cohortes de mujeres con cáncer de mama esporádico sin selección por edad

Estudio	Año	Población	Muestra	N	Edad (M)	Mutación B1	Mutación B2	Mutación B1 jóvenes (edad)	Mutación B2 jóvenes (edad)
García Patiño et al. (101)	1998	España	Hospitalaria	105	46-62 (55)	5.7 %	-	2/55 (3.6 %) (< 50)	-
Hong Seo et al. (103)	2004	Korea	NE	97	35-73 (45)	2 %	1 %	NE	NE
Han et al. (104)	2006	Korea	NE	793	NE	1 %	1.5 %	NE	NE
De Juan Jimenez et al. (102)	2012	España	Hospitalaria	476	32-87 (55)	0.4 %	0.6 %	NE	NE
De Leener et al. (105)	2012	Bélgica	Hospitalaria ¹	170 [^]	24-68 (36)	7 %	2.3 %	10/142 (7 %) (< 40)	3/142 (2 %) (< 40)

¹La muestra corresponde a mujeres remitidas a unidades de consejo genético para análisis genéticos.

[^]Corresponde solo a los casos índices de cáncer de mama. El estudio incluye 17 varones y 6 mujeres índices con cáncer de ovario.

B1: BRCA1; B2: BRCA2; NE: no especificado; M: mediana

Tabla 5. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en mujeres con cáncer de mama esporádico y seleccionadas por edad

Estudio	Año	Población	Muestra	N	Edad	Definición esporádico	Mutación B1	Mutación B2
Ellis et al. (106)	2000	Reino Unido	Hospitalaria ¹	110	< 35	No h ^a de CMO	3.6 %	-
Weitzel et al. (107)	2007	EEUU	Hospitalaria ¹	306	< 50	No h ^a de CMO en 2 generaciones	5.8 %	3.5 %
Theng Toh et al. (108)	2008	Malasia	Hospitalaria	37	≤ 40	No h ^a de CMO en 2 generaciones	2.7 %	5.4 %
Beristain et al. (109)	2009	España	Poblacional ¹	81	< 40	NE	0 %	1.2 %
Ho Son et al. (110)	2012	Korea	Hospitalaria ¹	625	≤ 40	No h ^a de CMO	3.5 %	5 %

¹La muestra corresponde a mujeres remitidas a unidades de consejo genético para análisis genéticos.

B1: BRCA1; B2: BRCA2; NE: no especificado; H^a: historia; CMO: cáncer de mama y ovario

Tabla 6. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en cohortes de mujeres con tumores TN

Estudio	Año	Población	N	Criterios de selección		Mutación B1	Mutación B2
				Edad	Historia familiar		
Young et al. (111)	2009	Canada	54	< 40	Ausente/Escasa	5 (9 %)	1 (1.9 %)
Collins et al. (70)	2009	EEUU	144	No seleccionada	No seleccionada	20 (14 %)	-
Gonzalez-Angulo et al. (112)	2011	EEUU	77	No seleccionada	No seleccionada	11 (14 %)	3 (3.9 %)
Comen et al. (113)	2011	Ashkenazhi	64	No seleccionada	No seleccionada	19 (30 %)	6 (9 %)
Evans et al. (114)	2011	Reino Unido	63	< 41	Ausente	8 (12.7 %)	0
Robertson et al. (115)	2012	Reino Unido	308	< 50	No seleccionada	45 (14.6 %)	-
Hartman et al. (116)	2012	EEUU	199	No seleccionada	No seleccionada	13 (6.5 %)	8 (4 %)
Fostira et al. (117)	2012	Grecia	403	No seleccionada	No seleccionada	65 (16 %)	-
Greenup et al. (118)	2013	Varias*	450	No seleccionada ¹	No seleccionada ¹	106 (23 %)	32 (7 %)
Andres et al. (119)	2013	España	93	< 50	Ausente	7 (7.6 %)	-

*Incluye mujeres caucásicas, asiáticas, africanas, judías Ashkenazi u otras.

¹Es una cohorte de alto riesgo extraída de unidades de asesoramiento genético.

B1: BRCA1; B2: BRCA2

2.2.2.3. Identificación y criterios de selección de estudio genético de *BRCA1/2*

Para los objetivos de este trabajo abordaremos los 2 primeros puntos del asesoramiento genético en lo que respecta al síndrome de CMO asociado a mutaciones germinales en *BRCA1/2*: identificación de una posible mutación patogénica en una familia y valoración de la indicación de realizar el estudio genético.

*Identificación: La importancia del pedigree en el síndrome CMO asociado a *BRCA1/2**

El asesoramiento genético, a diferencia de la práctica médica convencional basada en el individuo, se basa en la familia. La construcción de un árbol familiar es por tanto la herramienta fundamental para representar los datos y relaciones familiares de los individuos de la familia a estudio y nos permitirá identificar posibles síndromes genéticos así como sus patrones de herencia(7). El caso concreto del síndrome de CMO hereditario asociado a mutaciones en *BRCA* presenta una serie de características particulares que conviene tener en cuenta a la hora de la identificación de casos de cáncer de mama asociados a *BRCA1/2* en una determinada familia. Una herencia autosómica dominante, una penetrancia incompleta y una expresión fenotípica mayoritariamente ligada al sexo femenino pueden explicar un porcentaje no desdeñable de casos esporádicos de cáncer de mama ligados a mutaciones en *BRCA1/2*, que carezcan de antecedentes familiares precisamente como consecuencia de una estructura familiar poco informativa. Es decir, en el contexto de familias de pequeño tamaño, con poco número de mujeres y con una herencia por vía paterna podrían enmascarar la evidencia del síndrome CMO asociado a *BRCA*(7). Esto fue específicamente demostrado en un estudio prospectivo llevado a cabo en una cohorte de mujeres jóvenes (≤ 50 años) con cáncer de mama esporádico. Weitzel et al. demostraron que una estructura familiar no informativa (definida como la presencia de < 2 familiares de primer y segundo grado de sexo femenino ≥ 45 años en ambas ramas paterna y materna) predecía de forma significativa la presencia de mutaciones patogénicas en *BRCA1/2*, con una prevalencia del 13.7 % en mujeres con estructura familiar no informativa comparado con un 5.2 % para aquellas con estructura familiar informativa ($p = 0.02$). El estudio también demostró que la presencia de una

estructura familiar no informativa afectaba a la precisión de los modelos estadísticos para predecir la probabilidad pre-test (Couch, Myriad y BRCAPRO) de ser portadora de mutación en *BRCA1/2*(107). Si bien la edad precoz de presentación de cáncer de mama (≤ 40 -50 años) es *per se* uno de los criterios clínicos para la realización de estudio mutacional de *BRCA1/2*, estos datos implican que a pesar de que no existan antecedentes familiares (o no sean aparentes), la obtención de un detallado pedigree en estos casos únicos de cáncer de mama es de vital importancia en la práctica clínica.

Criterios de selección y modelos estadísticos para la detección de mutaciones en *BRCA1/2*

En la actualidad el análisis genético de *BRCA1/2* en línea germinal no se puede recomendar de manera indiscriminada, por razones derivadas de su coste y laboriosidad y también por su impacto clínico y ético-legal. La selección de pacientes candidatos a la realización de estos test genéticos dependerá de determinadas características personales y familiares, recogidas en su mayor parte en el genograma(34).

Diversos grupos de consenso a nivel nacional e internacional han tratado de establecer una serie de criterios de selección de familias para estudio de los genes *BRCA1/2*. A diferencia de otros síndromes hereditarios, en el síndrome de CMO asociado a *BRCA* no existen unos criterios universalmente aceptados para guiar la realización de test genéticos, y pueden variar entre diferentes países en base a diversos factores como la prevalencia de mutaciones en una determinada población(120,121). No obstante, todas las guías reconocen y establecen unos criterios clínicos que deberían ser capaces de detectar una tasa de mutaciones en torno a un 10 %(122). Como es de esperar, las variables con más peso a la hora de establecer estos criterios son la presencia y número de antecedentes familiares y la edad de presentación de CMO. Otras variables contempladas por algunas de estas guías son las características patológicas de los tumores de mama de la paciente probando (fundamentalmente el estatus TN) y la presencia de antecedentes familiares de otros tumores no mama/ovario que pudieran estar ligadas al síndrome de CMO (páncreas, melanoma, próstata). En el **apéndice 1** se recogen los criterios de selección de las principales guías empleadas en nuestro medio para la

detección de mutaciones, como son las guías americana (NCCN, del inglés *National Comprehensive Cancer Network guidelines*)(8) y la elaborada por la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM)(34). Las guías realizadas y empleadas en otros países de la Unión Europea están recogidos en un artículo independiente(120).

Por otro lado, y en parte debido a la ausencia de criterios clínicos estándar y homogéneos, se han desarrollado modelos de estadísticos para predecir la probabilidad pre-test de ser portadora de mutación en *BRCA1/2*. Estos test se emplean como herramienta complementaria para guiar la realización de estudios genéticos en ciertos países y unidades de consejo genético. Existen tres aproximaciones para determinar esta probabilidad pre-test: los modelos empíricos, modelos mendelianos y las tablas de prevalencia. Ninguna los tres modelos ha demostrado ser superior, pero algunos de ellos se ajustan mejor a determinadas características de una familia(61). La aproximación empírica se basa en un modelo estadístico multivariable (derivado de la identificación de variables de interés tras el estudio de familias a las que previamente se les ha realizado análisis genéticos), y establece la probabilidad pre-test en base a la combinación de variables concretas que presente una determinada familia. Por otro lado, los modelos mendelianos calculan esta probabilidad en base a parámetros genéticos (como la frecuencia alélica y la penetrancia) y a las leyes de herencia mendeliana. Entre ellos destacan el BOADICEA y el BRCAPRO como los más conocidos y utilizados(123). Por último, la tercera aproximación se basa en asumir que la probabilidad de identificar una mutación en una familia es igual a la prevalencia de mutaciones calculada en esa categoría de familia en concreto. Se trata de un método sencillo, pero su fiabilidad dependerá mucho tanto de en que medida nuestra familia a estudio se ajuste a la categoría de familias de las que se extrajo el dato de prevalencia de mutaciones, así como del número de familias previamente estudiadas para este mismo fin(61). Siguiendo este modelo, en el año 2002 se publicaron tablas de prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* en 10.000 familias clasificadas en 42 categorías (laboratorios Myriad)(124). Estos datos se actualizan periódicamente y pueden ser consultados en internet (www.myriadpro.com/prevalence-tables).

2.2.2.4. Otras neoplasias no mama/ovario asociadas a mutaciones en *BRCA1/2*

Existen pocos estudios que hayan analizado de forma específica la relación de mutaciones en *BRCA1/2* con otro espectro de tumores no mama/ovario. Los datos más consistentes indican un mayor riesgo de cáncer de próstata en varones portadores de mutaciones en *BRCA2* (15 vs. 8 % de riesgo acumulado para portadores de *BRCA2* y población general respectivamente)(125,126). También se ha descrito que aquellas mujeres portadoras de mutaciones germinales en *BRCA1/2* tienen el doble de riesgo de desarrollo de cáncer de páncreas respecto a la población general(127). Asimismo, parece existir una posible asociación entre cáncer de páncreas a edades jóvenes y mutaciones en *BRCA2*(128) Otro tumor que parece asociarse con mutaciones en *BRCA2* es el melanoma, en particular el melanoma uveal(129). No se ha demostrado de forma muy consistente el incremento de otros tumores en portadores de *BRCA1*, aunque algunos estudios sugieren que podría incrementar el riesgo de cáncer esófago-gástrico(129).

II. Hipótesis y objetivos

Nuestra hipótesis reside en que la prevalencia de mutaciones patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2* en una cohorte de mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico está directamente condicionada por la estructura familiar y el estatus TN. La combinación de ambas variables podría optimizar la selección de pacientes candidatas a análisis genéticos en este subgrupo de mujeres.

Objetivo primario: Establecer la viabilidad y utilidad de una estructura familiar no informativa y el estatus TN como variables predictivas de la presencia de mutaciones patogénicas en *BRCA1/2* en este subgrupo de pacientes.

Objetivos secundarios:

- Estimar la prevalencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en una cohorte de mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico.
- Estimar la prevalencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en mujeres con tumores TN.
- Analizar si la presencia de antecedentes de otros tumores no mama/ovario en familiares de primer y segundo predicen la presencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en este subgrupo de pacientes.

III. Material y métodos

1. Diseño del estudio y variables clínicas

Nuestro estudio se compone de una serie consecutiva de mujeres con carcinoma de mama esporádico que durante el periodo comprendido entre 1998-2012 fueron remitidas a unidades de consejo genético y seleccionadas para análisis genéticos en base a una edad precoz de diagnóstico de cáncer de mama (≤ 35 años). El estudio incluye datos clínicos y genéticos de 6 centros españoles participantes: Hospital Clínico San Carlos y Hospital de la Paz de Madrid; Instituto Catalán de Oncología-ICO de Barcelona; Hospital Clínico de Valencia; Fundación Pública Gallega de Medicina Xenómica (FPMGX-SERGAS) de Santiago de Compostela; Centro de investigación del cáncer, Universidad de Salamanca. Con la excepción de FPMGX, todos los centros participantes llevan a cabo tanto asesoramiento genético como realización de test genéticos. La FPMGX es un laboratorio centralizado para la realización de análisis genéticos, pero el asesoramiento genético se realiza en distintas unidades de consejo genético de la comunidad gallega (**tabla 7**). Todos los datos clínicos han sido recopilados de manera retrospectiva a través de la revisión de los genogramas e historias clínicas de cada una de las pacientes. Los datos representados corresponden al momento en el que se llevo a cabo el análisis genético para *BRCA1* y *BRCA2* en cada una de las pacientes.

1.1. Definición de cáncer de mama esporádico

Para los objetivos de este trabajo, se definieron como esporádicos y por tanto fueron incluidos en el estudio aquellos casos de cáncer de mama en mujeres sin antecedentes de CMO en familiares de primer y/o segundo grado, independientemente de su estructura familiar u otras variables.

1.2. Recogida de los genogramas y clasificación de las familias

Todos los genogramas de las familias incluidas fueron solicitados a los respectivos centros participantes para su revisión centralizada (Hospital Clínico San Carlos) (**Tabla 7**). Se utilizó el criterio propuesto por Weitzel et al. para definir la estructura familiar(107), y las familias fueron clasificadas en 3 subgrupos diferentes en función de la información obtenida a través de los pedigrees (algunos ejemplos pueden ser consultados en el **apéndice 2**):

a. Familias informativas: Familias con al menos 2 mujeres familiares de primer y segundo grado del caso índice ≥ 45 años de edad en línea materna y paterna.

b. Familias no informativas: Familias con < 2 mujeres familiares de primer y segundo grado del caso índice ≥ 45 años bien en la rama paterna y/o materna. Tal y como fue propuesto por Weitzel et al., aquellas mujeres cuya información genealógica en la rama materna y/o paterna no era conocida por cualquiera que fuera el motivo (incluyendo mujeres adoptadas) fueron clasificadas dentro de este subgrupo.

c. Familias no clasificables: Se trata de aquellas familias cuyos genogramas o bien no pudieron ser recopilados para su revisión centralizada o no aportaban la información suficiente para poder ser clasificadas en informativas/no informativas (debido por ejemplo a la falta de recogida de la edades de los familiares del caso índice).

1.3. Clasificación inmunofenotípica de los tumores

Se recopilaron datos morfológicos e inmunofenotípicos de los tumores de todas las pacientes incluidas. Para los objetivos de este trabajo, las pacientes fueron clasificadas en 3 grupos diferentes en base al estatus de los RE, RP y HER2 (TN, no-TN y no clasificable). Aquellas pacientes cuyos tumores carecían de la expresión de los 3 marcadores fueron clasificados como TN. Aquellos con un resultado positivo para al menos uno de los 3 marcadores fueron clasificados como no-TN. Por último, aquellos tumores con resultado desconocido para los 3 marcadores o con resultado negativo para alguno de los 3 pero desconocido para el resto se consideraron no clasificables. Los tumores bilaterales (n = 3 pacientes; 6 tumores) fueron clasificados como eventos únicos en las pacientes de la siguientes manera: los 2 tumores de la primera paciente eran no clasificables y por tanto se contabilizaron como un único caso no clasificable; la segunda paciente presentaba 2 tumores no-TN y también se contabilizaron como un único tumor; la tercera paciente presentaba un tumor no-TN y el otro no clasificable y fue contabilizada como no-TN. No se llevó a cabo una revisión patológica centralizada, por lo que dicha información fue obtenida a través de la revisión de las historias clínicas y/o informes patológicos en los respectivos centros (**Tabla 7**).

2. Mutaciones germinales en *BRCA1/2*

El estudio mutacional incluyó todas las secuencias codificantes así como las secuencias frontera intron/exón de ambos genes. Dependiendo de los centros participantes y en función del año en el que se realizó la determinación, el análisis genético se llevó a cabo mediante secuenciación directa (método sanger), dHPLC (del inglés *denaturing High Pressure Liquid Chromatography*), DGGE (del inglés *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) o HRMA (del inglés *High Resolution Melting Analysis*). Todos estos protocolos están estandarizados y su metodología ha sido previamente descrita (**Tabla 7**). El estudio mutacional de *BRCA1* se llevó a cabo en el total de las 341 pacientes incluidas, mientras que el análisis de *BRCA2* se llevó a cabo en 332 mujeres (*BRCA2* no fue analizado en un total de 9 pacientes, 5 de las cuales eran portadoras de mutación en *BRCA1*).

Las mutaciones en *BRCA1/2* fueron consideradas patogénicas si daban lugar a codones de parada prematuros y/o eran consideradas patogénicas en la base de datos BIC.

3. Análisis estadístico

Para todos los análisis estadísticos, los casos de cáncer de mama bilateral fueron considerados como un único tumor tal y como se ha descrito previamente. La asociación entre variables cualitativas fue analizada mediante el test de Fisher en el software JavaStat (www.statpages.org). Se realizó un análisis de regresión logística bivalente mediante la versión 13.0 de SPSS para Windows. Se utilizó el método “enter” para calcular la probabilidad de ser portadora de mutación en *BRCA1*, *BRCA2* o ambas ajustando por las variables estatus TN y estructura familiar mediante una función lineal. Se aceptó un nivel de significación estadística del 5 % para todos los análisis.

Tabla 7. Prevalencia de mutaciones y variables predictivas de mutación para cada uno de los centros participantes

Centros participantes			Estudio mutacional		Estructura familiar		Fenotipo TN	
ID ¹	Periodo reclutamiento	N	Métodos ²	Mut (%) ³	Clasificable (%) ⁴	NI (%) ⁵	Clasificable (%) ⁶	TN (%) ⁷
HCSC	1998-2012	79	DGGE, HRM, MLPA	10	76	37	78	26
ICO	1999-2011	100	Sec, MLPA	7	88	41	82	13
HPaz	2006-2011	38	Sec, MLPA	10	97	22	97	32
HClin	2006-2011	34	Sec, MLPA	3	73	48	97	15
FPGMX	2005-2011	50	Sec, MLPA	4	46	39	46	13
CIC	2006-2011	40	fCSGE, MLPA	5	80	37	83	30

¹HCSC (Hospital Clínico San Carlos, Madrid), Hpaz (Hospital de la Paz, Madrid), ICO (Instituto Catalán de Oncología, Barcelona), HClin (Hospital Clínico de Valencia), FPGMX (Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Santiago de Compostela), CIC (Centro de Investigación del Cáncer, Universidad de Salamanca, Salamanca)
²DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, desde 1998 a 2006). HRM (High Resolution Melting, desde 2007-2013). MLPA (Multiplex Ligation Probe Amplification). Sec (Secuenciación directa). fCSGE (fluorescent Conformation Sensitive Gen Electrophoresis). ³ Prevalencia mutacional BRCA. ⁴ Número de familias clasificables como informativas/no informativas (ver material y métodos). ⁵ Prevalencia de familias con estructura familia no informativa entre las familias clasificables. ⁶ Casos de cáncer de mama clasificables como TN/no-TN (ver material y métodos). ⁷ Prevalencia de mujeres con tumores TN entre los casos clasificables. NI: no informativa

IV. Resultados

1. Características demográficas de nuestra población

Un total de 341 familias fueron incluidas en nuestro estudio, cuyas características demográficas están representadas en la **tabla 8**. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las variables incluidas entre los diferentes centros participantes. La mediana de edad fue de 32 años, con un total de 107 mujeres (31 %) < 30 años. La mayoría de nuestras familias fueron informativas (48.6 %, n = 166), frente a un total de 99 familias con estructura familiar no informativa (29 %). Los 76 casos restantes (22.3 %) corresponden a familias que no pudieron ser clasificadas (incluyendo 22 genogramas que no pudieron ser recopilados para su revisión centralizada). Nuestra cohorte incluyó 57 mujeres con tumores TN (16.7 %), 213 no-TN (62.5 %) y 71 casos no clasificables (20.8 %). Un total de 216 casos (63.3 %) disponían de la información suficiente para ambas variables predictivas (estructura familiar y estatus TN). Tres pacientes de nuestra cohorte presentaban tumores de mama bilaterales sincrónicos en el momento de realización del test genético. La mayoría de nuestras pacientes presentaban antecedentes familiares de otros tumores no mama/ovario en familiares de primer y segundo grado (64 %), siendo los más frecuentes el carcinoma colorrectal y el carcinoma de próstata. Asimismo, el 12 % de las mujeres incluidas en nuestro estudio tenían antecedentes familiares de carcinoma de mama/ovario en familiares lejanos, con un total de 22 mujeres con antecedentes en familiares de tercer grado.

Tabla 8. Características demográficas de nuestra cohorte

Característica	N (%)
Edad	
<30	107 (31)
30-35	234 (69)
Estructura familiar	
Informativa	166 (49)
No informativa	99 (29)
No clasificable	76 (22)
Cáncer de mama bilateral (sincrónico)	
Si	3 (0.01)
No	338 (99.99)
Historia familiar de otros tumores no mama/ovario	
Cáncer colorrectal	61 (27.60)
Cáncer de próstata	55 (24.88)
Cáncer gástrico	39 (17.64)
Cáncer de próstata	17 (7.69)
Melanoma	12 (5.42)
Fenotipo tumoral	
RE	
Negativo	116 (34)
Positivo	172 (50)
Desconocido	53 (16)
RP	
Negativo	137 (40)
Positivo	150 (44)
Desconocido	54 (16)
HER2	
Negativo	163 (48)
Positivo	77 (22)
Desconocido	101 (30)
TN	
Si	57 (17)
No	213 (62)
No clasificable	71 (21)

RE: Receptor de estrógenos; RP: Receptor de progesterona; TN: Triple-negativo

2. Prevalencia de mutaciones germinales en BRCA1/2

2.1. Prevalencia global

Veinticuatro pacientes (7.12 %) de nuestra cohorte eran portadoras de mutaciones germinales patogénicas, 14 en *BRCA1* (4.10 %) y 10 en *BRCA2* (3.01 %). Ninguna de las 3 mujeres con carcinoma de mama bilateral sincrónico fueron portadoras de

mutación. La siguiente tabla muestra la secuencia genética de las mutaciones deletéreas encontradas en nuestras pacientes.

Tabla 9. Mutaciones patogénicas de nuestra población de pacientes

Gen	Descripción de las mutaciones		N
	Nivel de nucleótido*	Nivel proteico**	
BRCA1			
	c.68_69delAG	p.Glu23ValfsX16	1
	c.211A>G	p.Arg71Gly	3
	c.815_824dup10	p.Thr276AlafsX25	1
	c.1806C>T	p.Gln563Ter	1
	c.3008_3009delTT	p.Phe1003Terfs	1
	c.4165_4166dupAG	p.Ser1389fs	1
	c.5123C>A	p.Ala1708Glu	2
	c.5153-1G>A	-	1
	5236 G>A	p.Gly1706Glu	1
	c.5333-198_5387del	-	1
	c.5441_5444delCTTA	p.Thr1738IlefsX2	1
BRCA2			
	c.67+1G/T	-	1
	c.345_346delAA	p.Leu117SerfsX5	1
	c.2701delC	p.Ala902LeufsX1	2
	c.3264dupT	p.Gln1089SerfsX9	2
	c.4889C>G	p.Ser1630Ter	1
	c.6444_6447delTTATT	p.Ile2194LysfsX17	1
	c.9018C>A	p.Tyr3006Ter	1
	c.9182T>G	p.Leu3060Ter	1

* De acuerdo a las secuencias de referencia de Ensembl ENST00000357654 para *BRCA1* y ENST00000380152 para *BRCA2*

** De acuerdo a la secuencia de referencia ENST00000357654 para *BRCA1* y ENST00000380152 para *BRCA2*

2.2. Prevalencia en función de estructura familiar

El 13.1 % de las pacientes con estructura familiar no informativa eran portadoras de mutaciones patogénicas en *BRCA1/2*. La prevalencia mutacional descendía al 4.8 % y 4 % para los casos con estructura familiar informativa y familias no clasificables respectivamente. Comparativamente, el exceso de mutaciones observadas en el subgrupo de mujeres con familias no informativas alcanzó la significación estadística (OR 3.17, IC 95 % 1.29-7.94, p = 0.006). Se encontraron resultados similares restringiendo el análisis tan solo a aquellas familias clasificables (n = 265: OR 2.99, IC 95 % 1.10-8.24, p = 0.016). Tanto *BRCA1* como *BRCA2* contribuyeron a estos resultados con una magnitud del efecto similar. Las diferencias en el análisis separado no alcanzaron la significación estadística probablemente por el bajo número de pacientes en los subgrupos (**Tabla 10**).

Tabla 10. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 en función de la estructura familiar

		Estructura familiar			NI vs. I			NI vs. global#		
		NI N (%)	I N (%)	No clasificable N (%)	OR	IC 95 %	p	OR	IC 95 %	p
BRCA	Portadoras	13 (13.1)	8 (4.8)	3 (4)	2.99	1.10-8.24	0.016	3.17	1.29-7.94	0.006
	No portadoras	86 (86.9)	158 (95.2)	73 (96)						
BRCA1	Portadoras	7 (7.1)	4 (2.4)	3 (3.9)	3.08	0.78-12.91	ns	2.55	0.78-8.37	ns
	No portadoras	92 (92.9)	162 (97.6)	73 (96.1)						
BRCA2*	Portadoras	6 (6.3)	4 (2.4)	0 (0)	2.65	0.64-11.52	ns	3.87	0.94-16.75	0.028
	No portadoras	90 (93.7)	159 (97.6)	73 (100)						

NI: No informativa; I: informativa; IC: intervalo de confianza; ns: no significativo

Adecuadas + no clasificables. * 9 pacientes no fueron testadas para mutaciones en BRCA2 (5 de ellas portadoras de mutación en BRCA1).

2.3. Prevalencia en función del estatus TN

Se encontró una fuerte asociación entre la presencia de mutación en *BRCA1* y el estatus TN (OR 5.82, IC 95 % 1.57-22.33, $p = 0.004$), con una prevalencia de mutación en *BRCA1* en mujeres con tumores TN del 12.3 % frente a un 2.3 % en aquellas con tumores no-TN. No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el fenotipo tumoral y la presencia de mutaciones en *BRCA2*. Los datos correspondientes a la asociación entre la presencia de mutaciones patogénicas y el estatus de RE son superponibles y de una similar magnitud a los del estatus TN (**Tabla 11**).

2.4. Prevalencia en función de los antecedentes familiares de otros tumores

Se encontró un exceso de antecedentes familiares de primer y segundo grado con tumores colorrectales, próstata, gástricos y melanomas en pacientes portadoras de mutación en *BRCA1/2* comparado con las pacientes no portadoras. Sin embargo, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa a excepción de una diferencia marginal para el caso de melanoma y mutaciones en *BRCA2* (OR 7.80, IC 95 % 0.99-48.07, $p = 0.046$). Entre otros tumores analizados, las pacientes con antecedentes familiares de carcinoma de páncreas mostraron la mayor prevalencia de mutaciones (17.6 %, 3/17), fundamentalmente a expensas de *BRCA1*. La prevalencia de mutaciones en *BRCA2* para las mujeres con historia familiar de melanoma fue del 16.6 %, sin ninguna portadora de mutación en *BRCA1* en estas familias. (**tabla 12**).

Tabla 11. Prevalencia de mutaciones patogénicas en BRCA1/2 en función del fenotipo tumoral

		RE					RP				
		Positivo N (%)	Negativo N (%)	OR	IC 95 %	p	Positivo N (%)	Negativo N (%)	OR	IC 95 %	p
BRCA1	Portadoras	2(1.16)	10(8.62)	8.02	1.61-54.1	0.002	4 (2.56)	8 (5.83)	2.26	0.6-9.17	ns
	No portadoras	170(98.84)	106(91.38)				143(97.33)	129 (94.16)			
BRCA2	Portadoras	7(4.11)	1(0.88)	0.21	0.01-1.71	ns	7 (4.43)	1 (0.75)	0.15	0.01-1.25	ns
	No portadoras	163 (95.88)	112(99.12)				141(95.27)	133 (99.25)			
		HER2					TN				
		Positivo N (%)	Negativo N (%)	OR	IC 95 %	p	Si N (%)	No N (%)	OR	IC 95 %	p
BRCA1	Portadoras	1(1.3)	11(6.75)	5.5	0.71-116	ns	7(12.28)	5(2.35)	5.82	1.57-22.33	0.004
	No portadoras	76(98.7)	152(93.25)				50(97.72)	208(97.65)			
BRCA2	Portadoras	0(0)	8(5.03)	Undefined		0.025	1(1.82)	7(3.40)	0.52	0.02-4.41	ns
	No portadoras	100(100)	151(94.97)				54(98.18)	199(96.60)			

RE: Receptor de estrógeno; RP: receptor de progesterona; IC: intervalo de confianza; TN: triple negativo

Tabla 12. Prevalencia de mutaciones patogénicas en BRCA1/2 en función de historia familiar de otros tumores no mama/ovario

		Colon				Próstata				Gástrico			
		N (%)	OR	IC 95 %	p	N (%)	OR	IC 95 %	p	N (%)	OR	IC 95 %	p
BRCA1	Portadoras	2(3.28)	0.76	0.11-3.71	ns	4(7.27)	2.51	0.61-9.66	ns	3(7.7)	2.21	0.46-9.11	ns
	No portadoras	59(96.72)				51(92.73)				36(92.3)			
BRCA2	Portadoras	3(4.92)	1.95	0.39-8.71	ns	3(5.66)	2.39	0.48-9.54	ns	1 (2.56)	1.19	0.05-10.60	ns
	No portadoras	58(95.08)				49(94.34)				38 (97.44)			
BRCA	Portadoras	5(8.2)	1.22	0.38-3.68	ns	7(12.73)	2.53	0.87-7.15	ns	4(10.26)	1.61	0.44-5.39	ns
	No portadoras	56(91.8)				48(87.27)				35 (89.74)			
		Páncreas				Melanoma							
		N (%)	OR	IC 95 %	p	N (%)	OR	IC 95 %	p				
BRCA1	Portadoras	2(11.76)	3.47	0.49-18.79	ns	0(0)	0.00	0.00-10.80	ns				
	No portadoras	15(88.24)				12(100)							
BRCA2	Portadoras	1(6.25)	1.99	0.09-17.23	ns	2(16.67)	7.80	0.99-48.07	0.046				
	No portadoras	15(93.75)				10(83.33)							
BRCA	Portadoras	3(17.65)	3.09	0.65-12.85	ns	2(16.67)	2.79	0.39-14.94	ns				
	No portadoras	14(82.35)				10(83.33)							

IC: Intervalo de confianza; ns: no significativo

3. Modelo predictivo de la presencia de mutaciones en *BRCA1/2* combinando la estructura familiar no informativa y el estatus TN

En nuestro modelo de regresión logística se evidenció que tanto la estructura familiar no informativa como el estatus TN eran factores predictivos independientes de la presencia de mutaciones en *BRCA1/2*. Cabe destacar que la estructura familiar fue una variable predictiva de mutaciones tanto en *BRCA1* (OR 3.66, IC 95 % 0.94-14.21) como en *BRCA2* (OR 4.58, IC 95 % 1.07-19.72), mientras que el estatus TN parecía predecir únicamente mutaciones en *BRCA1* (OR 9.48, IC 95 % 1.80-19.83). En el caso de *BRCA1*, la magnitud del efecto en cuanto a capacidad predictiva de mutaciones fue mayor para estatus TN en comparación con la estructura familiar no informativa (**Tabla 13**).

Una vez establecida la capacidad predictiva de ambas variables de forma independiente analizamos las 216 familias que fueron evaluables tanto para la estructura familiar como el estatus TN de forma conjunta. Aproximadamente la mitad de ellos (n = 111) presentan al menos una o ambas características. La prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* en este subgrupo de pacientes fue del 13.5 %, comparado con un 2.8 % en aquellas mujeres con tumores no-TN y estructura familiar informativa (n = 105). Esta diferencia alcanzó la significación estadística (OR 5.31, IC 95 % 1.38-23.89, p = 0.006). El subgrupo con una mayor prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* fue el compuesto por mujeres con tumores TN y estructura familiar no informativa (25 %, n = 16). La prevalencia de mutaciones patogénicas fue del 4.8 % en el subgrupo de mujeres no clasificables para la estructura familiar, estatus TN o ambos (n = 125) (**tabla 14**).

Tabla 13. Modelo de regresión logística predictivo de mutaciones en BRCA1/2

	N	Covariable	Exp(B)	IC 95 %	p
BRCA	216	TN	3.14	1.14-8.70	0.027
		NI	3.61	1.31-9.95	0.013
BRCA1	216	TN	9.48	1.80-19.83	0.002
		NI	3.66	0.94-14.21	0.061
BRCA2	213	TN	0.52	0.06-4.36	ns
		NI	4.58	1.07-19.72	0.041

TN: Triple negativo; NI: No informativa

Tabla 14. Prevalencia de mutaciones en BRCA1/2 estratificada por estructura familiar y estatus TN

		N	Mut	%	N	Mut	%	N	Mut	%
Estructura familiar	No informativa	16	4B1	25	59	2B1+5B2	12	24	1B1+1B2	8
	Informativa	36	3B1+1B2	11	105	1B1+2B2	3	25	1B1	4
	No clasificable	5	-	0	49	2B1	4	22	1B2	4
		TN			No TN			No clasificable		
		Estatus TN								

Mut: Mutación; B1: BRCA1; B2: BRCA2; TN: triple negativo

V. Discusión

La edad precoz de presentación es una de las manifestaciones clínicas distintivas de los síndromes hereditarios de cáncer. La presencia de cáncer de mama a edades jóvenes es por tanto criterio de selección para estudio mutacional de *BRCA1/2* en la mayoría de guías clínicas, independientemente de la historia familiar. Desafortunadamente, no existe un consenso establecido para definir cual es el corte de edad para definir un cáncer de mama como precoz y tampoco un criterio homogéneo para guiar los test genéticos en base exclusivamente a la edad, con rangos variables entre los 30-50 años dependiendo de los autores y las guías clínicas(8,29,34,120,121). Nuestra cohorte de pacientes se compone de mujeres con cáncer de mama esporádico que fueron remitidas a sus respectivas unidades de consejo genético para estudio mutacional de *BRCA1/2* en base a que desarrollaron la enfermedad a una edad muy joven (≤ 35 años). A excepción de las guías de la SEOM publicadas en 2011 (≤ 30 años)(34), este punto de corte está universalmente aceptado como indicación de realización de test genético por todas las guías clínicas más empleadas en nuestro medio, independientemente de otros factores como la presencia de antecedentes familiares de CMO o el subtipo de cáncer de mama(8,120,121). Esto está refrendado por numerosas series independientes que han establecido una prevalencia de mutaciones patogénicas en mujeres con cáncer de mama joven (independientemente de otros factores) lo suficientemente alta como para justificar la realización de estudios genéticos (**tabla 3**, introducción). Si nos centramos tan solo en aquellos que han seleccionado pacientes jóvenes con tumores esporádicos (**tabla 5**, introducción), nuestra prevalencia global de mutaciones patogénicas en *BRCA1/2* (7.12 %) es comparable a lo observado en estos estudios. No objetivamos diferencias en cuanto a prevalencia global en el subgrupo de mujeres comprendidas entre los 30-35 años (7.4 %, n = 234) con respecto a aquellas < 30 años (6.5 %, n = 107), lo cual no sustentaría restringir el estudio a aquellas < 30 años tal y como se recoge en las guías de la SEOM. En cualquier caso, el objetivo de nuestro estudio no era determinar una edad de corte para la realización de test genéticos en casos de cáncer de mama esporádico, si no más bien demostrar que existen otras variables que directamente condicionarían la prevalencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en cohortes de mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico, a pesar de que todas ellas, solo por la edad, cumplan criterios para realización de estudio

genético. El objetivo era por tanto establecer un modelo predictivo de la presencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en una cohorte de mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico que incluyera 2 variables en principio accesibles y disponibles en el momento de realizar la valoración inicial del riesgo y que potencialmente pudieran ayudar a optimizar la realización de análisis genéticos en estas pacientes: la estructura familiar no informativa y el fenotipo tumoral TN.

En el año 2007, Weitzel et al. publicaron un estudio de gran relevancia que demostraba como la presencia de una estructura familiar no informativa predecía de forma significativa la presencia de mutaciones germinales en *BRCA1/2* en una cohorte de mujeres jóvenes (< 50 años) con cáncer de mama esporádico. Además de ello, advertía como la estructura familiar afectaba directamente a la capacidad predictiva de la presencia de mutaciones en base a modelos probabilísticos frecuentemente empleados en algunos contextos de asesoramiento genético (Couch, Myriad, BRCAPRO). Todo ello enfatizaba la importancia de la estructura familiar como variable crítica a la hora de establecer la probabilidad o prevalencia de mutaciones patogénicas en *BRCA1/2* en este subgrupo de mujeres. La cohorte de pacientes del estudio (n = 306) fue extraída de un registro de mujeres remitidas a una unidad de cáncer hereditario y a las que se les había realizado estudio genético de *BRCA1/2* entre los años 1997-2007 (n = 1543). La mayor parte de las mujeres estudiadas eran caucásicas, incluyendo un 24 % de mujeres hispanas y un 20 % de mujeres con descendencia judía Ashkenazi. Un total de 185 mujeres (60 %) eran < 40 años de edad. Definieron como cáncer de mama esporádico a la ausencia de antecedentes familiares de CMO en familiares de primer y segundo grado. En cuanto a la estructura familiar, establecieron la presencia de 2 o más familiares de primer y segundo grado \geq 45 años en ambas ramas (paterna y materna) como requisito para definir una familia como informativa. En su ausencia, la estructura familiar fue considerada como no informativa. Aplicando estos criterios el 50 % de sus familias (n = 153) fueron clasificadas como informativas y el 50 % restante en no informativas. Aquellas mujeres de las cuales no se disponía de información relativa a su historia familiar (por ejemplo las pacientes adoptadas) fueron clasificadas como familias no informativas. Se observó un exceso de mutaciones en familias no informativas en comparación con

las familias informativas que alcanzó la significación estadística (OR 2.88, IC 95 % 1.2-6.7; $p = 0.02$), siendo la prevalencia mutacional del 13.7 % frente al 5.2 % para las familias no informativas e informativas respectivamente. Esta magnitud del efecto fue similar para el subgrupo de mujeres < 40 años (15.4 % versus 6.4 % respectivamente), si bien no alcanzó la significación estadística posiblemente debido al pequeño tamaño muestral (OR 2.67, IC 95 % 0.9-8.23; $p = 0.08$)(107). Pese a su indudable interés clínico, resulta ciertamente sorprendente el escaso registro disponible en la literatura científica de intentos de validar estos hallazgos. En nuestro trabajo hemos replicado por primera vez estos resultados en una cohorte independiente de mujeres muy jóvenes con cáncer de mama esporádico (≤ 35 años, $n = 341$). La magnitud del efecto de una estructura no informativa como variable predictiva de mutaciones patogénicas en *BRCA1/2* es muy similar entre los 2 estudios, con una OR de 2.99 (IC 95 % 1.10-8.24) en nuestro estudio frente a una OR de 2.88 en el estudio de Weitzel et al. Sin embargo, nuestro trabajo presenta diferencias destacables comparado con el estudio de Weitzel et al. En primer lugar, Weitzel et al. no tienen familias cuya estructura familiar es no clasificable (aparentemente todos los genogramas de su estudio disponen de la información suficiente para clasificar a las familias en informativas o no informativas), mientras que hasta un 22 % de nuestras familias eran no clasificables. Ciertamente este dato es representativo de lo que sucede en la mayoría de unidades de consejo genético e indirectamente deja a relucir cierta inexactitud a la hora de recoger los datos para realizar un genograma completo en un contexto de práctica clínica rutinaria. El hecho previamente referido de que una edad $\leq 35-40$ años está universalmente aceptada como criterio de selección para la realización de estudio de *BRCA1/2* independientemente de los antecedentes familiares en estas mujeres podría ser una de las razones que explique estos hallazgos. En cualquier caso, la presencia de familias no clasificables no afectó negativamente en la asociación de estructura familiar no informativa y presencia de mutaciones en *BRCA1/2*. De hecho, comparando la prevalencia mutacional en familias no informativas frente a todas las demás (informativas y no clasificables) observamos una OR de 3.17 (IC 95 % 1.29-7.94, $p = 0.006$). En segundo lugar, el número de familias no informativas en nuestro estudio es menor (29 % frente a un 50 % en Weitzel et al.). No encontramos una explicación obvia para este hallazgo,

pero ciertamente refleja la práctica rutinaria de unidades de consejo genético representativas en España. Y en tercer lugar, describimos que la estructura familiar no informativa predice con una magnitud similar la presencia de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*. Un estudio reciente no pudo replicar esta asociación entre estructura familiar no informativa y el estatus genético en una cohorte amplia de mujeres Koreanas con cáncer de mama ≤ 40 años ($n = 625$). Considerando tan solo a aquellas familias clasificables (76 %, $n = 474$), el estudio no mostro diferencias significativas en la prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* entre familias no informativas (6.9 %, $n = 292$) e informativas (5.5 %, $n = 182$) ($p = 0.56$)(110). Es posible que la definición de estructura familiar no informativa propuesta por Weitzel et al. no sea directamente aplicable a otras poblaciones. Como los propios autores indican, el cáncer de mama en mujeres Koreanas tiende a desarrollarse en edades más jóvenes y este hecho, junto con otras variables epidemiológicas y ambientales, puede haber subestimado la capacidad predictiva de la estructura familiar en el estatus mutacional de *BRCA1/2*. Nuestra serie de pacientes es ciertamente más comparable a la cohorte de Weitzel et al., donde la mayoría de pacientes analizadas eran mujeres caucásicas y un 24 % eran mujeres latinas. A pesar de la importancia y potencial utilidad clínica de la estructura familiar como variable predictiva de mutaciones en *BRCA1/2*, la ausencia de una validación en cohortes y/o poblaciones independientes podría haber limitado su uso en el contexto de la práctica clínica diaria. De hecho, entre las guías clínicas más empleadas en nuestro medio, tan solo las guías de la NCCN la incluyen como criterio de selección independiente para estudio mutacional en mujeres ≤ 50 años(8). A la vista de nuestros resultados, probablemente la estructura familiar debería emplearse como herramienta adicional en el asesoramiento genético rutinario de mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico, a pesar de que no este formalmente incorporado en las guías actuales de la ESMO (del inglés, *European Society of Medical Oncology*) (121) y SEOM como criterio de selección de estudio genético (34).

Varios trabajos han demostrado la capacidad predictiva de la negatividad de RE y el fenotipo TN para predecir mutaciones germinales en *BRCA1*, con OR que oscilan entre 8-13 para RE negativo y OR de 3 para el subtipo TN (frente a RE positivo y

fenotipo no-TN respectivamente)(65,68,71,130,131). Como se ha comentado previamente, ningún parámetro anatómo-patológico ha demostrado capacidad de predecir mutaciones en *BRCA2*. Esta fuerte asociación entre el fenotipo TN y las mutaciones en *BRCA1* ha motivado la publicación de numerosas series estimando la prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* en cohortes de mujeres con tumores TN (**Tabla 6**, introducción). Si bien el diseño de todos ellos es similar difieren fundamentalmente en las características de la población incluida (edad e historia familiar), y también son algo heterogéneos en cuanto al criterio empleado para definir negatividad de receptores hormonales y/o HER2. El rango de variabilidad respecto a la expresión de RE/RP oscila entre criterios muy estrictos (< 1 %) empleados en algunos estudios(70,116,117) a criterios más laxos (5-10 %)(112,113) o rutinariamente empleados en la práctica clínica (no especificado)(111,114,115,118,119). Hay 3 conclusiones fundamentales derivadas de los resultados de estas series. En primer lugar, la prevalencia de mutaciones patogénicas en *BRCA* en mujeres con tumores TN es mayor que la esperada para una cohorte de mujeres de similares características pero no seleccionadas por criterios anatómo-patológicos. Hartman et al., tomando como referencia las tablas de prevalencia de Myriad, determinaron que la prevalencia observada en la mayoría de subgrupos de su cohorte de mujeres con tumores TN era entre 2-3 veces superior a la esperada para la población general. Esta diferencia alcanzó la significación estadística en un modelo de regresión lineal ($p = 0.0005$). El único subgrupo del estudio donde la prevalencia observada fue similar a la esperada fue en mujeres > 50 años sin historia familiar (2.2 % vs. 2.3 %)(116). En este sentido se ha demostrado que el estudio genético de *BRCA1/2* en mujeres ≤ 50 años con tumores TN es una estrategia coste efectiva(132). Esto ha motivado que muchas de las guías clínicas internacionales y nacionales incluyan el estatus TN como criterio de selección para estudio genético en mujeres jóvenes ($\leq 35-60$ años dependiendo de las guías clínicas) aún en ausencia de antecedentes familiares(8,34,120). En segundo lugar, la prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* en mujeres con tumores TN sigue siendo muy dependiente de la edad y la historia familiar de las pacientes. Así por ejemplo, la prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* puede alcanzar el 40 % en mujeres < 40 años no seleccionadas por historia familiar, pero en general no superan el 15 % en mujeres jóvenes sin antecedentes familiares de CMO (**tabla 6**).

Y por último, como cabía esperar, la capacidad predictiva del fenotipo TN en cuanto a la presencia de mutaciones en *BRCA* parece ligada exclusivamente a las mutaciones en *BRCA1*. No obstante, un estudio reciente que ha analizado las características anatómo-patológicas de los tumores de una cohorte de pacientes portadoras de mutaciones germinales en *BRCA1/2* ha descrito que la proporción de tumores TN decrece con la edad en el caso de *BRCA1* pero puede alcanzar el 30 % en > 50 años para el caso de *BRCA2*(66).

En nuestro trabajo, acorde con lo previamente publicado, tanto la negatividad para RE (OR 8.02, $p = 0.002$) como el estatus TN (OR 5.82, $p = 0.004$) fueron fuertemente predictivas de mutaciones en *BRCA1*. No encontramos asociación entre mutaciones en *BRCA2* y fenotipo tumoral. Como también era esperable en una cohorte de mujeres jóvenes, el 90 % de las mutaciones en *BRCA* entre las mujeres con tumores TN eran mutaciones en *BRCA1* (7/8). En nuestra serie la proporción de tumores TN fue del 16.7 %. El porcentaje de tumores no clasificables de nuestro trabajo obliga a interpretar este resultado con cautela, pero es similar a lo publicado por Collins et al. en una cohorte de mujeres con cáncer de mama ≤ 40 años (21 %)(31). Nuestro estudio no fue diseñado para establecer la prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* en mujeres con cáncer de mama TN, pero los resultados obtenidos en cuanto a prevalencia son comparables a las series y/o subgrupos con nuestros mismos criterios de selección (≤ 35 años y ausencia de historia familiar). Así, un 14 % de prevalencia de mutaciones en *BRCA1/2* de nuestro estudio es comparable con el 12.7 % en el estudio de Evans et al. (restringido solo a *BRCA1*)(114) y 10 % en la serie de Young et al.(111). Datos extrapolados de la serie no seleccionada publicada por Hartman et al. estiman una prevalencia del 9 % en mujeres ≤ 50 años sin antecedentes familiares. Unos criterios más restrictivos en cuanto a la negatividad de receptores hormonales (< 1 %) y el rango de edad podrían explicar las pequeñas diferencias encontradas respecto a nuestro trabajo. El hecho de no disponer de una revisión anatómo-patológica centralizada y el número de casos no clasificables o desconocidos obliga a interpretar nuestros resultados con cautela.

Como hemos visto, todas las mujeres de nuestro estudio cumplían criterios para realización de análisis genéticos pero algunas tenían mucho más riesgo de ser

portadoras en base a tener una estructura familiar no informativa y/o a la presencia de tumores TN. Esto también implica que para poder comparar las estimaciones de prevalencia entre las numerosas series publicadas de mujeres con cáncer de mama precóz (**tablas 3, 4 y 5**, introducción), es indispensable conocer la información acerca de estos aspectos. Con el objetivo de establecer si estas 2 variables podrían predecir de forma inter-independiente la presencia de mutaciones en *BRCA1/2* realizamos un modelo de regresión logística bivalente. Pudimos observar como efectivamente la estructura familiar no informativa y el fenotipo TN son variables que predicen de forma independiente y con una magnitud del efecto similar (OR 3.14 y OR 3.61 respectivamente) la presencia de mutaciones en *BRCA1/2*. En el caso de *BRCA1*, la capacidad predictiva del estatus TN (OR 9.48, IC 95 % 1.80-19.83) era mayor que la estructura familiar (OR 3.66, IC 95 % 0.94-14.21). Si bien no se alcanza la significación estadística en el caso de estructura familiar no informativa y mutaciones en *BRCA1*, esto probablemente se debe al escaso número de mutaciones patogénicas en nuestra cohorte, como es claramente apreciable en la magnitud de la OR y la amplitud del IC. Lo que si parecía evidente es que el fenotipo TN no predecía la presencia de mutaciones en *BRCA2* (OR 0.52). Por el contrario, la estructura familiar era predictiva tanto de mutaciones en *BRCA1* como en *BRCA2* (OR 4.58, IC 95 % 1.07-19.72). Existen algunas limitaciones a este modelo predictivo propias del diseño retrospectivo de nuestro estudio. En primer lugar, el número de mujeres clasificables tanto para estructura familiar como para el estatus TN fue 216, lo cual podría no ser representativo del global de pacientes de nuestra cohorte. No obstante, el hecho de no haber encontrado diferencias respecto al número de mujeres y familias clasificables entre los respectivos centros hacen pensar que probablemente no existan sesgos mayores al respecto, y por tanto estos resultados serían representativos del global de la población analizada. En segundo lugar, no llevamos a cabo una revisión anatómo-patológica centralizada de los tumores. Esto implica por un lado una menor objetividad a la hora de establecer el diagnóstico y por otro la ausencia de un criterio homogéneo para definir positividad/negatividad en la expresión de receptores hormonales y HER2. Realmente esto se alejaba de nuestros objetivos, ya que pretendíamos establecer un modelo predictivo con la información que habitualmente se dispone en un

contexto clínico. Por un lado, el diagnóstico anatómo-patológico en la práctica clínica raramente se establece por 2 patólogos independientes y por tanto siempre esta sujeto a cierta subjetividad. En segundo lugar, si bien la ausencia de criterios inmunohistoquímicos homogéneos podrían ser fuente de heterogeneidad en nuestro estudio, creemos que por otro lado otorgan a nuestros resultados más reproducibilidad a la hora de trasladarlos a un contexto asistencial. En definitiva, a pesar de las limitaciones inherentes a las condiciones de práctica clínica rutinaria, hemos sido capaces de establecer un modelo predictivo de mutaciones germinales en *BRCA1/2* con las variables estructura familiar y estatus TN.

Una vez establecido el papel predictivo independiente de ambas variables, calculamos la prevalencia de mutaciones patogénicas entre aquellas mujeres con al menos uno de estos factores de riesgo (n = 111) frente a aquellas sin ninguno de estos factores (n = 105). La prevalencia para el primer subgrupo fue del 13.5 %, mientras que descendía al 2.8 % en mujeres con tumores no-TN y estructura familiar informativa (OR 5.31, p = 0.006). Estos datos reflejan un hecho interesante. Probablemente, y de un modo general, una probabilidad a priori del 2-3 % en mujeres jóvenes con tumores no-TN y estructura familiar informativa no justifique la realización de estudios genéticos en la mayoría de unidades de asesoramiento genético, a pesar de que cumplan criterios para análisis genéticos basados exclusivamente en la edad (≤ 35 años). Posiblemente orientar el estudio tan solo a aquellas mujeres cuya estructura familiar sea no informativa y/o tengan tumores TN sea más eficiente para la práctica clínica. Es de destacar que hasta 1/3 de las mujeres de nuestra cohorte, en principio representativa de mujeres jóvenes remitidas a unidades de alto riesgo españolas, tienen tumores no-TN y una estructura familiar informativa. Aplicando nuestro criterio, corresponde a un porcentaje sustancial de casos de la población general en los que razonablemente, y desde un punto de vista general, podríamos obviar el estudio genético. Obviamente esto no implica que todas ellas deban quedar excluidas de realizar análisis genéticos. Esta decisión deberá ser individualizada y balanceada teniendo en consideración las características y necesidades particulares de estas mujeres/familias junto con su bajo riesgo de ser portadoras.

El exceso de carcinomas de origen pancreático, prostático y melanoma en portadoras de mutación en *BRCA1/2* con respecto a las no portadoras en nuestra cohorte es compatible con lo publicado en la literatura, y merece ser evaluado en otros estudios específicamente diseñados para demostrar esto. El escaso tamaño de la muestra de nuestra cohorte y la ausencia de una confirmación patológica de estos tumores hacen que nuestros resultados sean puramente descriptivos pero no concluyentes.

VI. Conclusiones

1) La prevalencia de mutaciones germinales en los genes *BRCA1/2* en mujeres españolas con cáncer de mama esporádico joven (≤ 35 años) alcanza el 7% (4% para *BRCA1* y 3% para *BRCA2*). Los resultados son comparables a los obtenidos en otras cohortes con criterios de selección similares.

2) Nuestro estudio es el primero en validar la estructura familiar como factor predictivo de mutación germinal en mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico, tal y como propuso originalmente Weitzel et al. A diferencia de Weitzel et al., nuestro estudio permite demostrar que la estructura familiar es factor predictivo tanto para *BRCA1* como para *BRCA2*.

3) Confirmando estudios previos, demostramos que el status TN es factor predictivo de mutación germinal en *BRCA1* (pero no en *BRCA2*) en mujeres jóvenes con cáncer de mama esporádico.

4) Demostramos por primera vez que la estructura familiar y el status TN son factores predictivos de mutación en *BRCA1/2* independientes. Además, concluimos que la información limitada con la que normalmente se cuenta en una consulta de cáncer familiar es suficiente para definir un status TN y una estructura familiar con valor predictivo.

5) Nuestro estudio sugiere que orientar el análisis tan solo a aquellas pacientes que presenten al menos un factor predictivo (estructura familiar no informativa y/o tumor TN) podría ser más eficiente y coste efectivo.

6) Nuestros resultados son potencialmente aplicables con un impacto notable para la práctica clínica. Probablemente son necesarios otros estudios que validen nuestros resultados en cohortes más amplias e independientes para poder trasladar definitivamente estos resultados al asesoramiento genético rutinario.

Bibliografía

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646–74.
2. Foulkes WD. Inherited susceptibility to common cancers. *N Engl J Med*. 2008;359(20):2143–53.
3. Frank SA. Genetic predisposition to cancer - insights from population genetics. *Nat Rev Genet*. 2004;5(10):764–72.
4. Urioste Azcorra M. Detección de síndromes hereditarios: ¿ante que síndrome nos encontramos? En: SEOM, editores. *Cáncer Hereditario*. 2ª ed. Madrid: Instituto Roche; 2010. p. 217–53.
5. Ponder BA. Cancer genetics. *Nature*. 2001;411(6835):336–41.
6. Pharoah PD, Antoniou AC, Easton DF, Ponder BA. Polygenes, risk prediction, and targeted prevention of breast cancer. *N Engl J Med*. 2008;358(26):2796–803.
7. Weitzel JN, Blazer KR, MacDonald DJ, Culver JO, Offit K. Genetics, genomics, and cancer risk assessment: State of the Art and Future Directions in the Era of Personalized Medicine. *CA Cancer J Clin*. 2011;61:327-59.
8. Daly MB, Pilarski R, Axilbund JE, Crawford B, Friedman S, Garber JE et al. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN guidelines®) for Genetic/Familial High-Risk assessment: Breast and Ovarian V.I.2014. Disponible en: <http://www.nccn.org> [último acceso 17 Marzo 2014].
9. Robson ME, Storm CD, Weitzel J, Wollins DS, Offit K, American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol*. 2010;28(5):893-901.

10. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014;64(1):9–29.
11. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin.* 2014;64(1):52–62.
12. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr> [último acceso 17 de marzo 2014].
13. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer.* 2013;49(6):1374–403.
14. Goldgard DE, Easton DF, Cannon-Albright LA, Skolnick MH. Systematic population-based assesment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands. *J Natl Cancer Inst.* 1994;86(21):1600–8.
15. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *The Lancet.* 2001;358(9291):1389–99.
16. Dillon DA, AJ G, Schnitt SJ. Pathology of invasive breast cancer. En: Harris JR, Lippman SM, Morrow M, Kent Osborne C, editores. *Diseases of the breast.* 4ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 374–407.
17. Lockhart DJ, Winzeler EA. Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature.* 2000;405(6788):827–36.

18. Puzstai L, Ayers M, Stec J, Hortobagyi GN. Clinical application of cDNA microarrays in oncology. *The Oncologist*. 2003;8(3):252–8.
19. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747–52.
20. Eroles P, Bosch A, Pérez-Fidalgo JA, Lluch A. Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. *Cancer Treat Rev*. 2012;38(6):698–707.
21. Curtis C, Shah SP, Chin S-F, Turashvili G, Rueda OM, Dunning MJ, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature*. 2012;486(7403):346–52.
22. Boyle P. Triple-negative breast cancer: epidemiological considerations and recommendations. *Ann Oncol*. 2012;23 Suppl 6:vi7–12.
23. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(20):1938–48.
24. Bosch A, Eroles P, Zaragoza R, Viña JR, Lluch A. Triple-negative breast cancer: Molecular features, pathogenesis, treatment and current lines of research. *Cancer Treat Rev*. 2010;36(3):206–15.
25. Penault-Llorca F, Viale G. Pathological and molecular diagnosis of triple-negative breast cancer: a clinical perspective. *Ann Oncol*. 2012;23 Suppl 6:vi19–22.
26. Stevens KN, Vachon CM, Couch FJ. Genetic susceptibility to triple-negative breast cancer. *Cancer Res*. 2013;73(7):2025–30.
27. Badve S, Dabbs DJ, Schnitt SJ, Baehner FL, Decker T, Eusebi V, et al. Basal-like and triple-negative breast cancers: a critical review with an emphasis on the implications for pathologists and oncologists. *Mod Pathol*. 2011;24(2):157–67.

28. Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of “BRCAness” in sporadic cancers. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(10):814–9.
29. Narod SA. Breast cancer in young women. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012;9(8):460–70.
30. Haffty BG, Choi DH, Goyal S, Silber A, Ranieri K, Matloff E, et al. Breast cancer in young women (YBC): prevalence of BRCA1/2 mutations and risk of secondary malignancies across diverse racial groups. *Ann Oncol*. 2009;20(10):1653–9.
31. Collins LC, Marotti JD, Gelber S, Cole K, Ruddy K, Kereakoglow S, et al. Pathologic features and molecular phenotype by patient age in a large cohort of young women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;131(3):1061–6.
32. Anders CK, Fan C, Parker JS, Carey LA, Blackwell KL, Klauber-DeMore N, et al. Breast carcinomas arising at a young age: unique biology or a surrogate for aggressive intrinsic subtypes? *J Clin Oncol*. 2011;29(1):e18–20.
33. Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD, Risch NJ. The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. *Cancer*. 1996;77(11):2318–24.
34. Grana B, Lastra E, Llorca G, Brunet J, Isla D. SEOM clinical guidelines for hereditary cancer. *Clin Transl Oncol*. 2011;13(8):580–6.
35. Ghossein M, Pharoah PDP, Easton DF. Inherited genetic susceptibility to breast cancer: the beginning of the end or the end of the beginning? *Am J Pathol*. 2013;183(4):1038–51.
36. Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science*. 1990;250(4988):1684–9.

37. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*. 1994;266(5182):66–71.
38. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science*. 1994;265(5181):2088–90.
39. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*. 1995;378(6559):789–92.
40. Antoniou AC, Easton DF. Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene*. 2006;25(43):5898–905.
41. Meindl A, Hellebrand H, Wiek C, Erven V, Wappenschmidt B, Niederacher D, et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet*. 2010;42(5):410–4.
42. Loveday C, Turnbull C, Ruark E, Xicola RM, Ramsay E, Hughes D, et al. Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet*. 2012;44(5):475–6.
43. Stratton MR, Rahman N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. *Nat Genet* 2008;40(1):17–22.
44. Shuen AY, Foulkes WD. Inherited mutations in breast cancer genes--risk and response. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2011;16(1):3–15.
45. Ghossaini M, Pharoah PDP. Polygenic susceptibility to breast cancer: current state-of-the-art. *Future Oncol*. 2009;5(5):689–701.
46. Narod SA, Foulkes WD. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(9):665–76.

47. Huen MSY, Sy SMH, Chen J. BRCA1 and its toolbox for the maintenance of genome integrity. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11(2):138–48.
48. Gudmundsdottir K, Ashworth A. The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability. *Oncogene.* 2006;25(43):5864–74.
49. O'Donovan PJ, Livingston DM. BRCA1 and BRCA2: breast/ovarian cancer susceptibility gene products and participants in DNA double-strand break repair. *Carcinogenesis.* 2010;31(6):961–7.
50. Roy R, Chun J, SN P. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection . *Nat Rev Cancer.* 2011;12(1):68–78.
51. Thorslund T, West SC. BRCA2: a universal recombinase regulator. *Oncogene.* 2007;26(56):7720–30.
52. Radice P, De Summa S, Caleca L, Tommasi S. Unclassified variants in BRCA genes: guidelines for interpretation. *Ann Oncol.* 2011;22 Suppl 1:i18–23.
53. Lindor NM, Guidugli L, Wang X, Vallée MP, Monteiro ANA, Tavtigian S, et al. A review of a multifactorial probability-based model for classification of BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance (VUS). *Hum Mutat.* 2012 Jan;33(1):8–21.
54. Easton DF, Ford D, Bishop DT. Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet.* 1995;56(1):265–71.
55. Ford D, Easton DF, Stratton M, Narod S, Goldgar D, Devilee P, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet.* 1998;62(3):676–89.
56. Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1

- or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet.* 2003;72(5):1117-30.
57. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol.* 2007;25(11):1329-33.
58. Milne RL, Osorio A, Cajal TRY, Vega A, Llorc G, la Hoya de M, et al. The average cumulative risks of breast and ovarian cancer for carriers of mutations in BRCA1 and BRCA2 attending genetic counseling units in Spain. *Clin Cancer Res.* 2008;14(9):2861-9.
59. Antoniou AC, Sinilnikova OM, Simard J, Léoné M, Dumont M, Neuhausen SL, et al. RAD51 135G-->C modifies breast cancer risk among BRCA2 mutation carriers: results from a combined analysis of 19 studies. *Am J Hum Genet.* 2007;81(6):1186-200.
60. Milne RL, Antoniou AC. Genetic modifiers of cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Ann Oncol.* 2011;22 Suppl 1:i11-7.
61. De la Hoya M. Herramientas estadísticas en el consejo genético: cáncer de mama y ovario familiar. En: SEOM, editores. *Cáncer Hereditario.* 2ª ed. Madrid: Instituto Roche; 2010. p. 177-97.
62. Da Silva L, Lakhani SR. Pathology of hereditary breast cancer. *Mod Pathol.* 2010;23 Suppl 2:S46-51.
63. Honrado E, Osorio A, Palacios J, Benitez J. Pathology and gene expression of hereditary breast tumors associated with BRCA1, BRCA2 and CHEK2 gene mutations. *Oncogene.* 2006;25(43):5837-45.
64. Lakhani SR. The Pathology of Familial Breast Cancer: Predictive Value of Immunohistochemical Markers Estrogen Receptor, Progesterone Receptor, HER-2, and p53 in Patients With Mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol.* 2002;20(9):2310-8.

65. Atchley DP, Albarracin CT, Lopez A, Valero V, Amos CI, Gonzalez-Angulo AM, et al. Clinical and Pathologic Characteristics of Patients With BRCA-Positive and BRCA-Negative Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(26):4282–8.
66. Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H, et al. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012;21(1):134–47.
67. Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, Bégin LR, Goffin JR, Wong N, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95(19):1482–5.
68. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, Penault-Llorca F, van der Vijver M, Parry S, et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res*. 2005;11(14):5175–80.
69. Farshid G, Balleine RL, Cummings M, Waring P, Kathleen Cuninghame Consortium for Research into Familial Breast Cancer (kConFab). Morphology of breast cancer as a means of triage of patients for BRCA1 genetic testing. *Am J Surg Pathol*. 2006;30(11):1357–66.
70. Collins LC, Martyniak A, Kandel MJ, Stadler ZK, Masciari S, Miron A, et al. Basal cytokeratin and epidermal growth factor receptor expression are not predictive of BRCA1 mutation status in women with triple-negative breast cancers. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(7):1093–7.
71. Mulligan AM, Pinnaduwege D, Bane AL, Bull SB, O'Malley FP, Andrulis IL. CK8/18 expression, the basal phenotype, and family history in identifying BRCA1-associated breast cancer in the Ontario site of the breast cancer family registry. *Cancer*. 2011;117(7):1350–9.

72. Fackenthal JD, Olopade OI. Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(12):937–48.
73. Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, et al. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*. 1997;336(20):1401–8.
74. Johannesdottir G, Gudmundsson J, Bergthorsson JT, Arason A, Agnarsson BA, Eiriksdottir G, et al. High prevalence of the 999del5 mutation in icelandic breast and ovarian cancer patients. *Cancer Res*. 1996;56(16):3663–5.
75. Peto J, Collins N, Barfoot R, Seal S, Warren W, Rahman N, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in patients with early-onset breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91(11):943–9.
76. Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of breast cancer cases. Anglian Breast Cancer Study Group. *Br J Cancer*. 2000;83(10):1301–8.
77. Martin AM, Blackwood MA, Antin-Ozerkis D, Shih HA, Calzone K, Colligon TA, et al. Germline mutations in BRCA1 and BRCA2 in breast-ovarian families from a breast cancer risk evaluation clinic. *J Clin Oncol*. 2001;19(8):2247–53.
78. FitzGerald MG, MacDonald DJ, Krainer M, Hoover I, O'Neil E, Unsal H, et al. Germ-line BRCA1 mutations in Jewish and non-Jewish women with early-onset breast cancer. *N Engl J Med*. 1996;334(3):143–9.
79. Langston AA, Malone KE, Thompson JD, Daling JR, Ostrander EA. BRCA1 mutations in a population-based sample of young women with breast cancer. *N Engl J Med*. 1996;334(3):137–42.

80. Krainer M, Silva-Arrieta S, FitzGerald MG, Shimada A, Ishioka C, Kanamaru R, et al. Differential contributions of BRCA1 and BRCA2 to early-onset breast cancer. *N Engl J Med.* 1997;336(20):1416–21.
81. Hopper JL, Southey MC, Dite GS, Jolley DJ, Giles GG, McCredie MR, et al. Population-based estimate of the average age-specific cumulative risk of breast cancer for a defined set of protein-truncating mutations in BRCA1 and BRCA2. Australian Breast Cancer Family Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999;8(9):741–7.
82. Malone KE, Daling JR, Neal C, Suter NM, O'Brien C, Cushing-Haugen K, et al. Frequency of BRCA1/BRCA2 mutations in a population-based sample of young breast carcinoma cases. *Cancer.* 2000;88(6):1393–402.
83. Gershoni-Baruch R, Dagan E, Fried G, Bruchim Bar-Sade R, Sverdlov-Shiri R, Zelicksson G, et al. Significantly lower rates of BRCA1/BRCA2 founder mutations in Ashkenazi women with sporadic compared with familial early onset breast cancer. *Eur J Cancer.* 2000;36(8):983–6.
84. Plaschke J, Commer T, Jacobi C, Schackert HK, Chang-Claude J. BRCA2 germline mutations among early onset breast cancer patients unselected for family history of the disease. *J Med Genet.* 2000;37(9):E17.
85. Tonin PN, Perret C, Lambert JA, Paradis AJ, Kantemiroff T, Benoît MH, et al. Founder BRCA1 and BRCA2 mutations in early-onset French Canadian breast cancer cases unselected for family history. *Int J Cancer.* 2001;95(3):189–93.
86. Loman N, Johannsson O, Kristoffersson U, Olsson H, Borg A. Family history of breast and ovarian cancers and BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of early-onset breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(16):1215–23.

87. Yassaee VR, Zeinali S, Harirchi I, Jarvandi S, Mohagheghi MA, Hornby DP, et al. Novel mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in Iranian women with early-onset breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2002;4(4):R6.
88. Lalloo F, Varley J, Ellis D, Moran A, O'Dair L, Pharoah P, et al. Prediction of pathogenic mutations in patients with early-onset breast cancer by family history. *The Lancet.* 2003;361(9363):1101-2.
89. Hamann U, Liu X, Bungardt N, Ulmer HU, Bastert G, Sinn H-P. Similar contributions of BRCA1 and BRCA2 germline mutations to early-onset breast cancer in Germany. *Eur J Hum Genet.* 2003;11(6):464-7.
90. de Sanjosé S, Leóné M, Bérez V, Izquierdo A, Font R, Brunet JM, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in young breast cancer patients: a population-based study. *Int J Cancer.* 2003;106(4):588-93.
91. Martínez-Ferrandis JI, Vega A, Chirivella I, Marín-García P, Insa A, Lluch A, et al. Mutational analysis of BRCA1 and BRCA2 in Mediterranean Spanish women with early-onset breast cancer: identification of three novel pathogenic mutations. *Hum Mutat.* 2003;22(5):417-8.
92. Choi DH, Lee MH, Bale AE, Carter D, Haffty BG. Incidence of BRCA1 and BRCA2 mutations in young Korean breast cancer patients. *J Clin Oncol.* 2004;22(9):1638-45.
93. Bonadona V, Sinilnikova OM, Chopin S, Antoniou AC, Mignotte H, Mathevet P, et al. Contribution of BRCA1 and BRCA2 germ-line mutations to the incidence of breast cancer in young women: results from a prospective population-based study in France. *Genes Chromosomes Cancer.* 2005;43(4):404-13.
94. Lubinski J, Gorski B, Huzarski T, Byrski T, Gronwald J, Serrano-Fernández P, et al. BRCA1-positive breast cancers in young women from Poland. *Breast Cancer Res Treat.* 2006;99(1):71-6.

95. Loizidou M, Marcou Y, Anastasiadou V, Newbold R, Hadjisavvas A, Kyriacou K. Contribution of BRCA1 and BRCA2 germline mutations to the incidence of early-onset breast cancer in Cyprus. *Clin Genet.* 2007;71(2):165–70.
96. Musolino A, Bella MA, Bortesi B, Michiara M, Naldi N, Zanelli P, et al. BRCA mutations, molecular markers, and clinical variables in early-onset breast cancer: a population-based study. *Breast.* 2007;16(3):280–92.
97. Ghadirian P, Robidoux A, Zhang P, Royer R, Akbari M, Zhang S, et al. The contribution of founder mutations to early-onset breast cancer in French-Canadian women. *Clin Genet.* 2009;76(5):421–6.
98. Lee DS, Yoon S-Y, Looi LM, Kang P, Kang IN, Sivanandan K, et al. Comparable frequency of BRCA1, BRCA2 and TP53 germline mutations in a multi-ethnic Asian cohort suggests TP53 screening should be offered together with BRCA1/2 screening to early-onset breast cancer patients. *Breast Cancer Res.* 2012;14(2):R66.
99. Carraro DM, Koike Folgueira MAA, Garcia Lisboa BC, Ribeiro Olivieri EH, Vitorino Krepischi AC, de Carvalho AF, et al. Comprehensive analysis of BRCA1, BRCA2 and TP53 germline mutation and tumor characterization: a portrait of early-onset breast cancer in Brazil. *Plos One.* 2013;8(3):e57581.
100. Pal T, Bonner D, Kim J, Monteiro ANA, Kessler L, Royer R, et al. Early onset breast cancer in a registry-based sample of African-american women: BRCA mutation prevalence, and other personal and system-level clinical characteristics. *Breast J.* 2013;19(2):189–92.
101. Garcia-Patiño E, Gomendio B, Provencio M, Silva JM, Garcia JM, España P, et al. Germ-line BRCA1 mutations in women with sporadic breast cancer: clinical correlations. *J Clin Oncol.* 1998;16(1):115–20.

102. de Juan Jiménez I, Esteban-Cardenosa E, Palanca Suela S, Barragán González E, Aznar Carretero I, Munárriz Gandía B, et al. Low prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in the sporadic breast cancer of Spanish population. *Fam Cancer*. 2012;11(1):49–56.
103. Seo JH, Cho D-Y, Ahn S-H, Yoon K-S, Kang C-S, Cho HM, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Korean patients with sporadic breast cancer. *Hum Mutat*. 2004;24(4):350.
104. Han S-H, Lee K-R, Lee D-G, Kim B-Y, Lee K-E, Chung W-S. Mutation analysis of BRCA1 and BRCA2 from 793 Korean patients with sporadic breast cancer. *Clin Genet*. 2006;70(6):496–501.
105. De Leeneer K, Coene I, Crombez B, Simkens J, Van den Broecke R, Bols A, et al. Prevalence of BRCA1/2 mutations in sporadic breast/ovarian cancer patients and identification of a novel de novo BRCA1 mutation in a patient diagnosed with late onset breast and ovarian cancer: implications for genetic testing. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;132(1):87–95.
106. Ellis D, Greenman J, Hodgson S, McCall S, Lalloo F, Cameron J, et al. Low prevalence of germline BRCA1 mutations in early onset breast cancer without a family history. *J Med Genet*. 2000;37(10):792–4.
107. Weitzel JN, Lagos VI, Cullinane CA, Gambol PJ, Culver JO, Blazer KR, et al. Limited family structure and BRCA gene mutation status in single cases of breast cancer. *JAMA*. 2007;297(23):2587–95.
108. Toh GT, Kang P, Lee SSW, Lee DS-C, Lee SY, Selamat S, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Malaysian women with early-onset breast cancer without a family history. *PLoS ONE*. 2008;3(4):e2024.
109. Beristain E, Martínez-Bouzas C, Mallabiabarrena G, Tejada MI. Is early onset breast cancer with no family history a good criterion for testing BRCA1 and BRCA2 genes? A small population-based study. *Clin Genet*. 2009;75(6):576–8.

110. Son BH, Ahn SH, Kim S-W, Kang E, Park SK, Lee MH, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in non-familial breast cancer patients with high risks in Korea: The Korean Hereditary Breast Cancer (KOHBRA) Study. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;134(3):1315-26.
111. Young SR, Pilarski RT, Donenberg T, Shapiro C, Hammond LS, Miller J, et al. The prevalence of BRCA1 mutations among young women with triple-negative breast cancer. *BMC Cancer.* 2009;9:86.
112. Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Potter J, et al. Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2011;17(5):1082-9.
113. Comen E, Davids M, Kirchhoff T, Hudis C, Offit K, Robson M. Relative contributions of BRCA1 and BRCA2 mutations to “triple-negative” breast cancer in Ashkenazi Women. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;129(1):185-90.
114. Evans DG, Howell A, Ward D, Lalloo F, Jones JL, Eccles DM. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in triple negative breast cancer. *J Med Genet.* 2011;48(8):520-2.
115. Robertson L, Hanson H, Seal S, Warren-Perry M, Hughes D, Howell I, et al. BRCA1 testing should be offered to individuals with triple-negative breast cancer diagnosed below 50 years. *Br J Cancer.* 2012;106(6):1234-8.
116. Hartman A-R, Kaldate RR, Sailer LM, Painter L, Grier CE, Endsley RR, et al. Prevalence of BRCA mutations in an unselected population of triple-negative breast cancer. *Cancer.* 2012;118(11):2787-95.
117. Fostira F, Tsitlaidou M, Papadimitriou C, Pertesi M, Timotheadou E, Stavropoulou AV, et al. Prevalence of BRCA1 mutations among 403 women with triple-negative breast cancer: implications for genetic screening selection criteria: a Hellenic Cooperative Oncology Group

- Study. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;134(1):353–62.
118. Greenup R, Buchanan A, Lorizio W, Rhoads K, Chan S, Leedom T, et al. Prevalence of BRCA mutations among women with triple-negative breast cancer (TNBC) in a genetic counseling cohort. *Ann Surg Oncol.* 2013;20(10):3254–8.
119. Andrés R, Pajares I, Balmana J, Llorca G, Ramón y Cajal T, Chirivella I, et al. Association of BRCA1 germline mutations in young onset triple-negative breast cancer (TNBC). *Clin Transl Oncol.* 2014;16(3):280–4.
120. Gadzicki D, Evans DG, Harris H, Julian-Reynier C, Nippert I, Schmidtke J, et al. Genetic testing for familial/hereditary breast cancer-comparison of guidelines and recommendations from the UK, France, the Netherlands and Germany. *J Community Genet.* 2011;2(2):53–69.
121. Balmana J, Diez O, Rubio IT, Cardoso F, ESMO Guidelines Working Group. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol.* 2011. 22 Suppl 6:vi31-4.
122. Schwartz GF, Hughes KS, Lynch HT, Fabian CJ, Fentiman IS, Robson ME, et al. Proceedings of the international consensus conference on breast cancer risk, genetics, & risk management, April, 2007. *Cancer.* 2008; 113(10):2627-37.
123. Marroni F, Aretini P, D'Andrea E, Caligo MA, Cortesi L, Viel A, et al. Evaluation of widely used models for predicting BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Med Genet.* 2004;41(4):278–85.
124. Frank TS, Deffenbaugh AM, Reid JE, Hulick M, Warth A, Lingenfelter B, et al. Clinical characteristics of individuals with germline mutations in BRCA1 and BRCA2: analysis of 10,000 individuals. *J Clin Oncol.* 2002;20(6):1480–90.
125. Kote-Jarai Z, Leongamornlert D, Saunders E, Tymrakiewicz M, Castro E, Mahmud N, et al. BRCA2 is a moderate penetrance gene contributing to

- young-onset prostate cancer: implications for genetic testing in prostate cancer patients. *Br J Cancer*. 2011;105(8):1230–4.
126. Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M, Saunders E, Dadaev T, Castro E, et al. Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk. *Br J Cancer*. 2012;106(10):1697–701.
127. Iqbal J, Ragone A, Lubinski J, Lynch HT, Moller P, Ghadirian P, et al. The incidence of pancreatic cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Br J Cancer*. 2012;107(12):2005–9.
128. Kim DH, Crawford B, Ziegler J, Beattie MS. Prevalence and characteristics of pancreatic cancer in families with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Fam Cancer*. 2009;8(2):153–8.
129. Moran A, O’Hara C, Khan S, Shack L, Woodward E, Maher ER, et al. Risk of cancer other than breast or ovarian in individuals with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Fam Cancer*. 2012;11(2):235–42.
130. Southey MC, Ramus SJ, Dowty JG, Smith LD, Tesoriero AA, Wong EEM, et al. Morphological predictors of BRCA1 germline mutations in young women with breast cancer. *Br J Cancer*. 2011;104(6):903-9.
131. Phuah SY, Looi LM, Hassan N, Rhodes A, Dean S, Taib NA, et al. Triple-negative breast cancer and PTEN (phosphatase and tensin homologue) loss are predictors of BRCA1 germline mutations in women with early-onset and familial breast cancer, but not in women with isolated late-onset breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2012;14(6):R142.
132. Kwon JS, Gutierrez-Barrera AM, Young D, Sun CC, Daniels MS, Lu KH, et al. Expanding the criteria for BRCA mutation testing in breast cancer survivors. *J Clin Oncol*. 2010;28(27):4214–20.

Apéndice 1. Criterios de selección para estudio genético de BRCA1/2

***Solo se incluyen los criterios para realización de análisis genéticos sobre individuos afectados*

a. Guías NCCN

<p>Historia personal de CM junto con uno de los siguientes criterios:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Diagnosticado a una edad ≤ 45 años. - Diagnosticado a una edad ≤ 50 años con uno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> *Historia personal de segundo tumor primario de mama. *≥ 1 familiar de 1er, 2do o 3er grado con historia de CM a cualquier edad. *Estructura familiar no informativa. - CM triple negativo diagnosticado a una edad ≤ 60 años. - Diagnosticado a cualquier edad con uno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> *Un familiar de 1er, 2do o 3er grado con CM ≤ 50 años. *> 2 familiares de 1er, 2do o 3er grado con CM a cualquier edad. *> 1 familiar de 1er, 2do o 3er grado con CO. *> 2 familiares de 1er, 2do o 3er grado con cáncer de páncreas y/o próstata Gleason ≥ 7 a cualquier edad. *Un familiar de 1er, 2do o 3er con CM en el varón. *Etnia judía Askenazhi.
<p>Historia personal de CO a cualquier edad.</p>
<p>Historia personal de CM en el varón.</p>
<p>Historia personal de cáncer de páncreas/próstata (Gleason ≥ 7) a cualquier edad junto con ≥ 2 familiares de 1er, 2do o 3er grado con CM y/u ovario y/o páncreas/próstata (Gleason ≥ 7) a cualquier edad.</p> <p>*En el caso de cáncer de páncreas en judíos Askenazhi solo se requiere 1 familiar afecto con los mismos criterios.</p>
<p>Mutaciones deletéreas previamente identificadas en la familia.</p>

CM: Cáncer de mama; CO: Cáncer de ovario

Apéndice 1 Criterios de selección para estudio genético de BRCA1/2 (cont.)

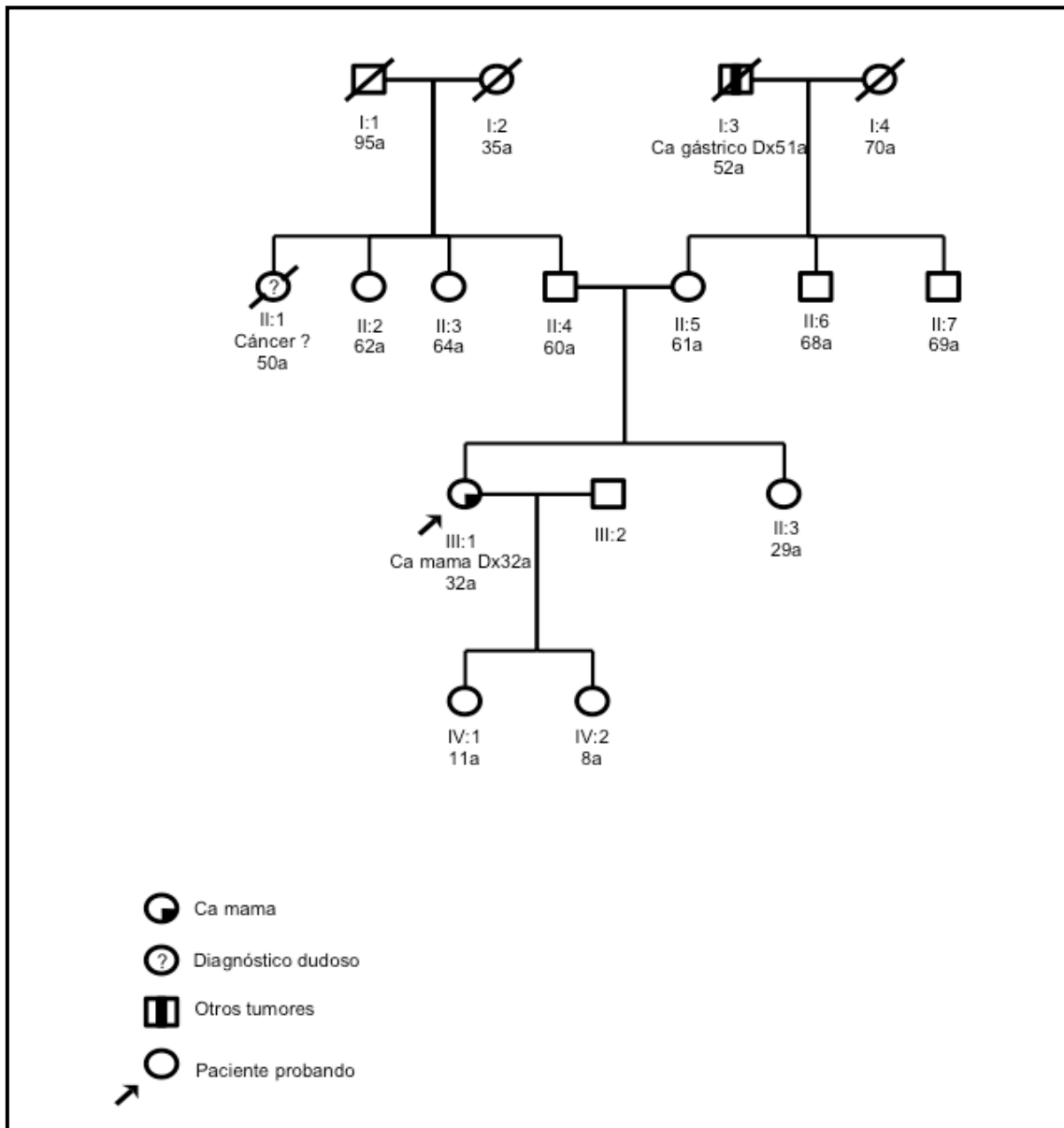
b. Guías SEOM

Familias con ≥ 3 casos de CM y /u O en rama paterna o materna.
Familias con ≥ 2 casos de CM y /u O si se cumple al menos uno de los siguientes criterios: <ul style="list-style-type: none">- Uno caso de CM en varón.- Un caso con CO, trompa de Falopio o peritoneal primario.- Ambos casos CM ≤ 50 años.- Un caso con CM bilateral y el otro ≤ 50 años.
Familias con un solo caso de CM u O si: <ul style="list-style-type: none">- Historia de CM y O en la misma mujer.- CM ≤ 30 años.- CM bilateral ≤ 40 años.
Mutaciones deletéreas previamente identificadas en la familia.

CM: Cáncer de mama; CO: Cáncer de ovario; O: Ovario

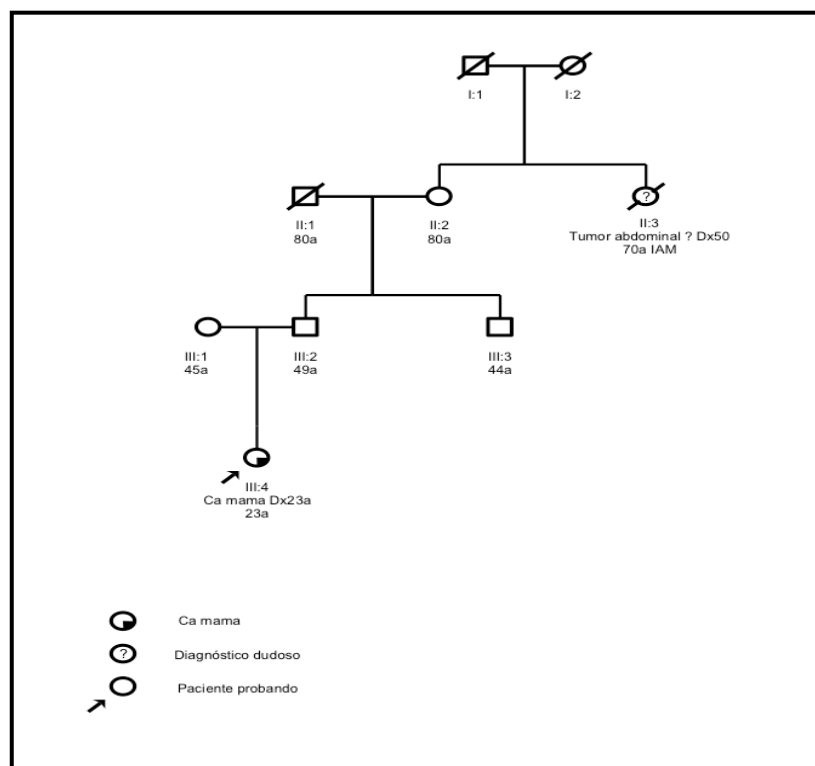
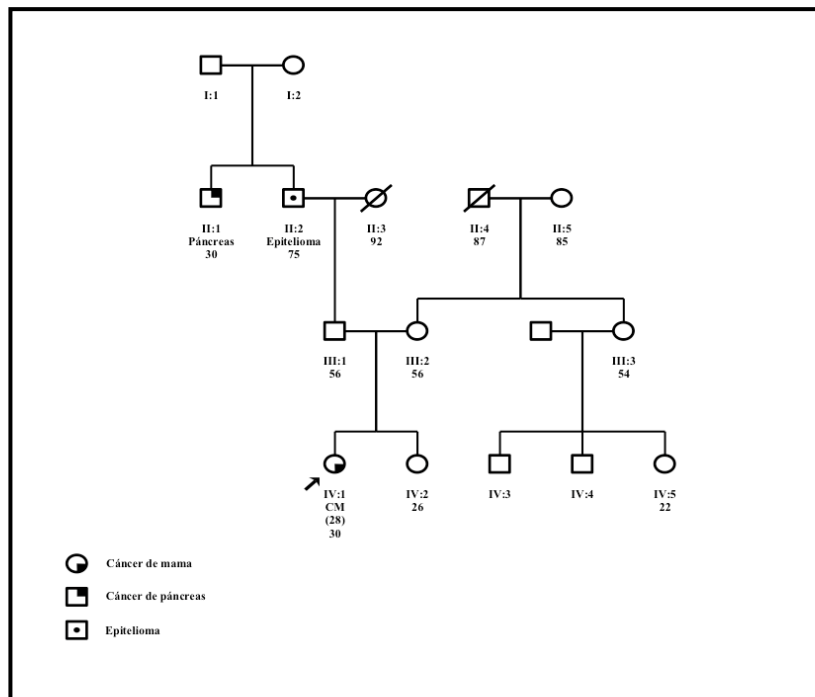
Apéndice 2. Genogramas representativos de la nuestra clasificación de familias

a. Familia informativa



Apéndice 2. Genogramas representativos de la nuestra clasificación de familias (cont)

b. Familias no informativas



Apéndice 2. Genogramas representativos de la nuestra clasificación de familias (cont)

c. Familia no clasificable

