



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



HOSPITAL DE CLINICAS
Dr. Manuel Quintela

Análisis de variantes genéticas en los genes BRCA1 y BRCA2 en pacientes con cáncer de mama hereditario

Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Montevideo, Uruguay

Ciclo de Metodología Científica II-2021. Grupo 92

Autores:

Fechner Erika

Hernández Micaela

Manzi Antonella

Molinelli Guillermina

Monce María Eugenia

Symonds Juan Martín

Orientadoras: Dra. Artagaveytia Nora², Lic. Brignoni Lucía³, Dra. Sylveira Noelia⁴

¹ Estudiantes Ciclo de Metodología Científica II 2021, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

² Unidad Oncogenética, Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

³ Departamento Básico de Medicina, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

⁴ Unidad de Oncogenética, Servicio de Oncología Clínica, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

ÍNDICE

| | |
|----------------------|----|
| Resumen..... | 3 |
| Introducción..... | 4 |
| Objetivos..... | 10 |
| Metodología..... | 11 |
| Resultados..... | 13 |
| Discusión..... | 18 |
| Conclusiones..... | 20 |
| Agradecimientos..... | 21 |
| Bibliografía..... | 22 |

ÍNDICE DE IMÁGENES

| | |
|--------------------------|-----------|
| Introducción..... | 4 |
| Figura 1..... | 5 |
| Figura 2..... | 5 |
| Figura 3..... | 6 |
| Figura 4 | 6 |
| Resultados..... | 13 |
| Tabla 1..... | 13 |
| Figura 5..... | 14 |
| Tabla 2..... | 14 |
| Tabla 3..... | 15 |
| Figura 6..... | 16 |
| Figura 7..... | 16 |
| Figura 8..... | 17 |
| Figura 9..... | 17 |

RESUMEN

Partiendo del gran impacto que el cáncer de mama hereditario posee en los ámbitos individual, familiar y sanitario, se sostiene la particular necesidad de estudiar en el presente trabajo las variantes genéticas en los genes más frecuentemente involucrados, como lo son los *BRCA 1* y *2*.

El objetivo fue analizar los datos de variantes genéticas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en una muestra de mujeres uruguayas mayores de 18 años, con diagnóstico de cáncer de mama, y sospecha clínica de ser portadoras de una predisposición hereditaria al cáncer. Se realizó un estudio observacional retrospectivo, mediante una base de datos anonimizada de los estudios realizados por secuenciación masiva en la unidad Oncogenética del Hospital de Clínicas, en el período comprendido entre los años 2014 y 2020, se observó que las mutaciones aportadas en dicho estudio ya habían sido reportadas anteriormente estando disponibles en bases de datos públicas.

El proyecto además permitió aportar información sobre estas variantes en la población uruguaya. Las mutaciones de los genes *BRCA1* y *BRCA2* se asocian a un mayor riesgo de padecer cáncer de mama hereditario, siendo el *BRCA2* el más prevalente en Uruguay.

De los resultados obtenidos se destaca la importancia de implementar medidas de control dirigidas, logrando adecuados niveles de asesoramiento, prevención, diagnóstico y tratamiento individual del cáncer de mama hereditario.

Palabras clave: Cáncer de mama, predisposición hereditaria, variantes genéticas, *BRCA1*, *BRCA2*.

ABSTRACT

Due to the large impact that hereditary breast cancer has on the individual, familiar and sanitary levels, the present work addresses the need to study the genetic variants of the most frequently involved genes, namely *BRCA 1* and *2*.

The main objective was to analyze genetic data for the *BRCA1* and *BRCA2* genes in a sample of Uruguayan woman over 18 years of age with a breast cancer diagnosis and clinical suspicion of being carriers of hereditary cancer predisposition. An observational and retrospective study was carried out on an anonymized database of clinical studies performed by massive sequencing by the oncogenetics unit of the Hospital de Clínicas between 2014

and 2020. We found that mutations provided in this study had already been reported previously and are available in public databases.

This project also sheds some light on the effect of these variants in the Uruguayan population. *BRCA1* and *BRCA2* gene mutations are associated with a higher risk of having hereditary breast cancer, with *BRCA2* being the most prevalent.

The obtained results highlight the importance of implementing targeted control measures, achieving adequate levels of advice, prevention, diagnostics and individual treatment of hereditary breast cancer.

Keywords: breast cancer, hereditary predisposition, genetic variants, *BRCA1*, *BRCA2*.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad causada por un crecimiento anormal de un grupo de células afectadas que invade diferentes tejidos del organismo, donde el tumor puede invadir el tejido subyacente y provocar metástasis a distancia. (1) Dicha enfermedad se debe a mutaciones que se dan en los genes que controlan las funciones celulares, en especial su crecimiento y división. Si bien no hay una explicación clara de porqué hay individuos que padecen cáncer y otros no, es sabido que el estilo de vida, edad, exposición a ciertas sustancias (como el humo de tabaco), así como su carga genética son factores importantes a la hora de desarrollar dicha enfermedad. (2)

En este marco, el cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial, registrándose en 2018 18,1 millones de casos nuevos y 9,5 millones de muertes. El cáncer de mama se destaca por tener una alta tasa de morbimortalidad a nivel mundial y afectar principalmente al sexo femenino, tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. (3)

El carcinoma de mama es una enfermedad heterogénea con subtipos histológicos y moleculares, los cuales tienen cada uno sus características clínicas y pronósticas particulares. Actualmente se cuenta con cuatro tipos moleculares, siendo estos, los luminales A y B, HER2 y los triple negativos. Esta clasificación se basa en la presencia o no de receptores hormonales para progesterona y estrógenos, la expresión o no del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) o como en el caso de los triple negativos que no están presentes ninguno de los receptores anteriormente nombrados. Desde el punto de vista

histológico, el tipo más frecuente es el carcinoma ductal infiltrante de mama, caracterizado por la proliferación de las células epiteliales de los ductos mamarios y que sobrepasan la membrana basal. (4)

En el año 2020 a nivel mundial hubo 2,2 millones de nuevos casos de cáncer de mama y 685.000 muertes (Figuras 1 y 2), por lo que se estima que 1 de cada 12 mujeres padecerán de cáncer de mama a lo largo de su vida (3).

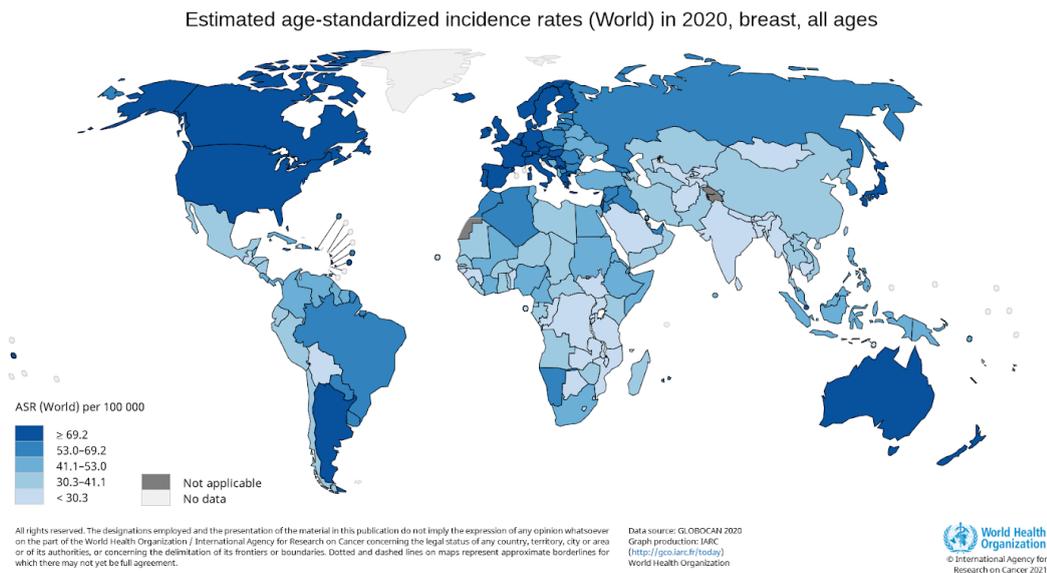


Figura 1. Tasas de incidencia estandarizadas por edad x 100000 para Cáncer de Mama en 2020 a nivel mundial.(5)

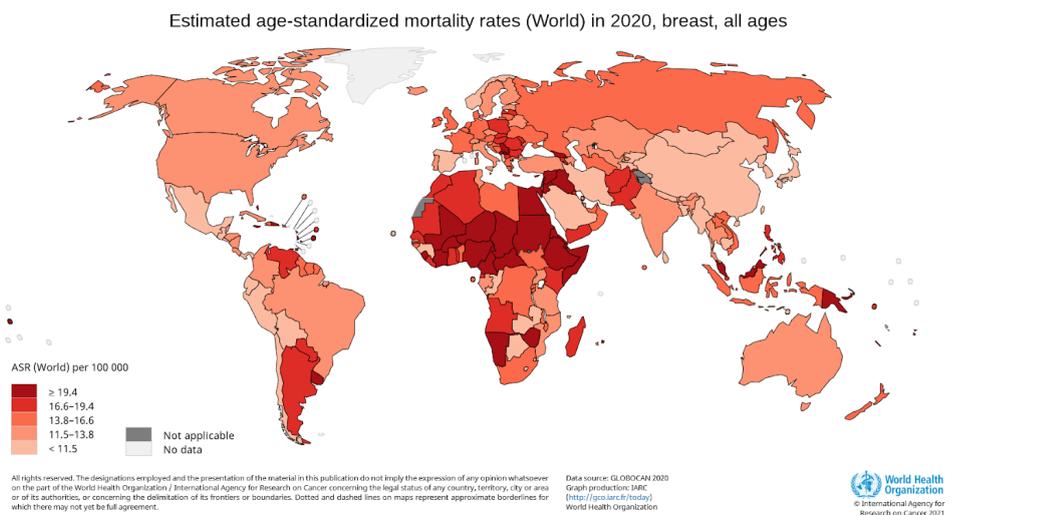


Figura 2. Tasas de mortalidad estandarizadas por edad x 100000 para Cáncer de Mama en 2020 a nivel mundial.(5)

Cada año en las Américas, más de 462.000 mujeres son diagnosticadas con cáncer de mama, y casi 100.000 mueren a causa de esta enfermedad, siendo la segunda causa de muerte en la región (6) (Figura 3).

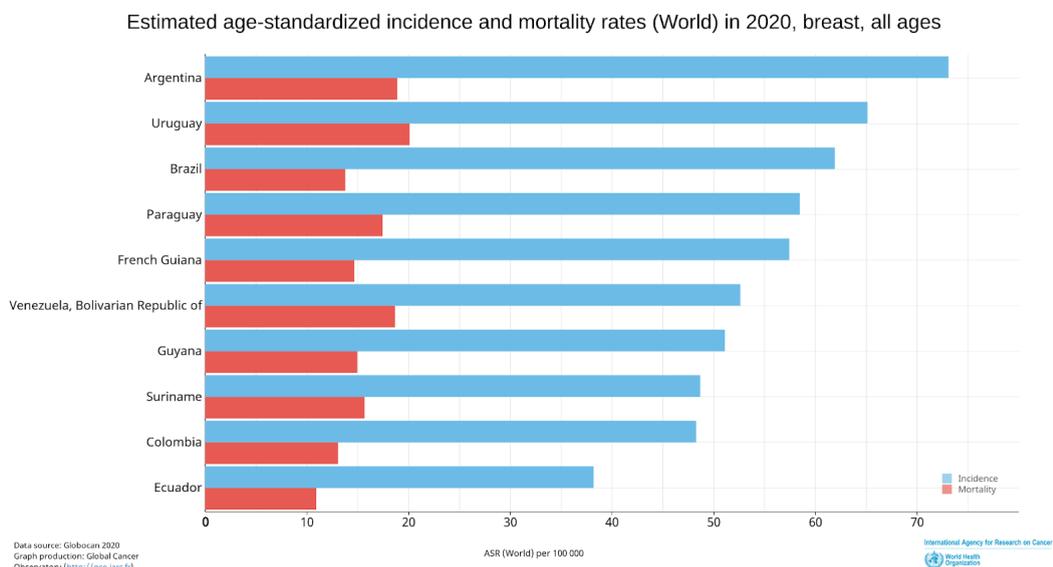


Figura 3. Tasas de incidencia y mortalidad estandarizadas por edad x 100000 para Cáncer de Mama en 2020 en Latinoamérica. (5)

Anualmente en Uruguay se registran aproximadamente 1900 nuevos casos y 670 muertes por cáncer de mama. La incidencia cada 100 mil habitantes es 73,68 y la mortalidad es 20,57, por lo que se estima que 1 de cada 11 mujeres uruguayas desarrollará esta enfermedad a lo largo de su vida (Figura 4). (7)

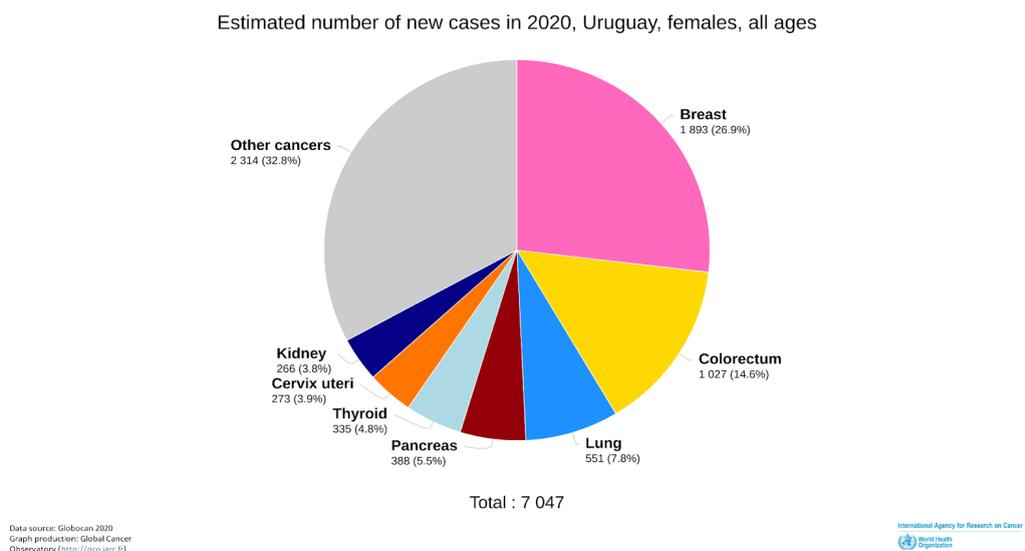


Figura 4. Número de casos estimados de cáncer en mujeres en Uruguay en 2020. (5)

Si bien en el 90% de los casos el cáncer es esporádico, el 10% restante se debe principalmente a mutaciones genéticas heredables, que determinan una predisposición hereditaria al cáncer, donde la mutación se produce a nivel germinal y se transmite a toda la progenie. De este modo, vamos a tener un individuo el cual va a presentar uno de sus alelos alterados, donde la función de la proteína se va a mantener intacta a no ser que se altere el otro alelo. Esta particularidad hace que la predisposición hereditaria al cáncer se comporte de forma recesiva, aunque su forma de herencia sea autosómica dominante. Dicha línea de pensamiento se basa en el modelo de Knudson, donde nos habla de un tipo de carcinogénesis dada por “dos golpes” o “dos hits”. (8)

En este marco, el cáncer se desarrolla a partir de una susceptibilidad genética cuya expresión fenotípica es variable y depende de la penetrancia de los alelos involucrados. La penetrancia se define como el porcentaje de individuos de un genotipo dado que presenta el fenotipo correspondiente, pudiendo clasificarse en completa e incompleta, según si el número de individuos afectados es el 100% o menor. Resulta menester destacar, en este punto, que los alelos de alta penetrancia son poco frecuentes en la población pero están asociados a mayor riesgo de desarrollo del cáncer; no obstante, su riesgo poblacional atribuible a las mutaciones en dichos alelos es bajo. Por otro lado, los alelos de baja penetrancia son más frecuentes en la población general, teniendo un escaso riesgo de desarrollo del cáncer pero con un riesgo poblacional mayor. (8)

Las variaciones genéticas se cree que están presentes desde temprano en nuestra evolución. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) donde hay un cambio de una sola base en la secuencia de nucleótidos, son los más abundantes en nuestro genoma. Dado que están presentes en toda la población, son marcadores útiles en el análisis genético, y para determinar la susceptibilidad a ciertas enfermedades, basada en un único, o en un patrón de SNPs. Por otro lado, las deleciones e inserciones (indel) de una o más bases en el ADN, representan otra fracción importante de las variaciones genéticas. Para ambos tipos de variantes, algunas son muy comunes, mientras que otras se encuentran presentes en una pequeña parte de la población, para el caso de los SNPs aquellas mutaciones puntuales muy poco frecuentes suelen denominarse variante de un solo nucleótido (SNVs). Esto generalmente se asocia a las consecuencias deletéreas de las mismas, como la introducción de codones STOP prematuros (proteínas truncadas), cambios de aminoácido, o corrimientos del marco de lectura, siendo estas últimas las de relevancia clínica. En su mayoría las variaciones genéticas son silenciosas, dado que se encuentran en regiones del genoma no

críticas, o no tienen efecto sobre la forma o funcionalidad de las proteínas. En consecuencia, solo un pequeño subgrupo de variaciones que se observan en nuestro ADN son responsables en las diferencias heredables de la individualidad humana. (9)

Otro factor a considerar en relación a la incidencia de diferentes enfermedades y del cáncer en particular, es la estructura étnica de la población. En este sentido, el cáncer de mama se presenta más frecuentemente en poblaciones europeas que en asiáticas o nativas americanas. Es sabido que la población latinoamericana a nivel general es originaria de indígenas, africanos y europeos (10). Con esto en mente, se cree que la alta incidencia de cáncer de mama tanto en Uruguay como Argentina podría deberse principalmente a las fuertes contribuciones genéticas europeas. (11)

En cuanto a la población uruguaya, su composición genética es similar a otras poblaciones latinoamericanas mixtas, siendo su principal aporte europeo (12), con contribuciones menores de africanas y nativas. Se estiman proporciones de 9,4% africanas, 14% nativo americanas y 76,6% europeas (11).

De este modo, dado que la población uruguaya es trihíbrida, no esperamos que se comporte como ninguna de las poblaciones fundadoras, y resulta importante estudiar sus características particulares.

En el presente trabajo nos centraremos en el cáncer de mama hereditario, donde los individuos que presentan dicho síndrome van a tener una mayor susceptibilidad a desarrollar cáncer de mama, así como otros tipos de cáncer tales como ovario, páncreas y próstata. Esto es debido a mutaciones germinales fundamentalmente en los genes *BRCA 1* y *BRCA 2* entre otros. (13)

En cuanto al gen *BRCA1*, es un gen supresor de tumores ubicado en el brazo largo del cromosoma 17, que evita la proliferación incontrolada de células mamarias, mediante la detección y reparación de daños de ADN. La delección de los diez últimos aminoácidos de la proteína codificada por *BRCA1*, lleva a que tenga suprimida su capacidad de inhibir el crecimiento tumoral. Los carcinomas de mama asociados a *BRCA1* están más frecuentemente asociados al fenotipo triple negativo, en comparación con los que presentan alteración del *BRCA2* o los esporádicos. En las mujeres portadoras de estas mutaciones se

estima que el riesgo acumulado de desarrollar cáncer de mama antes de los 70 años es entre el 50% y 95%, y en el hombre 1%. (13)

El gen *BRCA2* pertenece a la familia de genes supresores tumorales al igual que *BRCA1* y está implicado en la reparación de errores de cortes en la doble hebra de ADN, el cual se localiza en el brazo largo del cromosoma 13. Las mutaciones en este gen suelen ser inserciones o deleciones de un pequeño número de pares de bases de ADN, lo que lleva a que la proteína codificada sea anormal y no funcione correctamente. Los tumores asociados a mutaciones de *BRCA2* tienen una preponderancia a la expresión de receptores hormonales. Las mujeres portadoras de la mutación en *BRCA2* tienen un riesgo aproximado de 50% - 85% de desarrollar cáncer de mama, y en el hombre un 7%. (13)

La Unidad de Oncogenética del Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela comenzó el estudio del cáncer de mama hereditario hace aproximadamente dos décadas, inicialmente mediante estudios genéticos de screening seguidos de secuenciación Sanger. Los primeros trabajos de Delgado L. y cols. mostraron un predominio de variantes patogénicas en *BRCA2* así como la presencia de variantes patogénicas no reportadas previamente. A partir del año 2014 se comenzó el estudio de *BRCA1* y *BRCA2* mediante secuenciación masiva (NGS) y a partir de 2018 se incorporó un panel de 11 genes al estudio de la susceptibilidad genética al cáncer de mama. (14)

Posteriormente, otro estudio de 135 familias Uruguayas con alto riesgo para el desarrollo de cáncer de mama hereditario estudiadas mediante secuenciación de nueva generación para *BRCA1* y 2 y panel multigénico, mostró un total de 29 mutaciones genéticas, 3 recurrentes en la población uruguaya, 21 a nivel de los genes *BRCA* y 8 en otros genes. De las mutaciones encontradas la mayoría se encontraban descritas en poblaciones de Europa occidental y del este, algo que se correlaciona con la elevada proporción de ancestría europea descrita en Uruguay. (15)

En 2015 se realizó un estudio de caso-control con 328 mujeres (164 casos/164 controles) donde se investigó la asociación entre la ancestría y el riesgo de cáncer de mama en Uruguay, de los resultados se pudo confirmar la naturaleza tri-híbrida de la población uruguaya. De las conclusiones se destaca que no se encontraron diferencias de ancestría global entre casos y controles, pero se detectó la asociación de la enfermedad con un linaje mitocondrial de origen europeo. (11)

En un estudio realizado en el año 2017 en Uruguay se concluyó que el 17 % de las pacientes portadoras de cáncer de mama diagnosticadas antes de los 40 años tenían antecedentes familiares, lo que sugiere la importancia de investigar la predisposición hereditaria al cáncer de mama. (16)

Siguiendo con la línea de los estudios presentados y dada la alta prevalencia del cáncer de mama, junto con el gran impacto que tiene en el ámbito individual, familiar y sanitario, resulta de gran importancia estudiar las variantes genéticas en el cáncer de mama hereditario. Centrándonos en los genes *BRCA1* y *2* en la población uruguaya a partir de la base de datos anonimizada obtenidas por estudios de secuenciación masiva realizadas por la unidad de Oncogenética del Hospital de Clínicas, se intentará aportar información sobre variantes de riesgo en la población uruguaya que permitan implementar medidas de control dirigidas, logrando adecuados niveles de asesoramiento, prevención, diagnóstico y tratamiento individual.

OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar datos de variantes genéticas de pacientes con cáncer de mama hereditario en una muestra de mujeres uruguayas.

Objetivos específicos

- Curar la base de datos de secuenciación masiva.
- Describir la población de estudio a partir de datos demográficos.
- Analizar datos de secuenciación masiva de los genes *BRCA1* y *BRCA2*.
- Clasificar variantes según su patogenicidad.
- Utilizar herramientas *in-silico* para clasificar variantes no patogénicas.
- Comparar las variantes presentes en nuestra población con la población general sana uruguaya
- Calcular las frecuencias y estimar proporciones de las variantes de interés.

METODOLOGÍA

Se llevó a cabo un estudio observacional, retrospectivo, a partir de una base de datos anonimizada de variantes genéticas, obtenidas de los estudios realizados por secuenciación masiva en la unidad Oncogenética del Hospital de Clínicas, en el período comprendido entre los años 2014 y 2020. Las pacientes otorgaron su consentimiento informado para que sus datos demográficos y los datos obtenidos de la secuenciación sean utilizados para investigaciones, estando estos codificados.

Las pacientes son uruguayas, mayores de 18 años, con diagnóstico de cáncer de mama, y sospecha clínica de ser portadoras de una predisposición hereditaria al cáncer en base a los siguientes criterios:

- Paciente con cáncer de mama antes de los 50 años.
- Paciente con cáncer de mama bilateral.
- Antecedentes de 2 o más cánceres de mama en familiares de 1° y 2° grado o familiares con alguno de los criterios antes mencionados.
- Cáncer de mama triple negativo antes de los 60 años.
- Las variables en estudio incluyen variantes genéticas, edad, institución asistencial (pública o privada).

Los datos fueron obtenidos directamente por secuenciación masiva, filtrados de manera de obtener las variantes menos frecuentes a nivel poblacional (menos del 1%), donde se identificó localización de la variante a nivel genómico y del gen, tipo de variante e identificador de la misma si corresponde.

Se trabajó con una base de datos con 98 pacientes y sus respectivas mutaciones exónicas, en la que se identificaron 64 variantes diferentes en los genes *BRCA1* o *BRCA2*. La información se obtuvo mediante bases de datos genómicos de libre acceso (Ensembl, ClinVar - NCBI) (17,18) utilizando la identificación de referencia de cada una (rs). Se identificó si la variante fue reportada anteriormente y su clasificación clínica (patológica, benigna o de significado clínico incierto). En el caso de que estas no hubiesen sido reportadas se utilizó la

ubicación genómica de la mutación, y se aplicaron herramientas de predicción *in-silico* para estimar su significación clínica, tal como Mutation Taster, Polyphen 2. (19,20)

Asimismo, se compararon las variantes encontradas con las detectadas por el Institut Pasteur de Montevideo en 30 genomas uruguayos. Se calcularon las frecuencias y se realizaron las tablas de contingencia y gráficos en Excel a partir de los datos obtenidos. De esta forma se pudo aplicar el Test de x^2 para determinar si hay diferencias estadísticamente significativas, considerando *valores p* menores a 0.05. A su vez se calcularon los OR para conocer la magnitud del efecto de las variantes sobre el riesgo de desarrollar cáncer de mama. Los cálculos mencionados anteriormente fueron realizados en el software estadístico Epi Info (versión 7.2). (21)

RESULTADOS

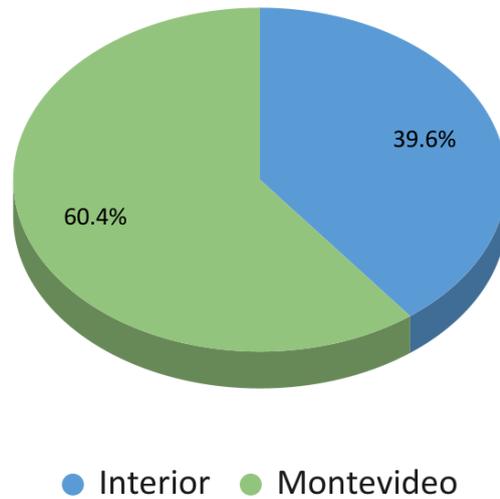
En la Tabla 1 se observan los datos demográficos de los pacientes, siendo su mayoría provenientes de Montevideo (Figura 5). Referente al centro de salud más de la mitad fueron asistidas en centros privados respecto a salud pública. La media de edad al momento de la selección y estudio de los pacientes fue de 40 años (rango de 21 a 74 años). Al diagnóstico se destaca una mayor frecuencia en las edades comprendidas entre 30 y 39 años.

| Tabla 1. Datos sociodemográficos de la población de estudio | |
|--|--------------|
| Procedencia según localidad | N (%) |
| Interior | 38 (39,58%) |
| Montevideo | 58 (60,42%) |
| Centro | N (%) |
| Público | 31 (32,30%) |
| Privado | 65 (77,70%) |
| Edad | N (%) |
| 20 - 29 | 10 (10,31%) |
| 30 - 39 | 46 (47,42%) |
| 40 - 49 | 22 (22,68%) |
| 50 - 59 | 14 (14,43%) |
| 60 - 69 | 4 (4,12%) |
| 70 - 79 | 1 (1,03%) |

Resumen de datos sociodemográficos de la población de estudio categorizada según localidad de procedencia, centro asistencial y rango etario. Se muestra para cada valor el número de pacientes (N) y su frecuencia correspondiente (%). El total de procedencia es en base a 96 y de edad 97 debido a que no contamos con la información mencionada de dos de los casos.

Respecto a las variantes analizadas se encontraron algunas poco frecuentes reportadas como benignas. (Tabla 2) Al realizar la comparación con las bases genéticas de libre acceso se observó que estas están mayoritariamente presentes en poblaciones latinoamericanas que europeas.

Figura 5. Distribución de pacientes según procedencia



| Tabla 2. Resumen de variantes benignas. | | | | | | |
|---|----|----|------|------|------------------|---------|
| Variante | A1 | A2 | F.C. | F.P. | OR | Valor p |
| rs169547 | T | C | 1,00 | 0,20 | - | - |
| rs206075 | G | A | 1,00 | 0,21 | - | - |
| rs206076 | G | C | 1,00 | 0,20 | - | - |
| rs1060915 | A | G | 0,37 | 0,35 | 0,95 (0,41-2,44) | 1,00 |
| rs16940 | A | G | 0,37 | 0,37 | 1,04 (0,44-2,44) | 1,00 |
| rs16941 | T | C | 0,40 | 0,35 | 0,88 (0,36-1,92) | 0,83 |
| rs1799949 | G | A | 0,40 | 0,37 | 1,40(0,58-3,41) | 0,57 |
| rs1799966 | T | C | 0,30 | 0,38 | 1,09 (0,46-2,55) | 1,00 |
| rs1801406 | A | G | 0,37 | 0,31 | 0,79 (0,33-1,88) | 0,77 |
| rs1799944 | A | G | 0,37 | 0,06 | 0,21 (0,06-0,69) | 0,01 |
| rs1799950 | T | C | 0,23 | 0,09 | 0,65 (0,18-2,30) | 0,75 |
| rs1801439 | A | G | 0,23 | 0,05 | 0,14 (0,44-0,49) | 0,002 |
| rs1801499 | T | C | 0,27 | 0,06 | 0,21 (0,06-0,69) | 0,02 |
| rs4986850 | T | C | 0,23 | 0,08 | 2,57 (0,30-21,4) | 0,60 |
| rs80357323 | A | C | 0,03 | 0,19 | - | - |
| rs543304 | T | C | 0,23 | 0,25 | 1,12 (0,43-2,93) | 1,00 |

A1: alelo de referencia, A2: alelo alternativo, F.C.: Frecuencia controles, F.P.: Frecuencia pacientes, OR: Odds ratio, (-): no hay genoma de referencia ,Frecuencia genotípica calculada alelo alternativo, modelo dominante.

En gris oscuro *valores p* significativos.

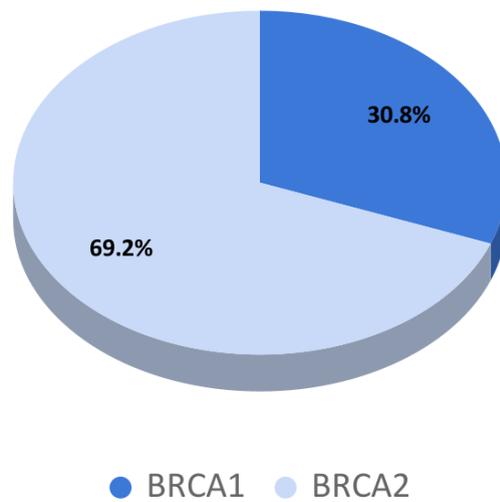
Cuando se comparó la frecuencia genotípica de las variantes benignas con el grupo control (genomas Institut Pasteur), se identificaron tres con un *valor p* menor a 0,05 lo que implica una asociación estadísticamente significativa entre la variante y el riesgo de desarrollar cáncer de mama hereditario. Asimismo, se calculó su OR con un resultado menor a uno considerándose los alelos alternativos como factores protectores para la patología. (Tabla 2)

Por otra parte, se encontraron trece variantes poco frecuentes reportadas como patogénicas (Tabla 3). De las mismas, en mayor medida corresponden a mutaciones del gen *BRCA2*. (Figura 6)

| Tabla 3. Resumen de variantes patogénicas y posiblemente patogénicas. | | | | | | |
|--|-----------|-----------|--------------|-------------|-----------------|------------------------------|
| Variante | A1 | A2 | Gen | Exón | Mutación | Frecuencia genotípica |
| rs41293455 | G | A | <i>BRCA1</i> | 11 | SNV | 1.02% |
| rs80357888 | ATTTA | - | <i>BRCA1</i> | 9 | indel | 1.02% |
| rs80357906 | G | - | <i>BRCA1</i> | 11 | indel | 1.02% |
| rs80358547 | T | G | <i>BRCA2</i> | 2 | SNV | 2.04% |
| rs80358981 | C | T | <i>BRCA2</i> | 15 | stop gain | 1.02% |
| rs80359351 | ACAA | - | <i>BRCA2</i> | 11 | indel | 2.04% |
| rs80359369 | AACAT | - | <i>BRCA2</i> | 11 | indel | 1.02% |
| rs80359506 | CA | - | <i>BRCA2</i> | 11 | indel | 1.02% |
| rs80359550 | T | - | <i>BRCA2</i> | 11 | indel | 1.02% |
| rs876661242 | G | A | <i>BRCA2</i> | 25 | stop gain | 1.02% |
| rs1555286296 | TAGG | - | <i>BRCA2</i> | 11 | indel | 1.02% |
| NM_007297 | - | - | <i>BRCA1</i> | 9 | indel | 1.02% |
| Posiblemente patogénica | A1 | A2 | Gen | Exón | Mutación | Frecuencia genotípica |
| rs397507404 | G | A | <i>BRCA2</i> | 11 | SNV | 1.02% |
| rs80356859 | A | G | <i>BRCA1</i> | 11 | SNV | 2.04% |
| rs80359228 | A | G | <i>BRCA2</i> | 11 | SNV | 1.02% |

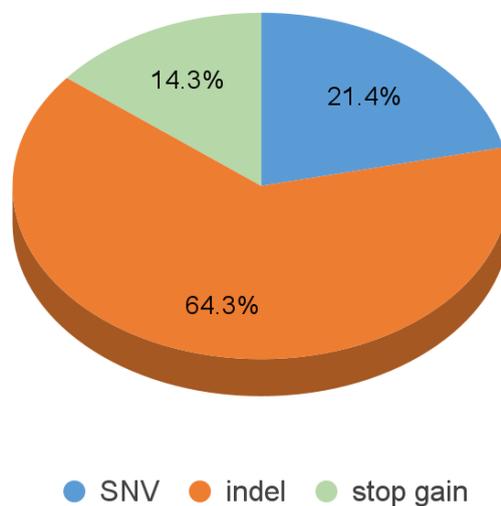
A1: alelo de referencia, A2: alelo alternativo, Indel: deleción o inserción con cambio de marco de lectura. SNV: variante de nucleótido único. Stop gain: ganancia de codón stop.

Figura 6. Distribución de variantes patogénicas en genes BRCA



Cuando clasificamos por tipo de mutación se evidencia que en su mayoría son de tipo Indel, siendo menos frecuentes los SNVs y las que introducen un codón Stop. (Figura 7)

Figura 7. Variantes patogénicas clasificadas por tipo de mutación



Al analizar cómo se distribuyen las variantes respecto a su localización en el gen *BRCA2* se observó con mayor frecuencia en el exón 11 (Figura 8), mientras en el gen *BRCA1* no se encontró una diferencia clara. (Figura 9)

Figura 8. Distribución de las variantes patogénicas en el gen BRCA2 por exón

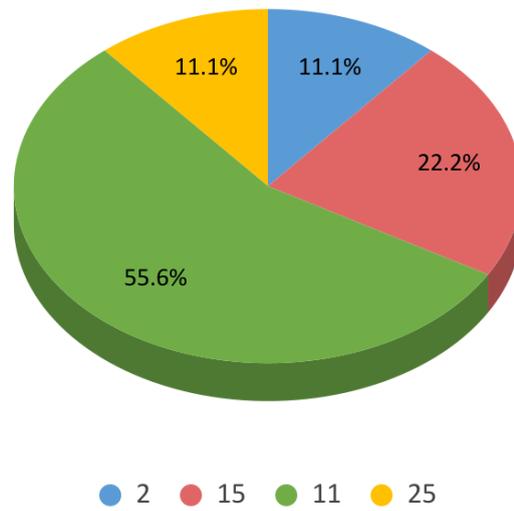
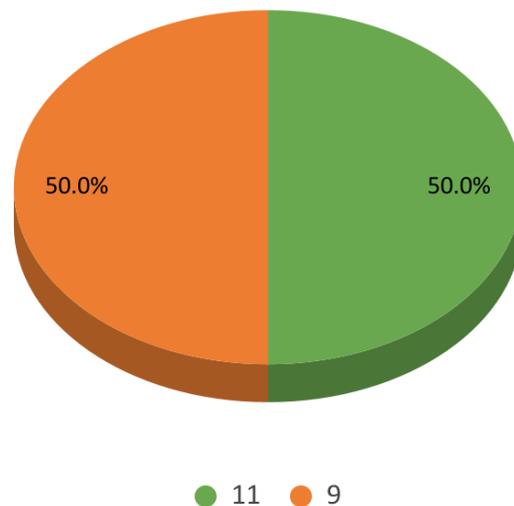


Figura 9. Distribución de las variantes patogénicas en el gen BRCA1 por exón



Dentro de las variantes analizadas hay tres que se encuentran reportadas en bases de datos (18) como posiblemente patogénicas (Tabla 3). Dos de estas variantes pertenecen al gen *BRCA2*, con una frecuencia genotípica de 1,02% cada una, y la restante al gen *BRCA1* con una frecuencia genotípica de 2,04%. Estas tres variantes son de tipo SNV y se encuentran en los exones 11 de *BRCA1* y *BRCA2*.

DISCUSIÓN

Se observó que la mayoría de las pacientes que formaron parte del estudio provienen de Montevideo. Esto se debe a que en el interior no hay laboratorios para realizar estudios oncogenéticos y por otro lado el acceso a los mismos en la capital del país es limitado desde el interior. Al mismo tiempo, se observó que la mayoría de los pacientes eran de instituciones privadas.

A partir del análisis anterior, se plantea debatir el acceso al estudio de las variantes genéticas desde los diferentes centros asistenciales. En nuestro país no existe cobertura asistencial para los estudios de oncogenética, debiendo el interesado afrontar el costo del estudio. Algunas instituciones públicas así como algún seguro privado lo cubre a solicitud del paciente. En el caso del Hospital de Clínicas el estudio es gratuito para sus usuarios o para usuarios del subsector público cuya institución no cubra el costo. Hasta el momento, la Unidad de Oncogenética del Hospital de Clínicas es la única institución del subsector público que ha desarrollado e implementado el test genético mediante un panel multigen aplicando tecnología NGS, donde a futuro se espera que tenga mayor acceso público.

Por otro lado, el diagnóstico de cáncer de mama en las pacientes del estudio fue en su mayoría entre los 30 y 39 años, lo cual es esperable, porque uno de los tantos puntos que hacen sospechar de una predisposición hereditaria al cáncer es que la edad de presentación del mismo sea antes de los 50 años.

Las variantes benignas de menor frecuencia estudiadas en las pacientes portadoras de cáncer de mama hereditario, se deberían estudiar a futuro para ver qué impacto tienen en la enfermedad ya sea como factor protector o no, a lo que algunas de las variantes benignas están presentes en la población sin dicha predisposición. Los datos de las variantes brindadas por el Institut Pasteur de Montevideo estudiados son de utilidad dado que brindan información genética de nuestra población pero presentan limitaciones, debido a que no es un estudio con diseño de caso-control con grupos pareados, y por otra parte faltan datos para corregir los mismos por factores que puedan estar sesgando, como la edad, sexo y la presencia o no de comorbilidad asociadas.

De las variantes patogénicas encontradas en las pacientes, no se encuentran variantes novedosas, siendo todas previamente reportadas. Esto no es llamativo, dado que el alcance

de nuestro estudio está limitado por diversos factores. Tanto el número limitado de pacientes como el blanco reducido de estudio, los exones de los genes *BRCA1* y *2*, limitan nuestras chances de nuevos hallazgos, que suelen darse en contextos de secuenciación de genomas completos en una cantidad del orden de miles de individuos. Por otra parte, si bien las pacientes presentaban todos los criterios de sospecha de una predisposición hereditaria al cáncer, el porcentaje de mutaciones en *BRCA 1* y *2* es reducido, lo que nos sugiere que es necesario buscar otros genes causantes de dicha predisposición. Actualmente la unidad de oncogenética del Hospital de Clínicas cuenta con un panel de 11 genes para realizar el estudio. Dentro de las mutaciones genéticas las más prevalentes fueron las deleciones e inserciones (indel), frente a las de tipo SNV y codón Stop, que estuvieron presentes pero en menor medida.

Se observó que en la población uruguaya es más prevalente las mutaciones del gen *BRCA2*, en comparación con otras poblaciones latinoamericanas, donde es más prevalente el *BRCA1*. (22) Las variantes genéticas analizadas presentan en su mayoría mutaciones en el exón 11 del gen *BRCA2*, el cual consiste en un extenso exón central que codifica para el 60% de las proteínas, las cuales son indispensables para la reparación del ADN (23)

Por otro lado, comparando las frecuencias del análisis de las variantes benignas y posiblemente patológicas en comparación con África, Europa, Latino América Nativa y Asia reportadas en la base de datos ClinVar, se pone de manifiesto que la población uruguaya no se comporta como en ninguna región, lo que es esperable dado que nuestra ancestría es tri-híbrida. El análisis de los datos contribuyó a conocer con más detalle la población uruguaya y ayudar a que en un futuro Uruguay pueda mejorar los protocolos para el asesoramiento, prevención, diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.

Frente al hallazgo de que las mutaciones en el gen *BRCA2* son más prevalentes en Uruguay, se plantea la necesidad de realizar un estudio que evalúe la incidencia que tiene en la población masculina. Dado que la mutación de dicho gen aumenta la probabilidad en el hombre de padecer la enfermedad en un 7%; en comparación con los hombres portadores de las mutaciones del gen *BRCA1* donde la probabilidad es del 1%. (13).

CONCLUSIONES

Las variantes genéticas analizadas presentan en su mayoría mutaciones en el exón 11 del gen BRCA2, lo cual ya fue reportado de forma similar por otros estudios realizados en Uruguay.

En los resultados de las variantes aportadas en los estudios de la población uruguaya, no se aportan nuevas mutaciones en los exones de BRCA 1 y 2.

Las inserciones y deleciones (indel) son el tipo de mutación más prevalente en nuestro estudio.

A partir del presente estudio, se hace hincapié en la importancia de detectar a las pacientes portadoras de una predisposición hereditaria, mediante un correcto reconocimiento de factores de riesgo clínicos, personales y familiares así como realizando el estudio genético. Para que de este modo Uruguay pueda implementar medidas de control dirigidas, logrando adecuados niveles de asesoramiento, prevención, diagnóstico y tratamiento individual del cáncer de mama hereditario.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Nora Artagaveytia de la Unidad de Oncogenética del Hospital de Clínicas, por su orientación y la visión clínica que aportó a este trabajo.

A la Lic. Lucía Brignoni, por su tiempo y dedicación.

A la Dra. Noelia Sylveira, por sus datos aportados.

Al Institut Pasteur de Montevideo, en especial a la Dra. Lucía Spangenberg por el análisis y los datos brindados.

A la coordinación del Ciclo de Metodología científica II, docentes y tutores por brindarnos la oportunidad de realizar esta investigación y contribuir en nuestra formación académica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. Cáncer de mama [Internet]. 2021 [cited 2021 Jun 6]. Available from:
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
2. Instituto Nacional del Cáncer. ¿ Qué es el cáncer ? Conjunto de enfermedades relacionadas. Nih [Internet]. 2015;1–10. Available from:
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
3. Barrios E, Garau M. Cáncer : magnitud del problema en el mundo y en Uruguay , aspectos epidemiológicos Cáncer : magnitude of the problem in the world and in. AnFaMed. 2017;4(1):9–46.
4. Varela DPS. Cáncer de mama [Internet]. Clin Quir Fac Med UdelaR. 2018 [cited 2021 June 6]. Available from:
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
5. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2020 [cited 2021 Jun 6]. Available from:
<https://gco.iarc.fr/today/home>
6. Organización Panamericana de la Salud. Oficina/Organización Mundial de la Salud. Epidemiología: Cáncer de mama en las Américas. 2018;1–2. Available from:
<http://data.worldbank.org/indicator/NY.GDP.PCAP.CD>
7. Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer. Situación Epidemiológica del Uruguay en relación al Cáncer. Regist Nac del Cáncer, Com Honor Lucha Contra el Cáncer [Internet]. 2019;1–61. Available from:
http://www.comisioncancer.org.uy/uc_513_1.html
8. Artagaveytia Cópola N. Predisposición hereditaria al cáncer Conceptos generales que el Oncólogo debe conocer. Revista de Oncología Médica (2017), n°2: 3-12.
9. Alberts, Bray, Hopkin, Johnson, Lewis, Raff, Roberts W. Introducción a la Biología Celular. 2011. 320–321 p.
10. Sans M. “RAZA”, ADSCRIPCIÓN ÉTNICA Y GENÉTICA EN URUGUAY. 2009;(2):163–74.
11. Bonilla C, Bertoni B, Hidalgo PC, Artagaveytia N, Ackermann E, Barreto I, et al. Breast cancer risk and genetic ancestry: A case-control study in Uruguay. BMC Women’s Health. 2015;15(1):1–10.

12. Hidalgo PC. Genetic Admixture Estimate in the Uruguayan Population Based on the Loci LDLR, GYPA, HBG, GC and D7S8. *Int J Hum Genet.* 2005;05(03):217–22.
13. Fernández Á, Reigosa A. Câncer De Mama Hereditário. *Comunidad y Salud* [online]. 2016, vol.14,n.1,pp.52-60.
14. Delgado, L., Fernández, G., Grotiuz, G., Cataldi, S., González, A., Lluveras, N., Heguaburu, M., Fresco, R., Lens, D., Sabini, G., & Muse, I. M. (2011). BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Uruguayan breast and breast-ovarian cancer families. Identification of novel mutations and unclassified variants. *Breast cancer research and treatment*, 128(1), 211–218.
15. Della Valle A, Acevedo C, Esperón P, Neffa F, Artagaveytia N, et al. Câncer de mama y ovario hereditario en Uruguay: resultados del screening para mutaciones en genes de susceptibilidad por secuenciación de nueva generación. *Rev Med Urug* 2017;33(2):97-102.
16. Malvasio S, Schiavone A, Camejo N, Castillo C, Artagaveytia N, Di Matteo C, et al. Características clínico-patológicas y evolución del câncer de mama en mujeres uruguayas jóvenes. *Rev Médica del Uruguay.* 2017;33(2):17–39.
17. Ensembl genome browser 104 [Internet]. [cited 2021 Nov 20]. Available from: <https://www.ensembl.org/index.html>
18. ClinVar [Internet]. [cited 2021 Jun 7]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
19. Mutation Taster [Internet]. [cited 2021 Nov 20]. Available from: <https://www.mutationtaster.org/>
20. PolyPhen-2: prediction of functional effects of human nsSNPs [Internet]. [cited 2021 Nov 20]. Available from: <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>
21. Epi Info™ | CDC [Internet]. [cited 2021 Nov 20]. Available from: <https://www.cdc.gov/EpiInfo/>
22. Zavala, V. A., Serrano-Gomez, S. J., Dutil, J., & Fejerman, L. (2019). Genetic Epidemiology of Breast Cancer in Latin America. *Genes*, 10(2), 153
23. Gama J. ANALYSIS OF BREAST CANCER-RELATED BRCA1 AND BRCA2 MUTATIONS TFG-Anexo III. 2016;15–20.