



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Departamento de Genética y Microbiología

Doctorado en Genética

**Aplicación clínica de los paneles de
genes de susceptibilidad al cáncer:
caracterización de variantes en genes
de riesgo e impacto psicológico**

~ Tesis doctoral ~

Autora: Irene Esteban Marcos

Directora: Judith Balmaña

Tutor: Jordi Surrallés

Barcelona, 2019

Agradecimientos

A Judith Balmaña, por haber confiado en mí desde el primer momento; a Jordi Surrallés, por estar siempre disponible; a mis compañeros de la Unidad de Alto Riesgo y Prevención del Cáncer del Hospital Vall d'Hebrón, por enseñarme y hacerme reír tanto; y a mis compañeros del Laboratorio de Oncogenética del VHIO, por dejarme formar parte de este proyecto: a todos, se os echa de menos.

A los otros autores de los artículos por su colaboración, y a los pacientes y familias por su valentía e imprescindible aportación.

Finalmente, a mi familia, por ser un foco de inspiración; a mi marido, por recordarme que la vida no es solo escribir tesis doctorales, y al que está por venir, por este último empujón.

Índice

Índice de tablas	ix
Índice de figuras.....	xi
1. Introducción	1
1.1. Cáncer hereditario	3
1.1.1. Síndromes de cáncer hereditario	3
1.2. Asesoramiento genético	6
1.2.1. Definición y objetivos.....	6
1.2.2. Asesoramiento genético en cáncer	7
1.2.3. Impacto psicológico del asesoramiento genético en cáncer.....	8
1.3. Estudios genéticos en cáncer hereditario	10
1.3.1. Tipos de estudios genéticos.....	11
1.3.2. Posibles resultados de los estudios genéticos.....	12
1.3.3. Tipos de variantes	13
1.3.4. Estudios de secuenciación masiva	15
1.4. Impacto psicológico de los estudios genéticos de un síndrome de cáncer hereditario.....	17
1.4.1. Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario.....	18
1.4.2. Síndrome de Lynch	19
1.4.3. Factores que influyen en el impacto psicológico de los estudios genéticos en cáncer hereditario	20
1.5. Asesoramiento genético en estudios de secuenciación masiva	21
1.5.1. Implicaciones de los estudios de secuenciación masiva en el asesoramiento genético	22
1.5.2. Experiencias iniciales de asesores genéticos que ofrecen estudios de secuenciación masiva	27

1.5.3. Impacto psicológico de los paneles de genes de cáncer hereditario	28
1.6. Presentación de la tesis	30
2. Hipótesis	33
2.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond <i>BRCA1/2</i> in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»	35
2.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain».....	35
3. Objetivos.....	37
3.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond <i>BRCA1/2</i> in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»	39
3.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain».....	39
4. Metodología	41
4.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond <i>BRCA1/2</i> in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»	43
4.1.1. Participantes	43
4.1.2. Panel de genes.....	43
4.1.3. Clasificación de variantes	46
4.1.4. Análisis de accionabilidad clínica.....	47
4.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain».....	48
4.2.1. Diseño de estudio	48
4.2.2. Análisis estadístico.....	49
5. Resumen de los artículos	51

5.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond <i>BRCA1/2</i> in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»	53
5.1.1. Genes asociados a cáncer	56
5.1.2. Genes candidatos.....	61
5.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain».....	63
5.2.1. Impacto psicológico	63
5.2.2. Preferencias de entrega de resultados	68
6. Discusión.....	69
6.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond <i>BRCA1/2</i> in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»	71
6.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain».....	75
7. Conclusiones finales	79
8. Copia de los artículos publicados.....	83
8.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond <i>BRCA1/2</i> in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»	85
8.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain».....	87
9. Comunicaciones en congresos	89
10. Referencias.....	93
11. Documentación complementaria.....	101
Anexo I: «Impacto psicológico del asesoramiento genético en cáncer» (capítulo de la 3ª edición del Libro SEOM de Cáncer Hereditario)	103

Anexo II: «A narrative overview of the patients’ outcomes after multigene cancer panel testing: thorough evaluation of its implications for genetic counselling» 105

Índice de tablas

Tabla 1: Resumen del impacto psicológico del asesoramiento genético en cáncer	10
Tabla 2: Resumen de las implicaciones de la incorporación de los paneles de genes y objetivos del asesoramiento genético.....	27
Tabla 3: Genes incluidos en el panel de genes.....	45
Tabla 4: Resumen de la accionabilidad clínica de pacientes con variantes patogénicas de elevada o moderada penetrancia en genes asociados a riesgo	60

Índice de figuras

Figura 1: Genes de susceptibilidad al cáncer de mama en función de su frecuencia y el riesgo relativo asociado	5
Figura 2: Número de artículos científicos publicados en PubMed que contienen el término <i>Next-Generation Sequencing</i>	16
Figura 3: Factores que se asocian con mayor impacto psicológico de los estudios genéticos	21
Figura 4: Resumen de la metodología del artículo 1.....	46
Figura 5: Resumen de clasificación de variantes identificadas en genes asociados a riesgo y genes candidatos	54
Figura 6: Mapa genético de las variantes deletéreas y potencialmente deletéreas identificadas en genes de riesgo y candidatos.....	55
Figura 7: Variantes patogénicas, VSD priorizadas <i>in silico</i> , y VSD no priorizadas <i>in silico</i> identificadas en genes asociados a riesgo	58
Figura 8: Resultados de la escala de impacto de un evento revisada.....	64
Figura 9: Resultados de las distintas subescalas de la escala MICRA.....	66
Figura 10: Resultados de la pregunta número 13 de la escala MICRA (analizada como ítem independiente)	67

1. Introducción

1.1. Cáncer hereditario

El cáncer es una enfermedad multifactorial que se ve afectada tanto por factores genéticos como ambientales. Aproximadamente el 5% o 10% de los tumores tienen carácter hereditario, es decir, hay un factor genético que incrementa el riesgo de cáncer y que puede ser compartido en la familia. Los cánceres hereditarios son la consecuencia de variantes patogénicas germinales que incrementan la susceptibilidad al cáncer.

1.1.1. Síndromes de cáncer hereditario

Se conocen muchos genes de predisposición al cáncer asociados a distintos tipos de cáncer. Los tipos de cáncer hereditarios más frecuentes son el cáncer de mama y ovario, y el cáncer colorrectal.

1.1.1.1. Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario

Dentro de la predisposición al cáncer de mama y ovario, el principal síndrome es el Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario causado por los genes *BRCA1* y *BRCA2* (*BRCA1/2*) y asociado a un elevado riesgo de cáncer de mama y ovario (Antoniou *et al.*, 2003). Variantes en los genes *TP53*, *PALB2*, *CDHI*, *STK11* o *PTEN* también se asocian a elevado riesgo de cáncer de mama y, en algunos casos, a otros tipos de cáncer (Easton *et al.*, 2015; Tung *et al.*, 2016). De entre ellos, destaca el Síndrome de Li-Fraumeni, causado por mutaciones en el gen *TP53* y asociado a un incremento de riesgo de sarcomas infantiles, tumores cerebrales, carcinomas adrenocorticales y otros tipos de cáncer, además de cáncer de mama a edad joven. *ATM* y

CHEK2 se consideran genes de moderada penetrancia con un riesgo relativo de cáncer que varía entre 2.0 y 4.3 (Easton *et al.*, 2015; Tung *et al.*, 2016).

Por otro lado, variantes patogénicas en los genes del síndrome de Lynch (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*), junto con los genes *RAD51C*, *RAD51D* y *BRIP1*, contribuyen a un riesgo moderado de cáncer de ovario (Song *et al.*, 2015; Nakonechny y Gilks, 2016).

Finalmente, los estudios de asociación del genoma (GWAS del inglés *genome-wide association study*) han aportado evidencias de que más de 300 variantes comunes de baja penetrancia confieren un riesgo de cáncer de mama que no supera 1.5 veces el riesgo de la población general de forma individual, pero de forma combinada pueden incrementar el riesgo de cáncer hasta 3 veces (Fachal y Dunning, 2015; Mavaddat *et al.*, 2019). Los genes de susceptibilidad al cáncer de mama identificados hasta el año 2008 están representados en la figura 1 en función de su frecuencia y del riesgo relativo asociado.

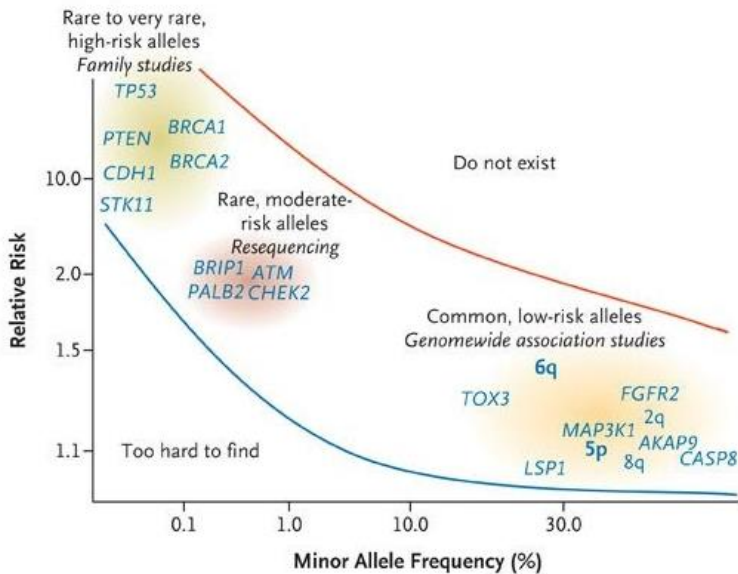


Figura 1: Genes de susceptibilidad al cáncer de mama en función de su frecuencia y el riesgo relativo asociado. Extraída de Foulkes y col. 2008.

Sin embargo, la contribución de las variantes de elevada, moderada y baja penetrancia solamente explican un 40-50% del riesgo relativo familiar (Fachal y Dunning, 2015). Por lo tanto, es muy probable que haya otros genes de susceptibilidad a cáncer de mama y ovario que todavía no se han identificado.

1.1.1.2. Cáncer de colon hereditario

El síndrome de Lynch, o síndrome de cáncer colorrectal no polipósico hereditario, es una condición autosómica dominante asociada a elevado riesgo de cáncer de colon y endometrio y a un riesgo moderado de cáncer de ovario. Los genes causantes son *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* (Lynch y de la Chapelle, 2003) y *EPCAM* (Kempers *et al.*, 2011). La poliposis familiar

puede estar debida a mutaciones en el gen *APC* (con herencia autosómica dominante) o *MUTYH* (con herencia autosómica recesiva) (Valle, 2017). Más recientemente se han identificado otros genes asociados a poliposis como *POLE*, *POLD1* o *NTHL1* (Valle, 2017).

1.2. Asesoramiento genético

1.2.1. Definición y objetivos

El asesoramiento genético es el proceso comunicativo a través del cual un profesional ayuda a los pacientes a adaptarse a las implicaciones médicas, psicológicas y familiares de las contribuciones genéticas a una enfermedad. Según Resta *et al.* (2006), el proceso incluye la interpretación de historia personal y familiar y evaluación de riesgo; el proceso educacional, y la evaluación y apoyo emocional y psicosocial (o *counselling* en inglés, término del que surge el nombre de la profesión: *genetic counselling*, traducido al castellano como asesoramiento genético).

Los principales objetivos del asesoramiento genético son: facilitar la toma de decisiones de acuerdo con los valores y creencias del paciente, reducir el impacto psicológico del resultado de un estudio genético, aumentar la sensación de control personal (*empowerment* en inglés; *empoderamiento* en su traducción aproximada al español) y promover la adaptación al riesgo o enfermedad genéticos.

Los estudios genéticos permiten identificar personas con elevado riesgo de cáncer con el fin de disminuir su riesgo y/o promover un diagnóstico precoz. Sin embargo, conocer esta información puede tener implicaciones psicológicas. Para limitar este impacto y facilitar que los pacientes tomen una

decisión informada, los estudios genéticos deben ir acompañados de asesoramiento genético llevado a cabo por personal debidamente cualificado antes y después del estudio genético, tal y como recoge el artículo 55 de la Ley 14/2007 de investigación biomédica en nuestro país.

1.2.2. Asesoramiento genético en cáncer

El asesoramiento genético en cáncer se centra en aquellos individuos con un riesgo elevado de desarrollar cáncer debido a su historia personal y/o familiar de cáncer, o debido a sus variantes genéticas. Durante el proceso de asesoramiento genético en cáncer se recoge la historia personal y familiar del paciente, se estima el riesgo de recurrencia y ocurrencia de la enfermedad en base a esta historia, se ofrece información sobre los estudios genéticos disponibles, se interpreta el resultado de los estudios, se acuerdan las medidas de seguimiento y detección precoz del cáncer facilitando una toma de decisiones informada, se facilita la adaptación psicosocial al resultado del estudio, se ofrecen estudios predictivos a los familiares no afectados de cáncer a riesgo, se brinda asesoramiento genético reproductivo y, si es posible, se establecen las opciones terapéuticas dirigidas a pacientes con determinadas alteraciones genéticas germinales, como, por ejemplo, inhibidores de la poli (ADP-ribosa) polimerasa (o inhibidores del PARP) en pacientes con diagnóstico de cáncer de mama y una mutación germinal en *BRCA1/2*. Además, de manera paralela a todos estos procesos, el asesor genético aporta apoyo psicosocial continuado al paciente, a la vez que evalúa si este necesita apoyo psicológico especializado (López-Fernández *et al.*, 2019).

1.2.3. Impacto psicológico del asesoramiento genético en cáncer

Habitualmente el impacto psicológico del asesoramiento genético está íntimamente ligado al impacto psicológico de los estudios genéticos y por lo tanto es difícil discernir entre uno y otro. Sin embargo, el diseño experimental de algunos estudios de investigación permite diferenciar el efecto de los dos procesos. Los resultados incluidos en este apartado provienen de estudios en los que el asesoramiento genético fue proporcionado por un asesor genético formado y/o acreditado, y se desconoce si son extrapolables a consultas de asesoramiento genético realizadas por otros profesionales.

1.2.3.1. Conocimiento

Según una revisión reciente, la mayoría de los estudios muestran un aumento en los niveles de conocimiento tras el asesoramiento genético en cáncer hereditario respecto a niveles basales o en comparación con pacientes que no reciben asesoramiento genético. Sin embargo, algunos de estos estudios muestran que el conocimiento también aumenta tras una intervención educativa por un programa de ordenador (Madlensky *et al.*, 2017).

1.2.3.2. Ansiedad, depresión, preocupación por el cáncer y aflicción

En algunos estudios se observa una disminución de ansiedad, depresión, preocupación por el cáncer o *distress* (definido como un sentimiento negativo de preocupación, tristeza o ansiedad y que podría traducirse como *aflicción*) mientras que en otros no se observa cambio en estas variables tras el asesoramiento genético. Un estudio mostró que la ansiedad disminuye tras el asesoramiento genético presencial pero no tras una intervención educativa por un programa de ordenador (Madlensky *et al.*, 2017).

1.2.3.3. Percepción de riesgo

La mayoría de los estudios muestran que la percepción de riesgo disminuye en alguno o varios subgrupos tras el asesoramiento genético, lo cual se interpreta de forma positiva puesto que la mayoría de los participantes sobreestiman su riesgo antes del asesoramiento genético. En algunos estudios la percepción de riesgo es estable (Madlensky *et al.*, 2017).

Un estudio mostró que la disminución en la percepción de riesgo es menor tras una intervención educativa con ordenador que tras asesoramiento genético presencial. En la misma línea, una revisión sistemática concluyó que las intervenciones puramente educativas no son tan efectivas mejorando la percepción de riesgo como las intervenciones que incluyen apoyo psicosocial (Edwards *et al.*, 2008).

1.2.3.4. Empoderamiento

Uno de los principales objetivos del asesoramiento genético es el empoderamiento de los pacientes, definido como «las creencias que hacen que una persona de una familia con una condición genética sienta que tiene control y esperanza frente al futuro». En 2011, McAllister *et al.* publicaron una escala (GCOS-24) para medir el impacto del asesoramiento genético centrado en el empoderamiento de los pacientes (McAllister *et al.*, 2011). La utilización de esta escala ha demostrado que el asesoramiento genético mejora la sensación de poder de los pacientes, aunque no se han publicado resultados de una cohorte formada únicamente por participantes con riesgo de cáncer hereditario. Un mayor empoderamiento implica mayor control sobre la toma de decisiones, mayor regulación emocional y más esperanza frente al futuro.

Conocimiento	Los niveles de conocimiento aumentan tras el asesoramiento genético.
Ansiedad, depresión, preocupación por el cáncer y aflicción	La ansiedad, depresión, preocupación por el cáncer y aflicción disminuyen o se mantienen constantes tras el asesoramiento genético.
Percepción de riesgo	La mayoría de los estudios muestra una disminución en la percepción de riesgo tras el asesoramiento genético. Las intervenciones con apoyo psicosocial son más efectivas que las educacionales.
Empoderamiento	El asesoramiento genético mejora la sensación de poder, que se traduce en mayor control sobre la toma de decisiones, regulación emocional y esperanza frente al futuro.

Tabla 1: Resumen del impacto psicológico del asesoramiento genético en cáncer.

1.3. Estudios genéticos en cáncer hereditario

Un estudio genético consiste en el análisis del ADN (ácido desoxirribonucleico) de las células, normalmente extraídas de una muestra de sangre, aunque puede hacerse a partir de una muestra de saliva, piel o muestra de tumor. Durante el estudio genético se analizan determinados genes para intentar identificar la causa del incremento de riesgo de cáncer de la familia.

Los estudios genéticos de susceptibilidad al cáncer se ofrecen a aquellos individuos con una sospecha clínica basada en la historia personal o familiar de cáncer. Las guías y consorcios establecen los criterios de estudio a partir de los cuales la probabilidad de identificar una alteración genética sobrepasa el umbral establecido en cada caso. De forma general, los criterios clínicos se basan en la edad al diagnóstico, historia familiar y tipos específicos de cáncer.

Siempre se intenta iniciar el estudio genético en la persona de la familia con más posibilidades de ser portador de una mutación, que suele ser un familiar que haya tenido cáncer. La identificación de una variante patogénica germinal en uno de los genes estudiados permite estimar el riesgo relativo a lo largo de la vida de desarrollar ciertos tipos de cáncer, personalizar las estrategias terapéuticas, de prevención y diagnóstico precoz e identificar familiares sanos a riesgo (López-Fernández *et al.*, 2019).

1.3.1. Tipos de estudios genéticos

1.3.1.1. En función del sujeto

- *Estudio genético diagnóstico*: se realiza para identificar (o descartar) si en la familia existe un determinado síndrome de cáncer hereditario. Es el primer estudio que se realiza en la familia y la persona en la que se realiza se denomina *probando*. En este caso se analizan uno o varios genes por completo.
- *Estudio genético predictivo o presintomático*: una vez que se ha identificado una variante patogénica en el probando se puede ofrecer este tipo de estudio genético a los familiares sanos para saber si también tienen la variante patogénica y el riesgo de cáncer asociado. En este caso se analiza solo la variante patogénica previamente identificada.

1.3.1.2. En función de los genes analizados

- *Estudio de un solo gen/síndrome*: El estudio de un solo gen o síndrome que se selecciona en función de la historia personal o familiar tras un diagnóstico diferencial.

- *Estudio de un panel de genes*: Análisis de varios genes asociados al mismo tipo de cáncer hereditario o a distintos tipos. Puede incluir desde unos pocos genes asociados a un tipo concreto de cáncer a cientos de genes asociados con cualquier predisposición al cáncer.

1.3.2. Posibles resultados de los estudios genéticos

1.3.2.1. Si el estudio genético es diagnóstico

- *Informativos o positivos*: cuando se identifica una variante patogénica responsable de la susceptibilidad al cáncer en el probando. Este resultado permite estudiar a otros miembros de la familia para conocer su estatus genético y adaptar su manejo médico en función de los resultados.
- *Indeterminados o no informativos*: cuando no se detecta una variante patogénica en el probando. Se denominan frecuentemente resultados negativos, aunque esta terminología puede confundir, ya que este resultado no confirma ni descarta la predisposición hereditaria al cáncer en la familia y el manejo médico dependerá de la historia familiar.
- *De significado incierto*: cuando se detecta una alteración en el gen/genes analizados en el probando sobre la que actualmente no se dispone de información suficiente para clasificarla como patogénica o benigna. En este caso se denomina variante de significado desconocido (VSD). Este resultado tampoco confirma ni descarta la predisposición hereditaria al cáncer en la familia y el manejo médico también depende de la historia familiar.

1.3.1.2. Si el estudio genético es predictivo o presintomático

- *Positivos*: La persona ha heredado la variante patogénica previamente identificada en la familia.
- *Negativos* (también llamado *verdadero negativo*): La persona no ha heredado la variante patogénica previamente identificada en la familia.

1.3.3. Tipos de variantes

1.3.3.1. En función de su patogenicidad

- *Variante patogénica*: variante de pérdida de función que se asocia a riesgo de cáncer.
- *Variante probablemente patogénica*: variante que presenta una probabilidad de más del 95% de ser patogénica.
- *Variante de significado desconocido*: variante de significado incierto sobre la que no hay suficiente información para definir si es patogénica o no.
- *Variante probablemente no patogénica*: variante que presenta una probabilidad menos del 5% de ser patogénica.
- *Variante no patogénica o benigna*: aquella variante sin efecto funcional.

1.3.3.2. En función de su penetrancia

- *Variantes de elevada penetrancia*: Variantes que confieren elevado riesgo de un determinado fenotipo. En cáncer de mama se considera una variante de elevada penetrancia si el riesgo es al menos 4 veces mayor que el de la población general.

- *Variantes de moderada penetrancia*: Variantes que confieren moderado riesgo de un determinado fenotipo. En cáncer de mama se considera una variante de moderada penetrancia si el riesgo es entre 2 y 4 veces mayor que el de la población general.
- *Variantes de baja penetrancia*: Variantes que confieren bajo riesgo de un determinado fenotipo. En cáncer de mama se considera una variante de baja penetrancia si el riesgo es menos de 2 veces mayor que el de la población general.

1.3.3.3. En función de su efecto en la proteína

- *Substitución*:
 - *Sinónima*: Cambio de nucleótido que no implica un cambio de aminoácido en la proteína.
 - *De cambio de sentido o missense*: Cambio de nucleótido que implica un cambio de aminoácido en la proteína.
 - *Sin sentido*: Cambio de nucleótido que implica un codón de parada (o codón de *stop*) en la proteína.
 - *De splicing*: Cambio de nucleótido que altera el proceso de *splicing*.
- *Pequeñas inserciones o deleciones*: Delección o inserción de un número variable de nucleótidos. Si es múltiple de 3, conllevará la inserción o delección de un número variable de aminoácidos. Si no es múltiplo de 3, alterará el patrón de lectura implicando un cambio importante en la estructura de la proteína.
- *Variantes estructurales*: deleciones, duplicaciones, inserciones o traslocaciones que afectan a más de 50 nucleótidos.

1.3.4. Estudios de secuenciación masiva

Los avances tecnológicos de los últimos años y la identificación de nuevos genes asociados a enfermedades han conducido al desarrollo de la secuenciación de nueva generación (*next-generation sequencing* [NGS]), también conocida como secuenciación masiva paralela, del inglés *massive parallel sequencing* (MPS). Este desarrollo ha acelerado la implementación de los paneles de genes, exomas y genomas en la práctica clínica, globalmente denominados estudios de secuenciación masiva.

Los estudios de secuenciación masiva tienen la capacidad de analizar muchos más nucleótidos de forma paralela (en un único proceso) permitiendo la secuenciación de grandes segmentos del ADN en poco tiempo, en comparación con la secuenciación Sanger, que se emplea para el análisis de secciones cortas de ADN. Además, los estudios de secuenciación masiva tienen el potencial de detectar muchos tipos de variación genómica en un único experimento, incluyendo variantes de nucleótido único o mutaciones puntuales, pequeñas inserciones y deleciones, y variantes estructurales (como deleciones o duplicaciones).

El empleo de los estudios de secuenciación masiva ha aumentado de forma exponencial en los últimos años, primero a nivel de investigación, y más recientemente con su incorporación a la práctica clínica. En la figura 2 se puede observar el número de artículos científicos publicados sobre secuenciación masiva, que han pasado de ser menos de 50 en 2006 hasta más de 7500 en 2018 (SEAGen, 2019).

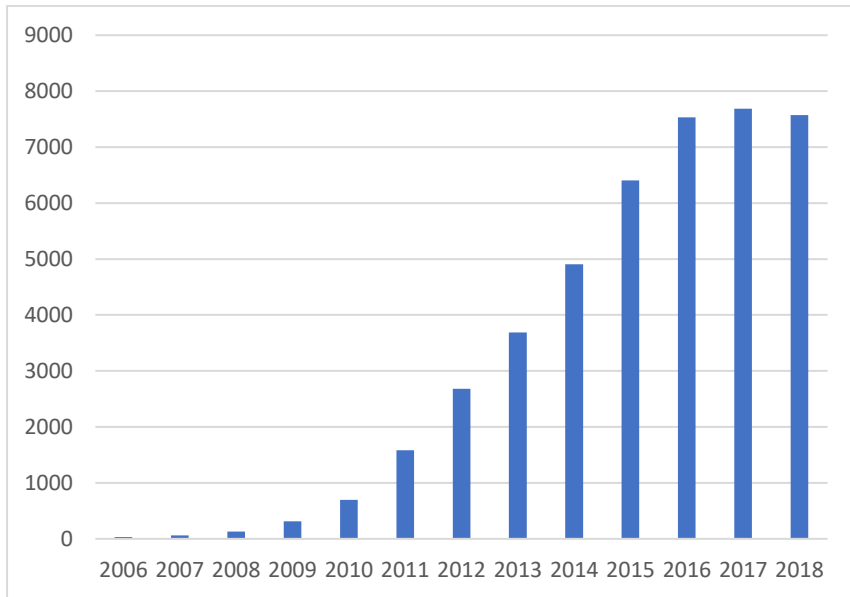


Figura 2: Número de artículos científicos publicados en PubMed que contienen el término *Next-Generation Sequencing* (el término más empleado en inglés para referirse a la secuenciación masiva).

1.3.4.1. Paneles de genes

Los paneles de genes incluyen un número variable de genes que se asocian al mismo fenotipo (por ejemplo, un panel de genes asociados a cáncer de mama hereditario, a retinosis pigmentaria o a microcefalia). Este tipo de análisis resulta muy útil en enfermedades genéticamente heterogéneas, es decir, enfermedades para las que distintos genes explican un mismo fenotipo o que presentan solapamiento entre fenotipos muy parecidos.

Los paneles son muy útiles en cáncer hereditario debido a la complejidad de la estructura genética de la susceptibilidad al cáncer y el creciente número de genes identificados que se asocian a un incremento de riesgo de cáncer (SEAGen, 2019).

1.3.4.2. Exomas

Los exomas analizan los exones de todos los genes del genoma, es decir, los fragmentos de ADN que se transcriben para dar lugar a proteínas. Por esta razón, los exomas son útiles cuando no hay sospecha de qué gen o genes pueden causar un fenotipo. Sin embargo, es importante tener información sobre la presentación clínica del individuo y la historia familiar, ya que esta será muy útil a la hora de analizar los resultados del exoma y filtrar el elevado número de variantes que se identifican al realizar este tipo de estudio genético. Otra ventaja de los exomas es que permiten identificar genes no descritos previamente, pero que por su función o por otras características se sospecha que es el causante del fenotipo (SEAGen, 2019).

1.3.4.3. Genomas

Por último, los genomas analizan la totalidad del ADN (tanto regiones codificantes como regiones no codificantes) y por esta razón identifican todas las variantes identificadas en los exomas además de variantes en intrones o en regiones intergénicas (SEAGen, 2019).

1.4. Impacto psicológico de los estudios genéticos de un síndrome de cáncer hereditario

Los estudios genéticos de susceptibilidad al cáncer pueden tener muchas implicaciones para los pacientes. Por esta razón, es importante que estos reciban un asesoramiento genético adecuado. Durante este proceso, los pacientes reciben información sobre su riesgo de cáncer en el futuro, el riesgo de cáncer de sus hijos y otros familiares, la posibilidad de seguimiento y/o medidas de prevención, sus opciones reproductivas y la responsabilidad de

tener que compartir los resultados con sus familiares. Algunos pacientes expresan tristeza, ira, ansiedad, culpabilidad (por la posibilidad de transmitir la mutación a su descendencia) y preocupación por su riesgo de cáncer. Es importante entender el impacto psicológico de los estudios genéticos puesto que este influye en la toma de decisiones sobre el seguimiento y las medidas de prevención y en la comunicación familiar (Esteban, López-Fernández y Balmaña, 2018).

1.4.1. Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario

Se han realizado numerosos estudios con la finalidad de evaluar el impacto psicológico de los estudios genéticos en los genes *BRCA1/2*. Algunos estudios muestran un incremento en la ansiedad a corto plazo en portadores de mutación que vuelve a niveles basales tras un año, mientras que otros estudios no muestran un cambio en el estado psicológico tras recibir resultados positivos (Hirschberg, Chan-Smutko y Pirl, 2015). En población española, un estudio multicéntrico mostró que los niveles de ansiedad y depresión no aumentaban tras el estudio genético independientemente del resultado (Bosch *et al.*, 2012).

En un metaanálisis publicado en 2009 se observó que, tras recibir un resultado predictivo positivo, los niveles de ansiedad y de aflicción por el cáncer aumentan, aunque vuelven a niveles basales a los 6 meses. Entre los no portadores (verdaderos negativos) los niveles de ansiedad y de aflicción por el cáncer disminuyen a corto plazo. Pasados 6 meses, los niveles de ansiedad vuelven a niveles basales mientras que los de aflicción por el cáncer continúan siendo más bajos que inicialmente (Hamilton, Lobel y Moyer, 2009).

Es importante destacar que un resultado negativo no implica automáticamente la ausencia de aflicción. Los pacientes con un resultado predictivo negativo pueden experimentar emociones contradictorias como alivio, felicidad, culpabilidad, miedo y enfado e incluso pueden seguir preocupados por su riesgo de cáncer.

En cuanto a los pacientes que reciben como resultado una variante de significado desconocido, los estudios indican que tienen menos probabilidades de recordar las implicaciones clínicas de su resultado, y un 30% interpretan dichos resultados como un mayor riesgo de cáncer (Hirschberg, Chan-Smutko y Pirl, 2015).

Los primeros estudios a largo plazo no encontraron diferencias entre portadores y no portadores de *BRCA1/2* o entre aflicción basal y a largo plazo. Sin embargo, algunos estudios posteriores han demostrado una mayor aflicción 5 años después del estudio genético en portadoras medido con escalas más específicas como la escala MICRA (*Multidimensional Impact of Cancer Risk Assessment*) (Hirschberg, Chan-Smutko y Pirl, 2015).

1.4.2. Síndrome de Lynch

Los resultados de estudios que analizan el impacto psicológico de un estudio genético de síndrome de Lynch son variados, aunque la mayoría muestran una disminución en la ansiedad y depresión global tras el asesoramiento genético. Algunos estudios muestran que los participantes que reciben un resultado positivo experimentan un incremento temporal en la ansiedad independientemente de su historia personal de cáncer, pero estos valores se

normalizan tras 6 o 12 meses (Galiatsatos *et al.*, 2015; Hirschberg, Chan-Smutko y Pirl, 2015).

Hay pocos estudios que analicen el impacto psicológico de síndrome de Lynch a largo plazo. Uno de ellos no encontró diferencias en los niveles de ansiedad en comparación con los niveles previos al estudio genético, mientras que otro estudio concluyó que un 6% de los participantes todavía tenía niveles significativos de aflicción asociada a cáncer 4 años después de recibir los resultados (Hirschberg, Chan-Smutko y Pirl, 2015).

1.4.3. Factores que influyen en el impacto psicológico de los estudios genéticos en cáncer hereditario

Además del resultado del estudio genético y de los genes analizados, hay otros factores que pueden influir en el impacto psicológico de un estudio genético. Tener antecedentes de ansiedad o de medicación psicofarmacológica y sobreestimar el riesgo de cáncer se asocian con mayor impacto psicológico tras recibir los resultados. Sin embargo, el mejor predictor de aflicción tras los resultados es mayor ansiedad o aflicción basal (Hirschberg, Chan-Smutko y Pirl, 2015).

Tener hijos y ser la primera persona de la familia en realizar el estudio genético también influye en el impacto psicológico. Otro factor predictor para pacientes con sospecha de cáncer de mama y ovario hereditario o de Síndrome de Lynch es la muerte reciente de un familiar debido a cáncer, especialmente si es la del padre o madre (Hirschberg, Chan-Smutko y Pirl, 2015).

La personalidad también puede ayudar a predecir el impacto psicológico de los estudios genéticos. Por ejemplo, los estilos de afrontamiento pasivos o de evitación se han asociado con más aflicción.

Factores psicológicos	Factores familiares	Personalidad
<ul style="list-style-type: none"> • Antecedentes de ansiedad • Elevada ansiedad o aflicción antes del estudio • Elevada percepción de riesgo 	<ul style="list-style-type: none"> • Tener hijos • Ser el probando • Muerte reciente de un familiar debido a cáncer hereditario 	<ul style="list-style-type: none"> • Estilo de afrontamiento pasivo o evitativo

Figura 3: Factores que se asocian con mayor impacto psicológico de los estudios genéticos.

1.5. Asesoramiento genético en estudios de secuenciación masiva

Al igual que ocurrió cuando se ofrecieron por primera vez los estudios genéticos o cuando los arrays CGH (array de hibridación genómica comparada, del inglés *comparative genomic hybridization*) fueron incorporados de forma rutinaria, las nuevas técnicas de secuenciación pueden resultar en una nueva generación de familias para la que no hay suficiente información para interpretar sus resultados (Fanos, 2012). Algo similar ocurrió cuando el estudio genético de *BRCA1/2* fue incorporado en la práctica clínica. Algunos profesionales mostraron preocupación por la falta de información en relación al riesgo asociado a mutaciones en estos genes, las opciones de seguimiento o la utilidad clínica (Hall y Olopade, 2006). A

medida que el número de pacientes fue aumentando, mejoró el conocimiento y se crearon guías de manejo clínico (Fecteau *et al.*, 2014). Finalmente, los estudios de investigación probaron que la preocupación inicial por la ansiedad y el impacto psicológico que el estudio genético podía suponer eran innecesarios (Ringwald *et al.*, 2016). Por lo tanto, es posible que los primeros estudios sobre impacto psicológico de los estudios genéticos basados en secuenciación masiva no sean representativos en el futuro, ya que el impacto puede evolucionar a medida que más información esté disponible para interpretar los resultados. Además, la experiencia y la investigación pueden ayudar a mejorar el asesoramiento genético y la comunicación de los resultados para mitigar el impacto psicológico.

1.5.1. Implicaciones de los estudios de secuenciación masiva en el asesoramiento genético

Inicialmente se pensó que los estudios de paneles de genes, exomas y genomas iban a implicar una revolución para el asesoramiento genético, mientras que actualmente la opinión general es que los asesores genéticos ya tienen todas las habilidades que necesitan y posiblemente solo necesiten promover algunas de ellas para adaptarse a este tipo de estudios, como por ejemplo la habilidad de reconocer el contenido o la cantidad de información que se debe compartir con cada paciente, y la habilidad de comunicar esta información y su incertidumbre inherente de forma comprensible para el paciente (Esteban, López-Fernández y Balmaña, 2018).

Uno de los cambios que implica el estudio genético de secuenciación masiva en comparación con el estudio de un solo gen es que la historia familiar es

menos importante para el diagnóstico diferencial a la hora de decidir qué estudio genético solicitar. Sin embargo, recoger la historia familiar tiene todavía implicaciones importantes a la hora de anticipar posibles resultados, ayudar en la interpretación de variantes y la segregación familiar, identificar y cuantificar el riesgo para los familiares y seleccionar el probando adecuado. Además, recoger la historia familiar continúa teniendo implicaciones en los aspectos psicosociales del asesoramiento genético, ya que es importante para comprender la dinámica familiar, las creencias de la familia, entender los patrones de comunicación intrafamiliar y crear una buena relación con el paciente (Esteban, López-Fernández y Balmaña, 2018).

Otro de los cambios introducidos con la incorporación de los estudios de secuenciación masiva es la posibilidad de identificar resultados secundarios. Los asesores genéticos tienen las habilidades necesarias para ayudar a los pacientes a tomar decisiones sobre los estudios genéticos. Sin embargo, la diferencia en este caso radica en la ausencia de opiniones y conexiones emocionales de los pacientes con las condiciones genéticas debido a la ausencia de experiencias personales o familiares. Esto hace que el proceso de toma de decisiones sea distinto de las decisiones habituales sobre el estudio directo de una enfermedad familiar, por ejemplo, o el estudio genético asociado a un fenotipo existente (Middleton, Hall y Patch, 2015). Además, definir el manejo médico adecuado en ausencia de historia familiar clásica es difícil, y a la hora de transmitir el riesgo se debe hacer un balance entre transmitir la importancia del seguimiento sin crear una ansiedad innecesaria frente a condiciones con penetrancia incierta.

Con la incorporación de los nuevos estudios genéticos será importante manejar las expectativas y esperanzas de los pacientes. Al estudiar más genes, los pacientes tienden a tener expectativas muy altas sobre la probabilidad de identificar una mutación. Sin embargo, es importante que los pacientes comprendan las limitaciones de estos estudios genéticos. Si los pacientes tienen expectativas irreales podrían estar falsamente tranquilos ante un resultado negativo o, por el contrario, muy decepcionados. Por esta razón, durante el asesoramiento genético se deben explorar las expectativas y creencias de los pacientes para corregir interpretaciones erróneas o inexactas en caso necesario (Amendola *et al.*, 2015; Brett *et al.*, 2018). Aunque esta práctica no es nueva para los asesores genéticos, cobra más importancia ante estudios de secuenciación masiva y destaca la importancia del asesoramiento genético en esta nueva era de la genómica.

Otro de los grandes retos de la secuenciación masiva es la incertidumbre. La incertidumbre es inherente a la medicina y especialmente a la genética, pero la incorporación de la secuenciación masiva se asocia a nuevos tipos y dimensiones de incertidumbre. Han *et al.* (2017) definió 3 fuentes de incertidumbre en genómica: probabilidad, ambigüedad y complejidad. Si aplicáramos esta taxonomía a los paneles de genes en cáncer hereditario, *probabilidad* se referiría a identificar una variante patogénica asociada a cáncer en un paciente, por ejemplo, en *BRCA1*, asociada con un 70% de riesgo de cáncer de mama en mujeres, sin que ello permita predecir si ese paciente desarrollará cáncer o no; *ambigüedad* podría asociarse a identificar una variante de moderada penetrancia de la que se tiene información limitada sobre su riesgo de cáncer (como una variante *missense* en *CHEK2*); y *complejidad* al hecho de que tanto la historia familiar como el estilo de vida

modifican el riesgo de cáncer de pacientes con variantes de moderada penetrancia y deben tenerse en cuenta en el cálculo de riesgo. Mientras que la probabilidad es una fuente de incertidumbre inherente a la genética, la ambigüedad y la complejidad surgen o se acentúan con el uso de la secuenciación masiva.

La forma en que los pacientes gestionan la incertidumbre es importante puesto que puede influir en las decisiones, expectativas y reacciones de los pacientes ante los estudios genéticos, así como en la decisión de compartir los resultados con sus familiares. Idealmente, para ayudar a los pacientes a tomar una decisión sobre el estudio genético, los asesores genéticos deberían discutir con los pacientes las implicaciones de los estudios genéticos y su incertidumbre de una forma que promueva la resiliencia y que ayude a los pacientes a tomar decisiones basadas en sus valores y en su personalidad (por ejemplo, en su capacidad de tolerar la incertidumbre), sin tratar de minimizar la incertidumbre o concebirla como problemática. De nuevo, esto muestra la importancia de un asesoramiento genético adecuado. También será importante ayudar a los pacientes a lidiar con la incertidumbre de los resultados, ya que en algunos casos un resultado positivo no significa una estimación de riesgo exacta o un manejo clínico claro (Esteban, López-Fernández y Balmaña, 2018).

Finalmente, otra de las implicaciones de los estudios genéticos de secuenciación masiva es la cantidad y la complejidad de información que debe discutirse con los pacientes antes de los estudios genéticos. La investigación demuestra que la cantidad de información que un individuo puede procesar e integrar en una única sesión es limitada, y el exceso de

información puede llevar a ansiedad o confusión, y a dificultar la toma de decisiones. Tradicionalmente, en el asesoramiento genético de un solo gen o síndrome de cáncer hereditario, antes del estudio el asesor genético llevaba a cabo una discusión en profundidad de las implicaciones de todos los posibles resultados de un estudio genético. Sin embargo, cuando se lleva a cabo un estudio genético de secuenciación masiva hay muchos resultados posibles, algunos de los cuales son difíciles de predecir. Por lo tanto, no es posible exponer todos los posibles resultados al paciente antes del estudio genético, y en cualquier caso no sería beneficioso para el paciente. Por esta razón, los asesores genéticos deben adaptar el asesoramiento genético previo al estudio y la información que se entrega al paciente para minimizar el impacto psicológico y promover la adaptación al resultado. Se han propuesto modelos de asesoramiento genético para paneles de cáncer hereditario en los que la información se agrupa en bloques y niveles (Bradbury *et al.*, 2015). Sin embargo, lo importante es entender qué cantidad de información necesita cada paciente. Esto se consigue con un asesoramiento genético conversacional (en contraposición con el asesoramiento genético basado en la información), comprobando la comprensión de los pacientes durante la visita y ayudando al paciente a pensar críticamente qué información necesita para tomar la decisión. Además, para tomar una decisión es importante contextualizar la información y discutir con los pacientes las implicaciones de esa información para ellos y su familia (Samuel *et al.*, 2017).

Hallazgos inesperados o secundarios	Ayudar al paciente a tomar una decisión en cuanto al estudio genético y a los resultados que desea conocer (si tiene opción). Ayudar al paciente a adaptarse al resultado.
Aumento de expectativas	Manejar las expectativas del paciente. Para ello es necesario explorar las expectativas e ideas preconcebidas y corregir en caso necesario.
Aumento de incertidumbre	Tratar la incertidumbre asociada a los paneles de genes en la visita previa al estudio genético para facilitar la toma de decisiones basadas en sus valores y en su capacidad de tolerar la incertidumbre. Ayudar a adaptarse a la incertidumbre en la visita de resultados.
Aumento de información	Identificar la cantidad de información que cada paciente necesita para tomar las decisiones. Para ello hay que promover que el paciente piense críticamente qué información necesita y ayudarlo a contextualizarla.

Tabla 2: Resumen de las implicaciones de la incorporación de los paneles de genes y objetivos del asesoramiento genético.

1.5.2. Experiencias iniciales de asesores genéticos que ofrecen estudios de secuenciación masiva

Los asesores genéticos que ofrecen asesoramiento genético de estudios de secuenciación masiva han explicado que, inicialmente, tendían a centrarse en la entrega de información (Wynn, 2016). Sin embargo, en la era de la genómica, donde la información es más compleja e implica más incertidumbre que nunca, es necesario determinar con detenimiento cuál es la información más relevante para cada individuo (Wynn, 2016). A medida que

los asesores genéticos adquieren experiencia, refieren que sus sesiones evolucionan y comienzan a ser más flexibles y personalizadas, centradas en resolver dudas, corregir malentendidos o ajustar las expectativas de los clientes. Los asesores genéticos también reportan haber desarrollado estrategias para promover la participación de la familia y explican que con el tiempo realizaban las sesiones de una forma más conversacional, un estilo que se ha demostrado que promueve la comprensión de la información por parte de los pacientes (Bernhardt *et al.*, 2015; Wynn, 2016).

Asimismo, los asesores genéticos con experiencia en estudios de secuenciación masiva también refieren pasar menos tiempo discutiendo los posibles resultados e información específica de cada gen, y más tiempo discutiendo el rango de posibles resultados y la posibilidad de un resultado que implique incertidumbre (Hooker *et al.*, 2017). Es importante recordar que la consulta de asesoramiento genético de resultados también será diferente, puesto que se deben explicar a veces resultados complejos que no han sido discutidos extensamente con anterioridad (Rainville y Rana, 2014; Hooker *et al.*, 2017) y las reacciones de los clientes serán más difíciles de predecir en estos casos.

1.5.3. Impacto psicológico de los paneles de genes de cáncer hereditario

Hay distintas razones por las que un panel de genes de cáncer hereditario puede provocar reacciones distintas a las de un estudio genético de un solo gen/síndrome. Una de ellas es la adición de genes de moderada penetrancia, de los que se tiene menos información sobre el riesgo que confieren y por lo

tanto tienen menos utilidad clínica (Domchek *et al.*, 2013; Easton *et al.*, 2015). Además, hay un incremento de hallazgos de variantes de significado desconocido, puesto que se analizan más genes (Balmaña *et al.*, 2016), y también surge la posibilidad de identificar hallazgos secundarios (resultados que se analizan activamente, aunque no están relacionados con la indicación para solicitar el estudio) (Yurgelun *et al.*, 2017). La complejidad asociada a los paneles de genes de susceptibilidad al cáncer es un reto para los asesores genéticos, cuya función es aportar la cantidad de información necesaria para que los pacientes puedan tomar decisiones informadas a la vez que evitan el exceso de información.

Además de nuestro artículo incluido en el cuerpo de esta tesis, hasta la fecha solo hay otros dos estudios que analicen el impacto psicológico de los paneles de genes en cáncer hereditario.

El primero de ellos, publicado en 2016 (Bradbury *et al.*, 2016), fue diseñado para evaluar la utilidad de un nuevo modelo de asesoramiento genético diseñado por el equipo investigador para informar a los pacientes de todas las implicaciones de los paneles de genes en cáncer hereditario. En este modelo la información se organiza en “bloques” y en “niveles”. El nivel 1 es la información indispensable que deben tener todos los pacientes. A los pacientes que necesiten más información, se les puede aportar la información del nivel 2, más específica. La información es a su vez organizada en siete bloques clínicamente relevantes, esenciales para entender las limitaciones, riesgos e incertidumbre asociada a los paneles de genes (Bradbury *et al.*, 2015).

Para este primer estudio 49 pacientes contestaron cuestionarios antes y después de un estudio de panel de genes de cáncer hereditario. La aceptación

del panel fue mayor entre los pacientes con estudio genético previo (86% vs 43%) y se consideró que el 72% de los pacientes tomaron una decisión informada. El conocimiento aumentó tras el asesoramiento genético significativamente. La ansiedad, depresión, incertidumbre y preocupación por el cáncer no aumentaron significativamente tras el panel de genes. En este estudio no mostraron ningún análisis por grupos en función del resultado obtenido, aunque reportaron que no hubo diferencias significativas entre los distintos grupos de resultados. También reportaron que el uso de técnicas de comunicación, como el *teach-back* (técnica de comunicación para comprobar la comprensión en el paciente que consiste en pedir al paciente que explique la información con sus propias palabras), se asoció con menos ansiedad y más conocimiento (Bradbury *et al.*, 2016).

Para el segundo artículo, publicado en 2017, Lumish *et al.* analizaron el impacto psicológico de un panel de genes de cáncer de mama y ovario hereditario en 232 pacientes. Los resultados mostraron que los pacientes no afectados de cáncer, con historia familiar de cáncer de mama y ovario que recibieron un resultado positivo fueron los que tuvieron mayor impacto psicológico. Sin embargo, los valores fueron solo ligeramente superiores que los pacientes no afectados con historia familiar y con resultado de VSD. Aunque en este estudio hicieron análisis de grupos en función de los resultados, no hicieron análisis de subgrupos para comparar los pacientes con variantes patogénicas de elevada y moderada penetrancia (Lumish *et al.*, 2017).

1.6. Presentación de la tesis

Esta tesis está compuesta de dos artículos aceptados por la Comisión Académica del Programa de Doctorado en Genética de la Universidad

Autónoma de Barcelona: «Multigene panel testing beyond *BRCA1/2* in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings» (publicado en *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* en octubre de 2018) y «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain» (publicado en junio de 2018 en *Psychooncology*).

Los paneles de genes en cáncer hereditario están actualmente en proceso de incorporación a la clínica, por lo que en este momento es fundamental definir qué genes deben estar incluidos en los paneles clínicos y comprender el impacto psicológico de este tipo de estudios genéticos en los pacientes.

En comparación con Estados Unidos, pocos estudios y de menor dimensión se han realizado en población europea empleando paneles de genes de susceptibilidad al cáncer para estimar la prevalencia de variantes patogénicas en genes de elevada y moderada penetrancia. Sin embargo, es importante realizar estudios en población europea y española, puesto que la prevalencia de variantes en distintos genes puede variar en función de la población estudiada.

Por otro lado, consideramos importante analizar el impacto psicológico de los paneles de genes en cáncer hereditario porque creemos que las reacciones de los pacientes pueden diferir de aquellas previamente reportadas tras el estudio de un solo gen/síndrome debido a la complejidad y la incertidumbre asociada a los paneles de genes. También pensamos que entender las preferencias en relación a la entrega de los resultados y las reacciones psicológicas de un panel de genes es necesario para diseñar protocolos y modelos de asesoramiento genético que se adapten a las necesidades de los pacientes.

A continuación, se exponen las hipótesis y objetivos de la tesis, así como la metodología empleada, un resumen de los artículos aprobados por la Comisión Académica del Programa de Doctorado en Genética de la Universidad Autónoma de Barcelona Académica para formar parte de esta tesis por compendio de publicaciones, y una discusión de los mismos.

2. Hipótesis

2.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond *BRCA1/2* in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»

- La identificación de variantes patogénicas asociadas a la susceptibilidad genética al cáncer de mama y ovario hereditario aumenta con el uso de paneles de genes.
- Las variantes patogénicas en nuevos genes tienen accionabilidad clínica que determinan su incorporación en los paneles de cáncer hereditario diagnósticos.

2.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain»

- La incorporación de algunos nuevos genes en los paneles de genes de cáncer hereditario puede condicionar el impacto psicológico en función de sus resultados.
- La incorporación de nuevos genes en los paneles se asocia a distintas preferencias de conocimiento de los resultados por parte de los pacientes.

3. Objetivos

3.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond *BRCA1/2* in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»

- Investigar la frecuencia y la caracterización de las variantes patogénicas en genes de elevada y moderada penetrancia de predisposición al cáncer de mama y ovario.
- Investigar la frecuencia de variantes deletéreas en genes candidatos a ser genes de predisposición al cáncer de mama y ovario.
- Analizar la accionabilidad de las variantes patogénicas identificadas en los genes de elevada y moderada penetrancia de predisposición al cáncer de mama y ovario.

3.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain»

- Analizar el impacto psicológico a corto y largo plazo de los resultados de un panel de genes de cáncer hereditario en función del resultado y del riesgo de cáncer asociado.
- Analizar las preferencias de conocimiento de los resultados de los paneles de genes en cáncer hereditario.

4. Metodología

4.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond *BRCA1/2* in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»

4.1.1. Participantes

El primer estudio incluido en esta tesis consiste en el análisis de un panel de 97 genes en 192 casos índice no relacionados de familias con elevado riesgo de cáncer de mama y/u ovario reclutadas desde la Unidad de Alto Riesgo y Prevención del Cáncer del Hospital Vall d'Hebron (Barcelona). Un 40% de las participantes eran mujeres diagnosticadas de cáncer de mama a edad joven (<36 años), el 31% habían sido diagnosticadas de cáncer de mama y pertenecían a una familia con 2 o más familiares diagnosticados de cáncer de mama y/u ovario, y el 20% habían sido diagnosticadas de cáncer de ovario. En todos los participantes se habían analizado previamente los genes *BRCA1/2* con un resultado negativo.

4.1.2. Panel de genes

De los 97 genes incluidos en el panel, 34 eran genes asociados a riesgo moderado/elevado de cáncer (16 relacionados con cáncer de mama y/u ovario y 18 asociados con otros tipos de cáncer) y 63 eran genes candidatos a ser genes de predisposición al cáncer, pero sin evidencia clara de su asociación con riesgo de cáncer de mama y ovario, denominados genes candidatos. La tabla 3 muestra un listado de los genes incluidos en el panel. La metodología para extracción de ADN, diseño de captura, preparación de la librería, secuenciación, alineamiento de variantes y filtrado de variantes están resumidos en la figura 4.

Genes asociados a riesgo			
Gen	Cromosoma	Gen	Cromosoma
<i>APC</i>	5	<i>NF2</i>	22
<i>ATM*</i>	11	<i>PALB2*</i>	16
<i>BMPRIA</i>	10	<i>PMS2</i>	7
<i>BRCA1*</i>	17	<i>POLD1</i>	19
<i>BRCA2*</i>	13	<i>POLE</i>	12
<i>BRIP1</i>	17	<i>PTEN*</i>	10
<i>CDH1</i>	16	<i>RAD51C*</i>	17
<i>CDK4</i>	12	<i>RAD51D*</i>	17
<i>CDKN2A</i>	9	<i>RET</i>	10
<i>CHEK2*</i>	22	<i>SDHAF2</i>	11
<i>DICER1</i>	14	<i>SDHB</i>	1
<i>EPCAM</i>	2	<i>SDHC</i>	1
<i>MLH1</i>	3	<i>SDHD</i>	1
<i>MSH2</i>	2	<i>STK11</i>	19
<i>MSH6</i>	2	<i>TP53*</i>	17
<i>MUTYH</i>	1	<i>VHL</i>	3
<i>NF1</i>	17	<i>WT1</i>	11
Genes candidatos			
Gen	Cromosoma	Gen	Cromosoma
<i>ATR</i>	3	<i>MCPHI</i>	8
<i>AXINI</i>	16	<i>MRE11A</i>	11
<i>BABAMI</i>	19	<i>NBN</i>	8
<i>BAP1</i>	3	<i>PIF1</i>	15
<i>BARD1</i>	2	<i>PMS1</i>	2
<i>BLM</i>	15	<i>PPM1D</i>	17
<i>CHEK1</i>	11	<i>PTPRF</i>	1
<i>CNTROB</i>	17	<i>RAD50</i>	5
<i>DDB2</i>	11	<i>RAD51</i>	15
<i>EGFR</i>	7	<i>RAD51B</i>	14
<i>ERCC2</i>	19	<i>RBBP8</i>	18
<i>ERCC3</i>	2	<i>RECQL4</i>	8

ERCC4	16	<i>RNF168</i>	3
ERCC5	13	<i>RPL11</i>	1
EZH2	7	<i>RPL23</i>	17
FAM175A	4	<i>RPL5</i>	1
FANCA	16	<i>RPS7</i>	2
FANCB	X	<i>SIPR3</i>	9
FANCC	9	<i>SLBP</i>	4
FANCD2	3	<i>SLX4</i>	16
FANCE	6	<i>SMAD4</i>	18
FANCF	11	<i>TIMP3</i>	22
FANCG	9	<i>TNFSF8</i>	9
FANCI	15	<i>TP53BP1</i>	15
FANCL	2	<i>UBA3</i>	3
FANCM	14	<i>UIMC1</i>	5
FRY	13	<i>WNT8A</i>	5
GATA2	3	<i>XPA</i>	9
HOXB13	17	<i>XPC</i>	3
INHA	2	<i>XRCC2</i>	7
INHBA	7	<i>XRCC3</i>	14
MAPKAP1	9		

Tabla 3: Genes incluidos en el panel de genes. En negrita aparecen los genes asociados a cáncer de mama y/u ovario. Con * se muestran los genes en los que las regiones de captura incluyeron regiones codificantes, no codificantes e intrónicas con secuencias genómicas flanquantes adicionales de 10kb.

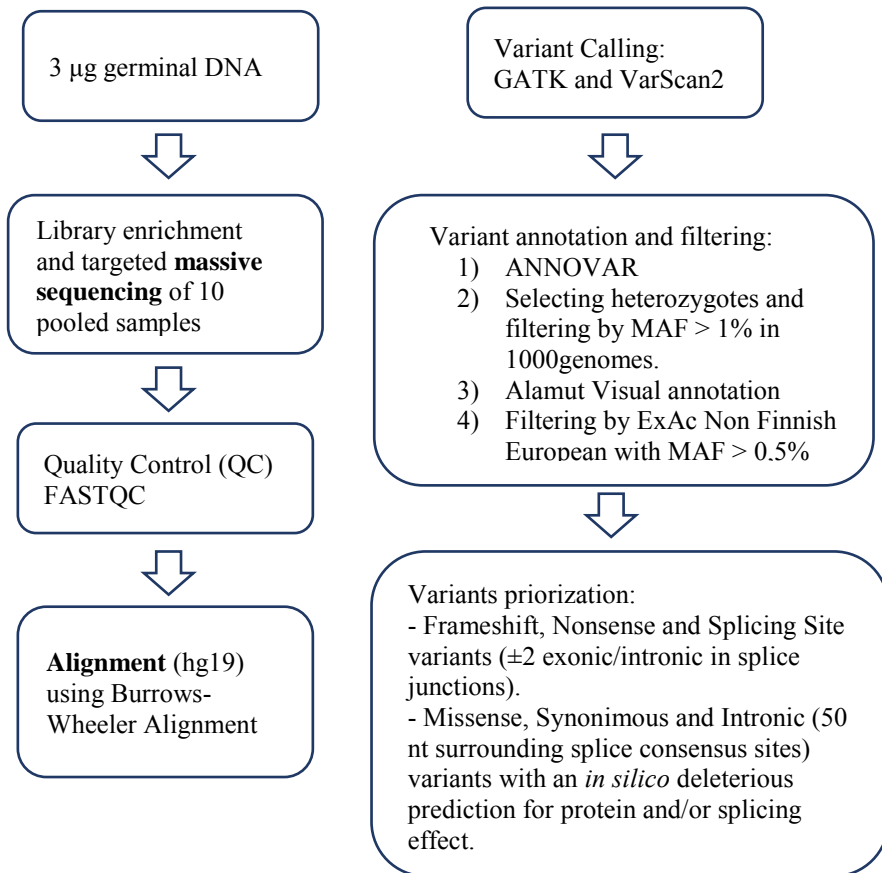


Figura 4: Resumen de la metodología del artículo 1.

4.1.3. Clasificación de variantes

Las variantes truncantes o con datos de análisis de ARN (ácido ribonucleico) que demostraran su efecto en el *splicing* fueron clasificadas como patogénicas en los genes asociados a riesgo y deletéreas en los genes candidatos. Las variantes *missense* con efecto clínico demostrado también fueron clasificadas como patogénicas. Las variantes fueron clasificadas como variantes de significado desconocido (VSD) cuando no había datos funcionales o si el

riesgo no estaba claramente establecido de acuerdo a la literatura o bases de datos. Estas variantes de significado desconocido fueron a su vez clasificadas en función de las predicciones *in silico* de efecto en el *splicing* o de efecto en la proteína en VSD priorizadas (si 3 de los 4 programas de predicción *in silico* empleados predecían patogenicidad) o no priorizadas (en caso contrario). Finalmente, las variantes fueron clasificadas como benignas si habían sido consideradas benignas por un panel de expertos en ClinVar o si se encontró suficiente evidencia tras la revisión de la literatura.

4.1.4. Análisis de accionabilidad clínica

Para el análisis de la accionabilidad clínica entre los portadores de variantes patogénicas en genes asociados a riesgo definimos accionabilidad clínica como el cambio en el manejo médico del paciente o de la familia de acuerdo a las guías clínicas, así como el estudio directo de familiares a riesgo.

4.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain»

4.2.1. Diseño de estudio

El segundo estudio incluido en la tesis fue diseñado para analizar el impacto psicológico de un panel de genes de cáncer hereditario a corto, medio y largo plazo. El diseño de estudio se realizó de forma paralela al estudio de investigación FAMOSA (*Frequency mutation Assessment in a Multi-centric Open-labeled Study on Actionable hereditary cancer genes*), diseñado por Myriad Genetics Spain, cuyo objetivo era analizar la frecuencia y el tipo de variantes identificadas en un panel de 25 genes de cáncer hereditario en población española. 207 casos índices no relacionados fueron reclutados en 30 hospitales para el estudio FAMOSA entre noviembre 2014 y febrero 2015. El diseño de estudio incluía casos índice con sospecha clínica de Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario y casos índices que cumplían criterios revisados de Bethesda para síndrome de Lynch. En cada cohorte la mitad de los participantes se habían realizado estudio genético previo de un gen/síndrome con resultado negativo, mientras que para la otra mitad el panel de genes era el primer estudio genético.

Para el estudio de impacto psicológico invitamos a participar a los 207 participantes del estudio FAMOSA y 187 fueron reclutados. Todos los participantes recibieron asesoramiento genético presencial realizado por oncólogos, enfermeros especializados y/o asesores genéticos, y se realizó el estudio genético de un panel de 25 genes de cáncer hereditario que incluye tanto genes de elevada penetrancia (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PALB2*, *PTEN*,

STK11, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, APC, MUTYH, BMPRIA, SMAD4, CDH1, CDK4 y CDKN2A) como de moderada penetrancia (*ATM, BARD1, CHEK2, NBN, BRIP1, RAD51C, y RAD51D*). Los participantes completaron cuestionarios tras la visita de asesoramiento genético previo al estudio genético, y, después de recibir los resultados, al cabo de 1 semana, 3 meses y 12 meses.

4.2.2. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de las variables demográficas, resultados del estudio genético, preferencias de la entrega de resultados y escalas psicológicas. Además, se realizaron análisis univariados y multivariados para conocer la relación entre las variables demográficas, el resultado del estudio genético, y el valor de las escalas psicológicas.

5. Resumen de los artículos

5.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond *BRCA1/2* in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»

El primer estudio incluido en la tesis consiste en el análisis de un panel de 97 genes en 192 casos índice no relacionados de familias con elevado riesgo de cáncer de mama y/o ovario reclutadas desde la Unidad de Alto Riesgo y Prevención del Cáncer del Hospital Vall d'Hebron (Barcelona).

La cobertura media fueron 141 lecturas y más del 80% de las bases dentro de regiones de interés tuvieron una cobertura de más de 30x. La figura 5 recoge un resumen de las variantes clasificadas y priorizadas identificadas en los 192 pacientes. Identificamos 1157 variantes únicas heterocigotas exónicas e intrónicas (en los 50 nucleótidos flanqueantes a los sitios de *splicing*) con frecuencia alélica menor inferior a 0.5%: 27 variantes truncantes, 17 de *splicing*, 417 *missense*, una delección *in-frame*, 231 variantes sinónimas y 464 intrónicas. 19 y 18 variantes distintas de pérdida de función fueron identificadas en los genes asociados a riesgo y en los genes candidatos respectivamente. 25 variantes en genes asociados a riesgo fueron clasificadas como benignas. Las otras 1095 variantes fueron consideradas variantes de significado desconocido, 104 de ellas priorizadas *in silico*. La figura 6 es una representación gráfica de los resultados.

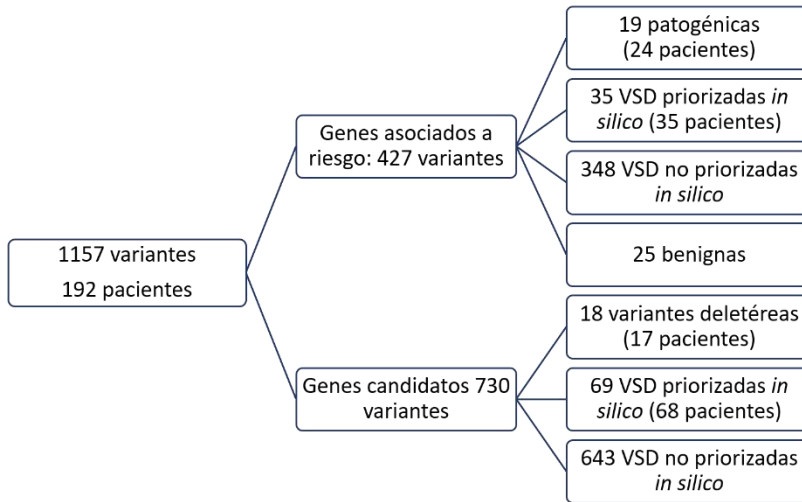


Figura 5: Resumen de clasificación de variantes identificadas en genes asociados a riesgo y genes candidatos. VSD= Variante de significado desconocido.

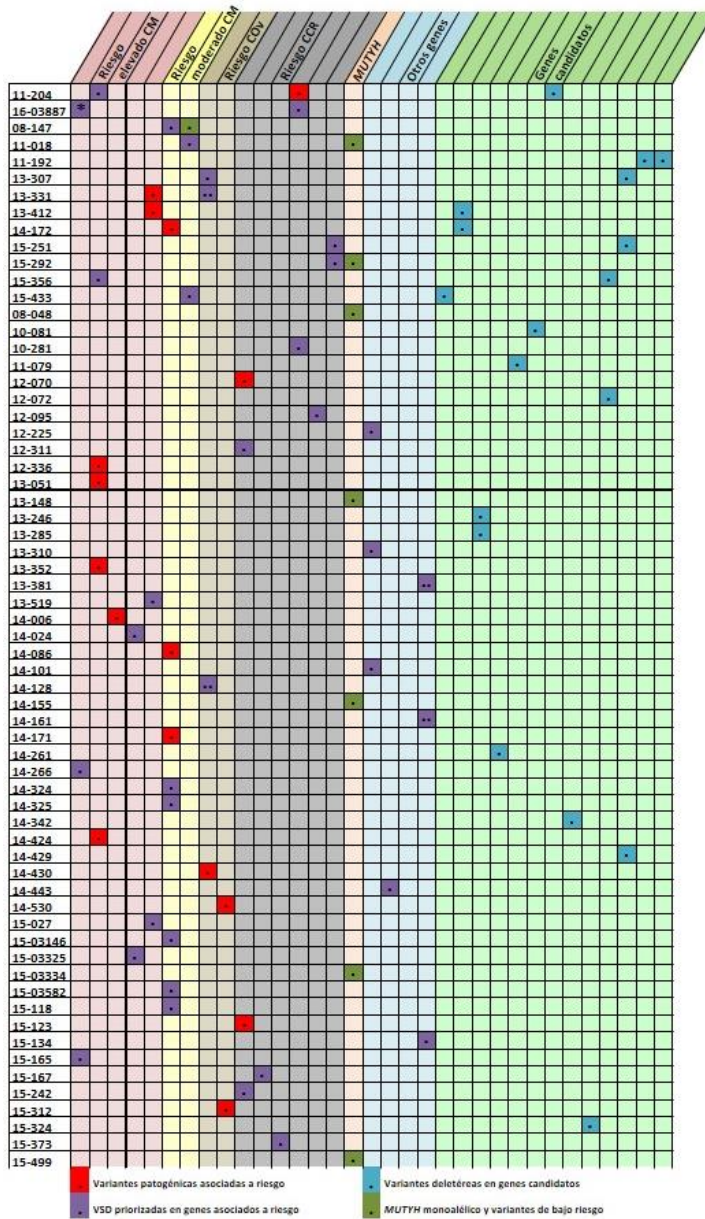


Figura 6: Mapa genético de las variantes deletéreas y potencialmente deletéreas identificadas en genes de riesgo y candidatos. *Dos variantes en un gen. **Pacientes

con la misma variante. CM= cáncer de mama; COv= cáncer de ovario; CCR= cáncer colorrectal.

5.1.1. Genes asociados a cáncer

5.1.1.1. Variantes patogénicas

Se identificaron variantes patogénicas en 24 pacientes en los siguientes genes: *MUTYH* (7), *PALB2* (4), *ATM* (3), *APC* (2), *RAD51D* (2), *TP53* (2), *BRIP1* (1), *CHEK2* (1), *PMS2* (1) y *PTEN* (1). Todas las variantes en *PALB2* y *ATM* fueron identificadas en familias con casos de cáncer de mama pero no cáncer de ovario. Se identificó una variante truncante en *PTEN* en una mujer diagnosticada de cáncer de mama a los 46 años y con fenotipo compatible con Síndrome de Cowden. Dos variantes patogénicas en el gen *TP53* fueron identificadas en 2 probandos con cáncer de mama a edad joven (menores de 30) en ausencia de historia familiar de Síndrome Li-Fraumeni. En relación con los genes asociados a cáncer de ovario, se identificaron 2 variantes patogénicas en *RAD51D* en 2 pacientes con cáncer de ovario y una variante patogénica en *BRIP1* en una paciente con cáncer de mama a los 32 años sin historia personal o familiar de cáncer de ovario. Una variante de *splicing* en *PMS2* fue identificada en una paciente diagnosticada de cáncer de mama que no cumplía criterios de Ámsterdam o Bethesda. Su efecto fue confirmado mediante estudios de ARN. La misma paciente también es portadora de una variante truncante en *BARD1*, un gen candidato a estar asociado a cáncer de mama ya que la proteína que codifica interacciona con *BRCA1*. La madre de la probando, diagnosticada de cáncer de mama bilateral, era portadora obligada de las 2 variantes (en los genes *PMS2* y *BARD1*). Identificamos 3 variantes monoalélicas distintas en el gen *MUTYH* en el 3.6% de nuestra muestra (7 pacientes), pese a que la frecuencia de portadores de variantes

patogénicas en este gen en controles sanos es del 1.5-2% (Nielsen *et al.*, 2011). La variante de moderada penetrancia de *APC* p.Ile1307Lys fue identificada en 2 pacientes con cáncer de mama. La variante fundadora *CHEK2* c.470T>C (p.Ile157Thr), considerada una variante de baja penetrancia, fue identificada en una paciente con cáncer de mama e historia familiar de cáncer de mama.

5.1.1.2. Variantes de significado desconocido

Globalmente, en los 34 genes asociados a riesgo, identificamos 427 variantes únicas y categorizamos 383 como VSD (figura 5). Tras el análisis *in silico*, revisión de la literatura y de las bases de datos, el 8% (35/427) fueron priorizadas como probablemente deletéreas. El 82% restante lo consideramos VSD o variantes probablemente benignas. El número de variantes identificadas en cada gen está resumido en la figura 7, donde los genes están ordenados por tamaño.

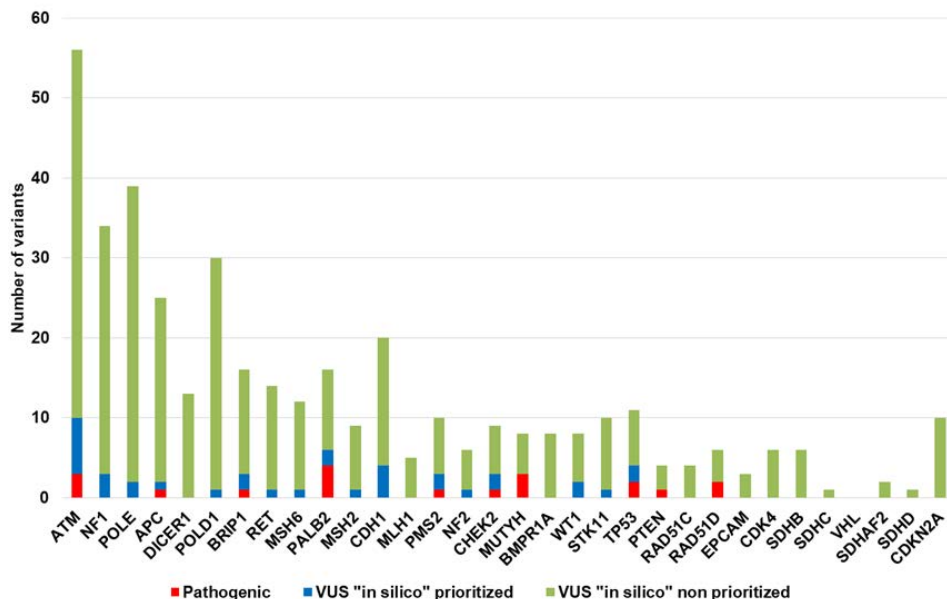


Figura 7: Variantes patológicas, VSD priorizadas *in silico*, y VSD no priorizadas *in silico* identificadas en genes asociados a riesgo. VUS= *Variant of unknown significance* (Variante de significado desconocido).

5.1.1.3. Accionabilidad de las variantes patológicas:

Las variantes patológicas en los genes *ATM*, *BRIP1*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51D*, *TP53* y *APC* (16 pacientes) fueron consideradas accionables desde el punto de vista médico de prevención o detección precoz de cáncer. Los resultados implicaron un incremento en el seguimiento o la realización de medidas de prevención en el 75% (12/16) de esos probandos. Además, 53/71 (77%) de los familiares a riesgo en estas 12 familias llevaron a cabo un estudio genético predictivo durante el primer año tras la entrega de los resultados. Un resumen del seguimiento y del número de estudios familiares llevados a cabo en cada familiar se muestra en la tabla 4. Las variantes en el

gen *ATM* en dos probandos con cáncer de mama e historia familiar de cáncer de mama implicó seguimiento con resonancia magnética mamaria anual en los probandos y los familiares portadores, mientras que a los no portadores se les recomendó seguimiento con mamografía anual basado en la historia familiar. En las familias con variantes patogénicas en *BRIP1* y *RAD51D* se ofreció la posibilidad de salpingo-ooforectomía a los 50 como una opción para reducir el riesgo de cáncer de ovario. A las dos pacientes con cáncer de mama a edad joven y variante patogénica en *TP53* se les recomendó seguimiento de otros cánceres asociados al síndrome de Li-Fraumeni (Villani y Malkin, 2016). Además, una de estas familias utilizó la información para decisiones reproductivas. En el caso de la variante en *PMS2*, se realizaron 8 estudios directos y se ofreció a la probando y sus familiares seguimiento de síndrome de Lynch con colonoscopia anual y seguimiento ginecológico en las mujeres. La paciente con variante patogénica en *PTEN* decidió someterse a cirugía reductora de riesgo con mastectomía e histerectomía para minimizar su riesgo de cáncer. A las pacientes con variantes patogénicas en *PALB2* se les ofreció seguimiento con mamografía anual y resonancia magnética mamaria, y una de ellas decidió realizarse una mastectomía bilateral. A los portadores de la variante de moderada penetrancia en *APC* y de variantes monoalélicas en *MUTYH* se les decidió recomendar seguimiento con colonoscopias cada 5 años a partir de los 40. La variante de baja penetrancia de *CHEK2* no tuvo un impacto en el manejo médico puesto que el seguimiento se basó únicamente en la historia familiar.

Gen	Paciente	Accionabilidad en el probando	Estudios directos en familiares/familiares a riesgo (53/71)
Riesgo elevado cáncer de mama			
<i>PALB2</i>	14-424	Seguimiento CM (RM)	Sí, 3 de 4
<i>PALB2</i>	13-352	Seguimiento CM (RM) + MRR	Sí, 11 de 14
<i>PALB2</i>	12-336	Seguimiento CM (RM)	Sí, 5 de 8
<i>PALB2</i>	13-051	NA (fallecida)	Sí, 5 de 5
<i>PTEN</i>	14-006	MRR + histerectomía	No
<i>TP53</i>	13-412	Seguimiento SLF + decisiones reproductivas	Sí, 3 de 4
<i>TP53</i>	13-331	Seguimiento SLF	Sí, 1 de 3
Riesgo moderado cáncer de mama			
<i>ATM</i>	14-172	NA (mastectomía previa)	Sí, 1 de 1
<i>ATM</i>	14-171	Seguimiento CM (RM)	Sí, 3 de 5
<i>ATM</i>	14-086	Seguimiento CM (RM)	Ninguno de 2
Riesgo cáncer de ovario			
<i>BRIP1</i>	14-430	Asesoramiento riesgo COv	Sí, 5 de 6
<i>RAD51D</i>	14-530	NA (salpingo-ooforectomía previa por COv)	Sí, 4 de 7
<i>RAD51D</i>	15-312	NA (salpingo-ooforectomía previa por COv)	Sí, 4 de 4
Síndrome de Lynch			
<i>PMS2</i>	11-204	Seguimiento SL	Sí, 8 de 8
Riesgo moderado cáncer colorrectal			
<i>APC</i>	12-070	Seguimiento CCR	Ningún familiar a riesgo
<i>APC</i>	15-123	Seguimiento CCR	Ningún familiar a riesgo
<i>MUTYH</i> monoalélico			
<i>MUTYH</i>	11-018	pendiente	NA

<i>MUTYH</i>	15-499	pendiente	NA
<i>MUTYH</i>	14-155	pendiente	NA
<i>MUTYH</i>	15-292	pendiente	NA
<i>MUTYH</i>	08-048	pendiente	NA
<i>MUTYH</i>	15-03334	pendiente	NA
<i>MUTYH</i>	13-148	pendiente	NA
Bajo riesgo de cáncer			
<i>CHEK2</i>	08-147	NA	NA

Tabla 4: Resumen de la accionabilidad clínica de pacientes con variantes patogénicas de elevada o moderada penetrancia en genes asociados a riesgo. CM= Cáncer de mama, RM= Resonancia magnética, MRR= Mastectomía reductora de riesgo, NA= no aplica, SLF= Síndrome de Li-Fraumeni, COV= Cáncer de ovario, SL= Síndrome de Lynch, CCR= Cáncer colorrectal.

5.1.2. Genes candidatos

5.1.2.1. Variantes deletéreas

En los genes candidatos se identificaron 18 variantes de pérdida de función en 17 pacientes (1 *BARD1*, 1 *ERCC3*, 1 *ERCC5*, 2 *FANCE*, 1 *FANCI*, 2 *FANCL*, 1 *FANCM*, 1 *MCPHI*, 1 *PPMID*, 2 *RBBP8*, 3 *RECQL4* y 1 con *SLX4* y *XRCC2*), de los cuales 3 también son portadores de una variante patogénica en un gen asociado a riesgo. 2 de las 3 variantes truncantes en *RECQL4* fueron identificadas en pacientes con cáncer de ovario. 2 variantes truncantes en *RBBP8* fueron identificadas en 2 pacientes con cáncer de mama a edad joven sin historia familiar. Sorprendentemente, 6 variantes deletéreas diferentes fueron identificadas en los genes de la vía de Anemia de Fanconi (*FANCE*, *FANCL*, *FANCI* y *FANCM*) y 2 en los genes de reparación de escisión de nucleótidos (*ERCC3* y *ERCC5*).

5.1.2.2. Variantes de significado desconocido

Se identificaron un total de 730 variantes únicas en 63 genes candidatos, de las que 712 fueron clasificadas como variantes de significado desconocido. Tras el análisis *in silico*, solo el 10% (69) de las VSD fueron priorizadas como potencialmente deletéreas (figura 5).

5.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain»

El segundo estudio incluido en la tesis analiza el impacto psicológico de un panel de genes de cáncer hereditario a corto, medio y largo plazo en 187 pacientes. Se identificaron variantes patogénicas en 38 participantes (20%), 34 de ellas de elevada penetrancia en los genes *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *APC* y *PALB2* y 4 de moderada penetrancia, todas ellas en el gen *ATM*. En el 29% de los participantes se identificó una variante de significado desconocido.

5.2.1. Impacto psicológico

5.2.1.1. Preocupación por el cáncer

Tras el panel de genes de cáncer hereditario la preocupación por el cáncer medida con la escala de preocupación por el cáncer (CWS del inglés *Cancer Worry Scale*), no varió y no se identificaron diferencias entre los pacientes con resultado positivo, negativo o VSD.

5.2.1.2. Escala de impacto de un evento

Los resultados de la escala de impacto de un evento revisada (IES-R del inglés *Impact of Event Scale - Revised*) no difieren en función del resultado (positivo, negativo y VSD) ni a lo largo del tiempo en ninguno de los grupos. Sin embargo, en el análisis de subgrupos, observamos que los portadores de una variante de moderada penetrancia mostraron puntuaciones superiores en comparación con los portadores de una variante de elevada penetrancia 12

meses después de la entrega de resultados (30.67 vs 10.71, p value=0.031) (figura 8).

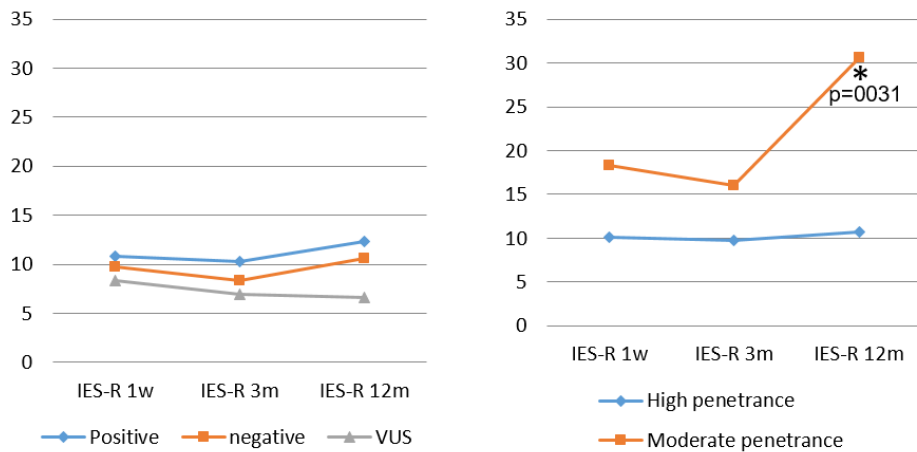


Figura 8: Resultados de la escala de impacto de un evento revisada (IES-R). VUS= *Variant of unknown significance* (Variante de significado desconocido). 1w= 1 week (1 semana); 3m= 3 months (3 meses); 12m= 12 months (12 meses).

5.2.1.3. Escala MICRA (*Multidimensional Impact of Cancer Risk Assessment Scale*)

Subescala de aflicción

Los pacientes con una variante patogénica mostraron niveles más elevados de aflicción (traducción del común término anglosajón *distress*) que los pacientes con resultado negativo o VSD al cabo de 1 semana, 3 meses y 12 meses tras recibir los resultados. Asimismo, los pacientes con una variante de moderada penetrancia mostraron mayores niveles de aflicción que los portadores de una variante de elevada penetrancia 12 meses después de los resultados (17.67 vs 6.59, p value=0.026) (figura 9).

Subescala incertidumbre

No se encontraron diferencias en la incertidumbre en ninguno de los momentos analizados entre pacientes con variante patogénica, VSD o resultado negativo. Sin embargo, los pacientes con variantes de moderada penetrancia mostraron valores más elevados que los pacientes con variantes de elevada penetrancia 3 y 12 meses después de recibir los resultados (figura 9).

Subescala de experiencias positivas

Los participantes con variantes patogénicas mostraron niveles más elevados en esta subescala en comparación con los pacientes con VSD o los pacientes con resultado negativo (8.56 vs 5.09 vs 3.97 1 semana después de los resultados), lo que se asocia a mayor impacto psicológico (figura 9).

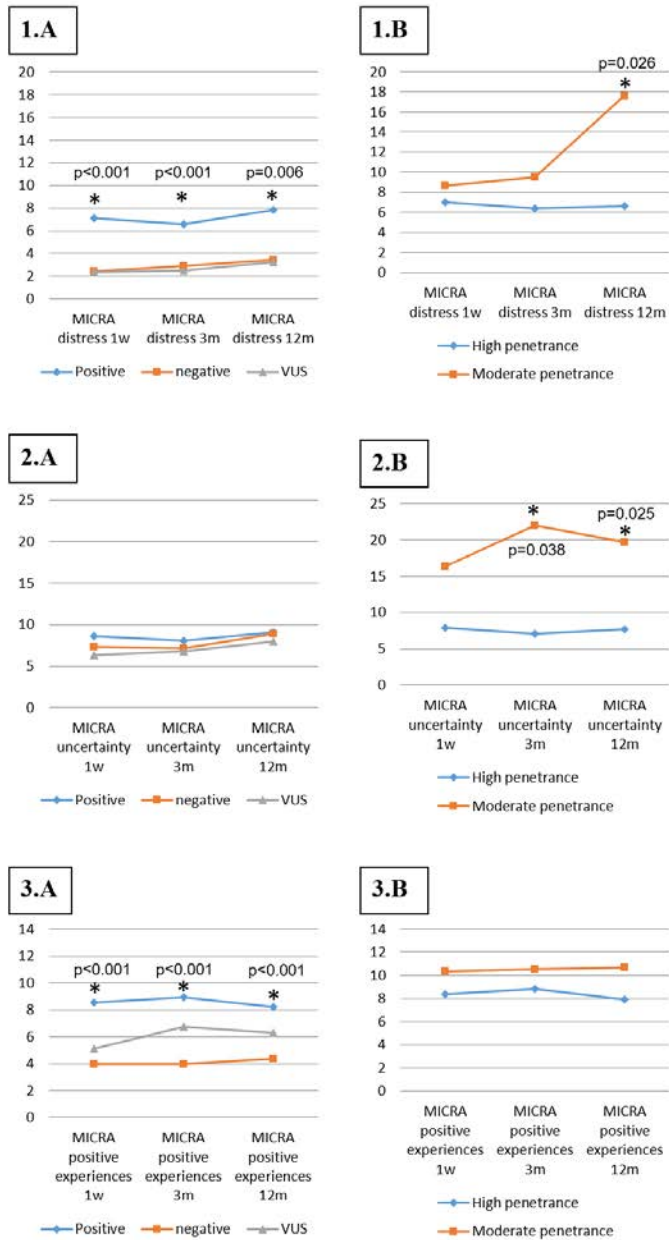


Figura 9: Resultados de las distintas subescalas de la escala MICRA. Las figuras 1.A y 1.B corresponden a la subescala *aflicción (distress subscale)*, las figuras 2.A y 2.B

a la subescala *incertidumbre* (*uncertainty subscale*) y las figuras 3.A y 3.B a la subescala *experiencias positivas* (*positive experiences subscale*). VUS= *Variant of unknown significance* (Variante de significado desconocido). 1w= 1 week (1 semana); 3m= 3 months (3 meses); 12m= 12 months (12 meses).

Preguntas independientes

La escala MICRA incluye preguntas que no se analizan dentro de ninguna subescala. Una de ellas muestra que los pacientes con variantes de elevada penetrancia reportaron comprender mejor las opciones de seguimiento que los portadores de variantes de moderada penetrancia 3 y 12 meses tras los resultados.

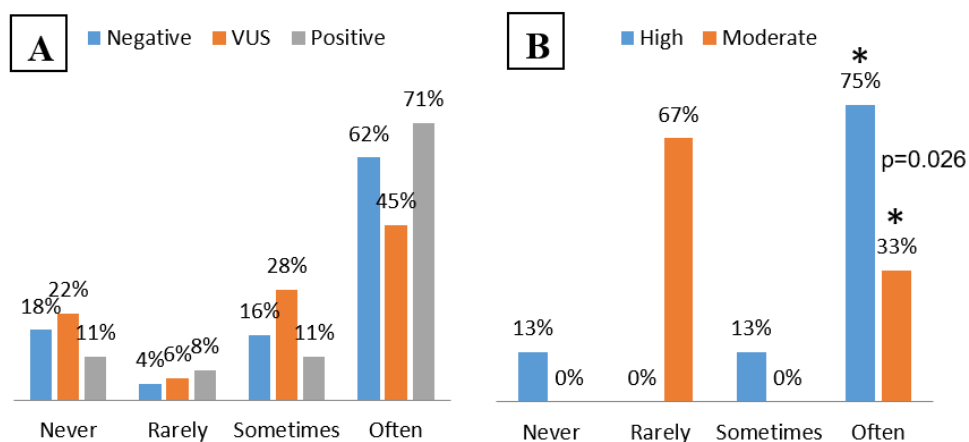


Figura 10: Resultados de la pregunta número 13 de la escala MICRA (analizada como ítem independiente). Respuestas a la pregunta: «Entendí las opciones prevención o detección precoz». VUS= *Variant of unknown significance* (Variante de significado desconocido).

5.2.1.4. Factores predictores de impacto psicológico

Valores basales de preocupación por el cáncer más elevados y obtener resultados positivos se asociaron a mayores niveles de aflicción tras el estudio genético 1 semana, 3 meses y 12 meses después de obtener los resultados. No

se observaron diferencias en función del género, el síndrome de cáncer hereditario sospechado o haber realizado un estudio genético previo.

5.2.2. Preferencias de entrega de resultados

La mayoría de los pacientes deseaba obtener los resultados de variantes de significado desconocido (84%) y variantes patogénicas de moderada penetrancia (92%).

6. Discusión

6.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond *BRCA1/2* in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»

Con el panel de 97 genes de riesgo o candidatos a ser de riesgo de cáncer hereditario identificamos variantes patogénicas de elevada o moderada penetrancia en 16 pacientes de las 192 participantes (8%), sin incluir variantes monoalélicas en *MUTYH* o la variante de bajo riesgo en *CHEK2*. Aunque nuestro análisis no incluyó la identificación de variantes de número de copias, nuestra tasa de detección es acorde con otros resultados publicados en familias de elevado riesgo de cáncer de mama y/u ovario, que varían entre 2.9% y 9.3% (Eliade *et al.*, 2017; Slavin *et al.*, 2017).

Estos resultados añaden evidencia clínica sobre el beneficio de la secuenciación a través de un panel de genes que incluya varios genes de susceptibilidad a cáncer de mama y ovario en comparación con la estrategia de estudio genético secuencial. Nuestro resultado también demuestra la utilidad de los paneles de genes en pacientes que habían realizado previamente un estudio genético de los genes *BRCA1/2* con resultado negativo.

Por otro lado, los paneles de genes identifican un elevado número de variantes de significado desconocido que requiere el uso de un sistema de priorización para seleccionar las variantes con mayor probabilidad de ser deletéreas. En nuestro estudio utilizamos programas informáticos de predicción de patogenicidad y bases de datos para priorizar 35 variantes en genes asociados a cáncer (de 427 VSD identificadas inicialmente, el 8%), que requieren otros

análisis para clarificar su patogenicidad. Excluyendo 2 pacientes que tenían a la vez una VSD priorizada y una variante patogénica en genes de moderada o elevada penetrancia, el 17% (33/192) de nuestra muestra portaba una VSD priorizada en genes asociados a riesgo.

La identificación de variantes deletéreas en los genes *ATM*, *BRIP1*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51D*, *TP53* y *APC* ha tenido un impacto clínico, ocasionando un cambio de manejo médico y/o el estudio genético directo de familiares. Globalmente, 12 de las 16 variantes identificadas en genes de riesgo moderado o elevado (75%) fueron clínicamente accionables. Otros estudios han reportado una accionabilidad del 69% al 91%, dependiendo de los criterios que se usaran para definir accionabilidad clínica (Eliade *et al.*, 2017; Frey *et al.*, 2017).

Es importante destacar que algunas de las variantes que detectamos no hubieran sido identificadas si no hubiéramos usado un panel de genes. Por ejemplo, la variante en *PMS2* que fue identificada en una mujer con historia personal y familiar de cáncer de mama que no cumplía los criterios de Amsterdam o Bethesda para Síndrome de Lynch. Los últimos estudios han identificado variantes patogénicas en *PMS2* en familias en las que se realizaba un estudio genético de panel de genes por otras razones, lo que sugiere que el uso de esta metodología puede expandir el fenotipo asociado a *PMS2* (ten Broeke *et al.*, 2015; Eliade *et al.*, 2017; Espenschied *et al.*, 2017).

Otro ejemplo es el de una paciente con cáncer de mama a edad joven, en la que se identificó la variante *BRIP1* c.1702_1703delAA. Los estudios realizados hasta el momento han asociado variantes patogénicas en *BRIP1* a cáncer de ovario, pero la asociación con cáncer de mama no es robusta

(Ramus *et al.*, 2015; Easton *et al.*, 2016). Sin embargo, la variante *BRIP1* c.1702_1703delAA se había asociado previamente a riesgo significativo de cáncer de mama y ovario en pacientes españolas (Rafnar *et al.*, 2011).

Además, ninguna de las 2 familias con variantes patogénicas en *TP53* cumplían los criterios de Chompret de 2009 de estudio genético en síndrome de Li-Fraumeni (Tinat *et al.*, 2009). Cuando estos criterios se revisaron en 2015, se sugirió que las mujeres diagnosticadas de cáncer de mama antes de los 31 años debían ser aptas para estudio genético de Síndrome de Li-Fraumeni (Bougeard *et al.*, 2015). Nuestros resultados confirman la importancia de aplicar este criterio, y que mediante el estudio de los paneles multigenéticos se puede evitar el estudio secuencial de varios genes.

Por último, las variantes de moderada penetrancia en *APC* también pueden considerarse un hallazgo secundario, puesto que ninguno de los portadores tenía pólipos colónicos y el fenotipo familiar estaba únicamente asociado a cáncer de mama u ovario.

Globalmente, nuestros datos sugieren que los paneles de genes pueden identificar variantes deletéreas inesperadas en genes no asociados con el fenotipo del probando, lo que puede ser especialmente útil en casos donde la historia familiar sea limitada o desconocida. Son necesarios nuevos estudios que identifiquen el riesgo de cáncer en portadores de mutaciones en ausencia del fenotipo clásico, así como nuevos estudios que analicen el impacto psicológico de recibir este tipo de resultados.

En el panel que empleamos también estaban incluidos genes candidatos a ser genes de susceptibilidad a cáncer de mama u ovario. Si se excluyen los

pacientes que también tenían una variante patogénica en un gen asociado a riesgo, en el 5% de los probandos se identificó una variante deletérea en los genes candidatos. El mayor número de variantes fue identificado en *RECQL4*, gen en el que se identificaron 3 variantes en el 1,5% de nuestra población de estudio, mientras que la frecuencia reportada en ESP (*Exome Sequencing Project*) y en la base de datos de los 1000 Genomas es del 0,11% (Fu *et al.*, 2017). *RECQL4*, junto con *BLM*, *RECQL*, *RECQL5* y *WRN* codifican para las proteínas helicasas, que juegan un papel importante en el metabolismo del ADN para preservar la integridad del genoma (Suhasini y Brosh, 2013).

Además, 2 variantes deletéreas fueron identificadas en el gen *RBBP8*. La proteína que codifica este gen se asocia con BRCA1 y se ha postulado que modula las funciones de BRCA1 en la regulación de la transcripción, reparación del ADN y control del ciclo celular. Además, se piensa que puede ser un gen supresor de tumores actuando en la misma ruta que *BRCA1* (Chinnadurai, 2006). Sin embargo, aún son necesarios estudios de casos-controles para clarificar el papel de variantes patogénicas en los genes *RECQL4* y *RBBP8* en la susceptibilidad al cáncer de mama y ovario.

A pesar de todos estos hallazgos, en el 67% de nuestra población de estudio no se identificó ninguna variante deletérea o VSD priorizada. Esto sugiere que hay una parte de la heredabilidad que puede estar explicada por el efecto multiplicativo de alelos de bajo riesgo (Fachal y Dunning, 2015) o bien alelos raros asociados a riesgo elevado todavía no identificados. Además, 3 de los probandos (2%) portaban 2 variantes de pérdida de función en distintos genes, sugiriendo la posibilidad de un mecanismo de susceptibilidad más complejo en estas familias.

6.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain»

Los resultados del segundo artículo muestran que el estudio genético de paneles de genes en cáncer hereditario no se asocia con un incremento de preocupación por el cáncer o un impacto psicológico sustancial, lo que sugiere que los pacientes no experimentan un impacto psicológico clínicamente significativo tras este tipo de estudio genético. Como era previsible, los pacientes con resultados positivos mostraron mayores niveles de aflicción que los pacientes con VSD o que los pacientes con un resultado negativo. Sin embargo, estos valores son similares a los observados previamente en estudios que analizaron el impacto psicológico tras el estudio genético de un solo gen (Cruzado *et al.*, 2011; Bjørnslett *et al.*, 2015; Oberguggenberger *et al.*, 2016), por lo tanto, parece que los paneles de genes no provocan un impacto psicológico más intenso que el estudio de un solo gen/síndrome. Además, nuestros resultados son similares a los obtenidos en otros estudios que analizaron el impacto psicológico de paneles de genes en cáncer hereditario (Bradbury *et al.*, 2016; Lumish *et al.*, 2017).

Los resultados más novedosos de nuestro estudio se asocian con el análisis de subgrupos dentro de los portadores de una variante patogénica. Por primera vez en la investigación en este campo analizamos por separado el impacto psicológico de los portadores de variantes de moderada penetrancia y el de los portadores de variantes de elevada penetrancia. Nuestros resultados mostraron que los portadores de variantes de moderada penetrancia reportaron niveles superiores de aflicción e incertidumbre en comparación

con los portadores de variantes de elevada penetrancia, aunque los resultados están basados en una población pequeña. Los portadores de variantes de moderada penetrancia llegaron a reportar niveles de impacto psicológico (medido con la Escala de Impacto de un Evento Revisada) que se asocian con niveles parciales de síndrome de estrés postraumático. También observamos que este grupo de pacientes comprendió peor sus opciones médicas para manejar su riesgo de cáncer. Esto puede deberse a que el efecto beneficioso de identificar una mutación se asocia a tener un programa de seguimiento y tratamiento bien definido, haciendo del seguimiento una rutina comprensible y predecible (Ringwald *et al.*, 2016). Por esta razón, creemos que el mayor impacto psicológico observado en los pacientes con variantes de moderada penetrancia puede deberse a la falta de robustez en las estimaciones de riesgo de estas variantes, así como a la falta de guías clínicas para los portadores de estas variantes, lo que puede llevar a los pacientes a no comprender su riesgo y sentir menos empoderamiento por el conocimiento de los resultados. Aunque se trata de una población de estudio pequeña, es importante entender las implicaciones de entregar resultados con limitada validez clínica y accionabilidad.

Los pacientes con VSD mostraron niveles de aflicción moderadamente superiores a los de los pacientes con resultados negativos, aunque, sorprendentemente, no mostraron mayor incertidumbre, en concordancia con el único otro estudio que había realizado este análisis (Lumish *et al.*, 2017). Nuestra hipótesis es que ello se debe a que la incertidumbre asociada a las VSD puede ser menor si la variante se encuentra en un gen de moderada penetrancia o en un gen que no se asocia al fenotipo familiar. Por otro lado, puede ser que la escala empleada (escala MICRA) no identifique

correctamente la incertidumbre provocada por los paneles de genes o los estudios de secuenciación masiva.

Tal y como se ha reportado previamente, nuestros resultados muestran que, además del resultado del estudio genético, la preocupación por el cáncer basal (previa al estudio genético) es el mejor predictor de la aflicción tras los resultados. En nuestra opinión, esta observación resalta la importancia de realizar un adecuado asesoramiento genético previo al estudio en el que se evalúe el estatus psicológico del paciente para identificar aquellos pacientes que se podrían beneficiar de mayor apoyo psicológico.

Nuestros datos, así como otros estudios, muestran que a la mayoría de los pacientes les gustaría conocer todos los resultados del panel de genes (Hitch *et al.*, 2014; Middleton *et al.*, 2015). Sin embargo, es importante reconocer que algunos pacientes prefieren recibir únicamente resultados con utilidad clínica, por lo que es importante abordar el tema durante el asesoramiento genético previo al estudio.

Por último, concluimos que el panel de genes de cáncer hereditario no es perjudicial para el bienestar psicológico de los pacientes, aunque los portadores de variantes de moderada penetrancia mostraron con más frecuencia mayor impacto psicológico y mayor incertidumbre, por lo que es importante seguir investigando esta población. La investigación en este campo es fundamental para entender mejor los riesgos y beneficios de los paneles de genes y promover un adecuado asesoramiento genético y soporte psicológico para aquellos que más lo necesiten.

7. Conclusiones finales

Esta tesis se compone de dos trabajos originales con el objetivo común de aportar información de utilidad en la implementación clínica de los paneles de genes en cáncer hereditario, tanto a nivel genético, analizando los distintos genes que pueden estar incluidos en un panel, como a nivel de asesoramiento genético, comprendiendo el impacto psicológico de los paneles de genes para contribuir en la mejora del proceso de asesoramiento genético en este tipo de estudios.

Los dos trabajos son pioneros en nuestro entorno, así como fundamentales para optimizar la implementación clínica y asistencial de los paneles de genes en cáncer hereditario, con un claro impacto directo para la calidad asistencial ofrecida a los pacientes.

Las principales conclusiones de la tesis son:

1. El uso de un panel de genes aumenta el diagnóstico de variantes patogénicas de elevada o moderada penetrancia de cáncer de mama y ovario hereditario. Esto conlleva un beneficio respecto a la estrategia de estudio genético secuencial para variantes asociadas a un mismo fenotipo.
2. El uso de un panel de genes permite identificar variantes genéticas que no se hubieran identificado con una estrategia basada en el fenotipo.
3. La mayoría de las variantes deletéreas en genes de moderada y elevada penetrancia identificadas mediante el panel tienen accionabilidad médica.
4. Los paneles de genes en cáncer hereditario identifican un elevado número de variantes de significado desconocido, lo que requiere el

uso de un sistema de priorización para seleccionar las variantes con mayor probabilidad de ser deletéreas.

5. El 5% de nuestros probandos tiene una variante deletérea en uno de los genes candidatos a asociarse con una susceptibilidad al cáncer de mama.
6. El estudio de panel de genes de cáncer hereditario no se asocia a un impacto psicológico clínicamente significativo.
7. La preocupación por el cáncer basal y el resultado del estudio genético son los mejores predictores de la aflicción tras recibir el resultado del estudio genético.
8. Los portadores de una variante patogénica en un gen de moderada penetrancia reportaron niveles superiores de aflicción e incertidumbre y reportaron peor comprensión de las opciones médicas de seguimiento en comparación con los portadores de variantes de elevada penetrancia.
9. La mayoría de los pacientes desean recibir todos los posibles resultados del panel de genes de cáncer hereditario.

8. Copia de los artículos publicados

8.1. Artículo 1: «Multigene panel testing beyond *BRCA1/2* in breast/ovarian cancer Spanish families and clinical actionability of findings»

J Cancer Res Clin Oncol. 2018 Dec;144(12):2495-2513.
doi: 10.1007/s00432-018-2763-9.

8.2. Artículo 2: «Psychological impact of multigene cancer panel testing in patients with a clinical suspicion of hereditary cancer across Spain»

Psychooncology. 2018 Jun;27(6):1530-1537. doi: 10.1002/pon.4686.

9. Comunicaciones en congresos

A continuación, se exponen las comunicaciones orales en congresos en relación a los resultados de los dos trabajos de investigación que componen la presente tesis doctoral.

1. **I. Esteban**, M. Vilaró, F. Balaguer, J. Balmaña, Grupo español de investigación estudio FAMOSA. Psychological impact and genetic counselling preferences of multi-gene cancer testing in a Spanish multi-centric cohort: a 12-month analysis. First World Congress on Genetic Counselling, 2017. Cambridge, Reino Unido.
2. **I. Esteban**, Grupo español de investigación estudio FAMOSA. Impacto Psicológico de los Paneles de Genes de Cáncer Hereditario (subestudio PIANO). Congreso de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), 2016. Madrid, España.
3. **I. Esteban**, F. Balaguer , E. Adrover , E. Carrasco , N. Gadea , M. Vilaró , G. Llort , R. Jovert , M. Herráiz , S. Kohrrami , A. Herreros de Tejada , R. Morales , J. Cano, R. Serrano, B. Graña, C. Guillén, J. Alés, J. Brunet, J. Balmaña; Genetic Counselling Preferences and Psychological Impact of the Analysis by Next-Generation-Sequencing in Clinical Oncology (PIANO study). European Meeting on Psychological Aspects of Genetics, 2016. Barcelona, España.
4. **I. Esteban**, S. Gutiérrez-Enríquez, S. Bonache, N. Gadea, A. Tenes, E. Carrasco, G. Montalbán, L. Moreno, J. Balmaña, O. Díez. Diagnóstico genético del cáncer de mama y ovario hereditario mediante secuenciación masiva. Congreso de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), 2015. Madrid, España.

10. Referencias

- Amendola, L. M. *et al.* (2015) 'Illustrative case studies in the return of exome and genome sequencing results', *Personalized Medicine*, 12(3), pp. 283–295. doi: 10.2217/pme.14.89.
- Antoniou, a *et al.* (2003) '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.', *American journal of human genetics*, 72(5), pp. 1117–1130. doi: 10.1086/375033.
- Balmaña, J. *et al.* (2016) 'Conflicting Interpretation of Genetic Variants and Cancer Risk by Commercial Laboratories as Assessed by the Prospective Registry of Multiplex Testing', *Journal of clinical oncology*, 34, pp. 4071–4078.
- Bernhardt, B. A. *et al.* (2015) 'Experiences with obtaining informed consent for genomic sequencing.', *American journal of medical genetics. Part A*, 167A(11), pp. 2635–46. doi: 10.1002/ajmg.a.37256.
- Bjørnslett, M. *et al.* (2015) 'Psychological distress related to BRCA testing in ovarian cancer patients', *Familial Cancer*, 14(4), pp. 495–504.
- Bosch, N. *et al.* (2012) 'What factors may influence psychological well being at three months and one year post BRCA genetic result disclosure?', *The Breast*, 21(6), pp. 755–760.
- Bougeard, G. *et al.* (2015) 'Revisiting Li-Fraumeni Syndrome From TP53 Mutation Carriers.', *Journal of clinical oncology*, 33(21), pp. 2345–52. doi: 10.1200/JCO.2014.59.5728.
- Bradbury, A. *et al.* (2015) 'Development of a tiered and binned genetic counseling model for informed consent in the era of multiplex testing for cancer susceptibility.', *Genetics in Medicine*, 17(6), pp. 485–92.
- Bradbury, A. R. *et al.* (2016) 'Patient feedback and early outcome data with a novel tiered-binned model for multiplex breast cancer susceptibility testing', *Genetics in Medicine*. Springer Nature, 18(1), pp. 25–33.
- Brett, G. R. *et al.* (2018) 'Genetic Counseling in the Era of Genomics: What's all the Fuss about?', *Journal of Genetic Counseling*. pp. 1–12. doi: 10.1007/s10897-018-0216-x.
- ten Broeke, S. W. *et al.* (2015) 'Lynch Syndrome Caused by Germline PMS2 Mutations: Delineating the Cancer Risk', *Journal of Clinical Oncology*, 33(4), pp. 319–325. doi: 10.1200/JCO.2014.57.8088.
- Chinnadurai, G. (2006) 'CtIP, a candidate tumor susceptibility gene is a team player with luminaries', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1765(1), pp. 67–73. doi: 10.1016/j.bbcan.2005.09.002.
- Cruzado, J. A. *et al.* (2011) 'Impacto psicológico del consejo genético valorado por el cuestionario de evaluación multidimensional del impacto de riesgo de cáncer

(MICRA). Estudio de las propiedades psicométricas del MICRA.’, *Psicooncología*, 8(1), pp. 125–142.

Domchek, S. M. *et al.* (2013) ‘Multiplex genetic testing for cancer susceptibility: out on the high wire without a net?’, *Journal of clinical oncology*, 31(10), pp. 1267–70.

Easton, D. *et al.* (2015) ‘Gene-Panel Sequencing and the Prediction of Breast-Cancer Risk’, *New England Journal of Medicine*, 372(23), pp. 2243–2257. doi: 10.1056/NEJMSr1501341.

Easton, D. F. *et al.* (2016) ‘No evidence that protein truncating variants in *BRIP1* are associated with breast cancer risk: implications for gene panel testing’, *Journal of Medical Genetics*, 53(5), pp. 298–309. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103529.

Edwards, A. *et al.* (2008) ‘Interventions to improve risk communication in clinical genetics: Systematic review’, *Patient Education and Counseling*, 71(1), pp. 4–25. doi: 10.1016/j.pec.2007.11.026.

Eliade, M. *et al.* (2017) ‘The transfer of multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer to healthcare: What are the implications for the management of patients and families?’, *Oncotarget*, 8(2), pp. 1957–1971. doi: 10.18632/oncotarget.12699.

Espenschied, C. R. *et al.* (2017) ‘Multigene Panel Testing Provides a New Perspective on Lynch Syndrome’, *Journal of Clinical Oncology*, 35(22), pp. 2568–2575. doi: 10.1200/JCO.2016.71.9260.

Esteban, I., Lopez-Fernandez, A. and Balmaña, J. (2018) ‘A narrative overview of the patients’ outcomes after multigene cancer panel testing, and a thorough evaluation of its implications for genetic counselling’, *European Journal of Medical Genetics*. doi: 10.1016/j.ejmg.2018.11.027.

Esteban, I., Lopez-Fernández, A. and Balmaña, J. (2019) ‘Impacto psicológico del asesoramiento genético en cáncer’, en *Libro SEOM de cáncer hereditario - III edición. En prensa.*

Fachal, L. and Dunning, A. M. (2015) ‘From candidate gene studies to GWAS and post-GWAS analyses in breast cancer’, *Current Opinion in Genetics & Development*, 30, pp. 32–41. doi: 10.1016/j.gde.2015.01.004.

Fanos, J. H. (2012) ‘New “first families”: The psychosocial impact of new genetic technologies’, *Genetics in Medicine*, 14(2), pp. 189–190. doi: 10.1038/gim.2011.17.

Fecteau, H. *et al.* (2014) ‘The evolution of cancer risk assessment in the era of next generation sequencing’, *Journal of Genetic Counseling*, 23(4), pp. 633–639. doi: 10.1007/s10897-014-9714-7.

Frey, M. K. *et al.* (2017) ‘Multigene panels in Ashkenazi Jewish patients yield high rates of actionable mutations in multiple non- BRCA cancer-associated genes’, *Gynecologic Oncology*, 146(1), pp. 123–128. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.04.009.

- Fu, W. *et al.* (2017) 'Human *RECQ* Helicase Pathogenic Variants, Population Variation and "Missing" Diseases', *Human Mutation*, 38(2), pp. 193–203. doi: 10.1002/humu.23148.
- Galiatsatos, P. *et al.* (2015) 'Psychosocial Impact of Lynch Syndrome on Affected Individuals and Families', *Digestive Diseases and Sciences*, 60(8), pp. 2246–2250. doi: 10.1007/s10620-015-3626-8.
- Hall, M. J. and Olopade, O. I. (2006) 'Disparities in genetic testing: Thinking outside the BRCA box', *Journal of Clinical Oncology*, 24(14), pp. 2197–2203. doi: 10.1200/JCO.2006.05.5889.
- Hamilton, J. G., Lobel, M. and Moyer, A. (2009) 'Emotional distress following genetic testing for hereditary breast and ovarian cancer: A meta-analytic review.', *Health Psychology*, 28(4), pp. 510–518.
- Han, P. K. J. *et al.* (2017) 'A taxonomy of medical uncertainties in clinical genome sequencing', *Genetics in Medicine*, 19(8), pp. 918–925. doi: 10.1038/gim.2016.212.
- Hirschberg, A. M., Chan-Smutko, G. and Pirl, W. F. (2015) 'Psychiatric implications of cancer genetic testing', *Cancer*, 121(3), pp. 341–360.
- Hitch, K. *et al.* (2014) 'Lynch Syndrome Patients' Views of and Preferences for Return of Results Following Whole Exome Sequencing', *Journal of Genetic Counseling*, 23(4), pp. 539–551.
- Hooker, G. W. *et al.* (2017) 'Cancer Genetic Counseling and Testing in an Era of Rapid Change', *Journal of Genetic Counseling*, 26(6), pp. 1244–1253. doi: 10.1007/s10897-017-0099-2.
- Kempers, M. J. *et al.* (2011) 'Risk of colorectal and endometrial cancers in EPCAM deletion-positive Lynch syndrome: a cohort study', *The Lancet Oncology*, 12(1), pp. 49–55. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70265-5.
- López-Fernández, A. *et al.* (2019) 'Integración del asesor genético en el modelo asistencial multidisciplinar: el cáncer hereditario como referencia', *Manuscrito en preparación*.
- Lumish, H. S. *et al.* (2017) 'Impact of Panel Gene Testing for Hereditary Breast and Ovarian Cancer on Patients', *Journal of Genetic Counseling*, 26(5), pp. 1116–1129.
- Lynch, H. T. and de la Chapelle, A. (2003) 'Hereditary Colorectal Cancer', *New England Journal of Medicine*, 348(10), pp. 919–932. doi: 10.1056/NEJMra012242.
- Madlensky, L. *et al.* (2017) 'A Rapid Systematic Review of Outcomes Studies in Genetic Counseling', *Journal of Genetic Counseling*, 26(3), pp. 361–378. doi: 10.1007/s10897-017-0067-x.
- Mavaddat, N. *et al.* (2019) 'Polygenic Risk Scores for Prediction of Breast Cancer and Breast Cancer Subtypes', *The American Journal of Human Genetics*, 104(1), pp.

21–34. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.11.002.

McAllister, M. *et al.* (2011) ‘The Genetic Counseling Outcome Scale: a new patient-reported outcome measure for clinical genetics services’, *Clinical Genetics*, 79(5), pp. 413–424. doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01636.x.

Middleton, A. *et al.* (2015) ‘Potential research participants support the return of raw sequence data.’, *Journal of medical genetics*, 52(8), pp. 571–4.

Middleton, A., Hall, G. and Patch, C. (2015) ‘Genetic counselors and Genomic Counseling in the United Kingdom.’, *Molecular genetics & genomic medicine*, 3(2), pp. 79–83. doi: 10.1002/mgg3.123.

Nakonechny, Q. B. and Gilks, C. B. (2016) ‘Ovarian Cancer in Hereditary Cancer Susceptibility Syndromes’, *Surgical Pathology Clinics*, 9(2), pp. 189–199. doi: 10.1016/j.path.2016.01.003.

Nielsen, M. *et al.* (2011) ‘MUTYH-associated polyposis (MAP)’, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 79(1), pp. 1–16. doi: 10.1016/j.critrevonc.2010.05.011.

Oberguggenberger, A. *et al.* (2016) ‘Psychosocial outcomes and counselee satisfaction following genetic counseling for hereditary breast and ovarian cancer: A patient-reported outcome study’, *Journal of Psychosomatic Research*, 89, pp. 39–45.

Rafnar, T. *et al.* (2011) ‘Mutations in BRIP1 confer high risk of ovarian cancer’, *Nature Genetics*, 43(11), pp. 1104–1107. doi: 10.1038/ng.955.

Rainville, I. R. and Rana, H. Q. (2014) ‘Next-Generation Sequencing for Inherited Breast Cancer Risk: Counseling through the Complexity’, *Current Oncology Reports*, 16(3), p. 371. doi: 10.1007/s11912-013-0371-z.

Ramus, S. J. *et al.* (2015) ‘Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer’, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 107(11). doi: 10.1093/jnci/djv214.

Resta, R. *et al.* (2006) ‘A New Definition of Genetic Counseling: National Society of Genetic Counselors’ Task Force Report’, *Journal of Genetic Counseling*, 15(2), pp. 77–83.

Ringwald, J. *et al.* (2016) ‘Psychological Distress, Anxiety, and Depression of Cancer-Affected BRCA1/2 Mutation Carriers: a Systematic Review’, *Journal of Genetic Counseling*, 25(5), pp. 880–891.

Samuel, G. N. *et al.* (2017) ‘Healthcare professionals’ and patients’ perspectives on consent to clinical genetic testing: moving towards a more relational approach’, *BMC Medical Ethics*, 18(1), p. 47. doi: 10.1186/s12910-017-0207-8.

SEAGen (2019) *Guías españolas de Asesoramiento Genético. En preparación.*

Slavin, T. P. *et al.* (2017) ‘The contribution of pathogenic variants in breast cancer susceptibility genes to familial breast cancer risk’, *npj Breast Cancer*, 3(1), p. 22. doi:

10.1038/s41523-017-0024-8.

Song, H. *et al.* (2015) 'Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population.', *Journal of clinical oncology*, 33(26), pp. 2901–7. doi: 10.1200/JCO.2015.61.2408.

Suhasini, A. N. and Brosh, R. M. (2013) 'DNA Helicases Associated with Genetic Instability, Cancer, and Aging', in *Advances in experimental medicine and biology*, pp. 123–144. doi: 10.1007/978-1-4614-5037-5_6.

Tinat, J. *et al.* (2009) '2009 Version of the Chompret Criteria for Li Fraumeni Syndrome', *Journal of Clinical Oncology*, 27(26), pp. e108–e109. doi: 10.1200/JCO.2009.22.7967.

Tung, N. *et al.* (2016) 'Frequency of Germline Mutations in 25 Cancer Susceptibility Genes in a Sequential Series of Patients With Breast Cancer', *Journal of clinical oncology*, 34(13), pp.1460-8. doi: 10.1200/JCO.2015.65.0747.

Valle, L. (2017) 'Recent Discoveries in the Genetics of Familial Colorectal Cancer and Polyposis', *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 15(6), pp. 809–819. doi: 10.1016/j.cgh.2016.09.148.

Villani, A. and Malkin, D. (2016) 'Biochemical and imaging surveillance in Li-Fraumeni syndrome - Authors' reply.', *The Lancet. Oncology*, 17(11), p. e473. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30525-3.

Wynn, J. (2016) 'Genomic Testing: a Genetic Counselor's Personal Reflection on Three Years of Consenting and Testing.', *Journal of genetic counseling*, 25(4), pp. 691–7. doi: 10.1007/s10897-015-9868-y.

Yurgelun, M. B. *et al.* (2017) 'Cancer susceptibility gene mutations in individuals with colorectal cancer', *Journal of Clinical Oncology*, 35(10), pp. 1086–1095.

11. Documentación complementaria

Anexo I: «Impacto psicológico del asesoramiento genético en cáncer» (capítulo de la 3ª edición del Libro SEOM de Cáncer Hereditario)

Anexo II: «A narrative overview of the patients' outcomes after multigene cancer panel testing: thorough evaluation of its implications for genetic counselling»

Eur J Med Genet. 2018. doi: 10.1016/j.ejmg.2018.11.027.

