

Cáncer de mama y ovario hereditario en Uruguay: resultados del screening para mutaciones en genes de susceptibilidad por secuenciación de nueva generación

Dres. Adriana Della Valle, Carlos Acevedo, Patricia Esperón, Florencia Neffa, Nora Artagaveytia, Guianeya Santander, Mariana Menini, BQ. Carolina Vergara, BQ. Florencia Carusso, Lic. Marta Sapone

Grupo Colaborativo Uruguayo: Investigación de Afecciones Oncológicas Hereditarias.
Asociación Civil sin Fines de Lucro

Resumen

Introducción: el cáncer de mama representa la primera causa de muerte por cáncer en mujeres de Uruguay. Se estima que cerca de 7% son causados por mutaciones en el ácido desoxirribonucleico germinal. Los costos de la secuenciación genética han descendido dramáticamente gracias a la aparición de la secuenciación de nueva generación (NGS). El cambio tecnológico abrió una nueva etapa en el estudio del cáncer hereditario en nuestro país.

Objetivo: comunicar los resultados de la utilización de tecnología NGS y paneles multigénicos en familias uruguayas con alto riesgo de cáncer de mama hereditario.

Pacientes y método: se secuenciaron 135 familias de alto riesgo que provenían de la consulta de consejería genética que funciona en el Grupo Colaborativo Uruguayo: Investigación de afecciones oncológicas hereditarias. Cuando la historia familiar sugería claramente un síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario se efectuó secuenciación NGS exclusiva de los genes BRCA1 y 2; cuando el patrón familiar no configuraba claramente se utilizó un panel multigénico.

Resultados: se efectuó NGS exclusiva de genes BRCA1 y 2 en 62 familias y un panel multigénico en 73 familias. Se identificaron en total 29 mutaciones patógenas (21 en genes BRCA y 8 en otros genes). Dos de ellas fueron noveles y tres pueden considerarse recurrentes en la población uruguaya.

Conclusiones: este trabajo es el primero en Uruguay en reportar el resultado de esta nueva tecnología en el cáncer de mama hereditario. El hallazgo de 29 mutaciones patógenas nos ayuda a delinear el perfil mutacional de nuestro país.

Palabras clave: NEOPLASIAS DE LA MAMA
SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN
GENES BRCA1
GENES BRCA2

Key words: BREAST NEOPLASMS
NEXT GENERATION SEQUENCING
BRCA1 GENES
BRCA2 GENES

Introducción

El cáncer de mama representa la primera causa de muerte por cáncer en mujeres de Uruguay⁽¹⁾. Si bien la mayoría de los cánceres de mama son esporádicos, se estima que cerca de 7% son causados por mutaciones en el ácido desoxirribonucleico germinal⁽²⁾.

En los últimos cinco años los costos de la secuenciación genética han descendido dramáticamente en el mundo gracias a la aparición de la secuenciación de nueva generación (Next Generation Sequencing o NGS). Esta nueva tecnología logró que las plataformas, que secuenciaban 1.000 bases por día, multiplicaran su capacidad alcanzando la secuenciación de miles de millones de bases diarias⁽³⁾.

El cambio tecnológico abrió una nueva etapa en el estudio del cáncer de mama y ovario hereditario en nuestro país, ya que el screening de mutaciones que hace una década era inaccesible para la mayoría de la población, actualmente está siendo incorporado paulatinamente en la práctica médica de Uruguay.

Hasta el momento, la única experiencia local en secuenciación para genes de cáncer de mama hereditario data de la época pre NGS. En la misma, se secuenciaron 42 familias de alto riesgo para mutaciones BRCA 1 y 2, encontrando siete mutaciones patogénicas⁽⁴⁾.

El objetivo de nuestro estudio es comunicar los resultados de la utilización de la tecnología NGS y paneles multigénicos en 135 familias uruguayas con alto riesgo de cáncer de mama hereditario y comenzar a delinear el perfil uruguayo de mutaciones en cáncer de mama y ovario hereditario.

Pacientes y método

Todos los individuos provenían de la consulta de consejería genética que funciona en el Grupo Colaborativo Uruguayo: Investigación de afecciones oncológicas hereditarias.

Se obtuvieron muestras de sangre, mucosa yugal o saliva para los estudios subsiguientes.

En todos los casos se firmó un consentimiento informado antes de extraer la muestra y antes de entregar el resultado, agendando una segunda consulta para consejería postest.

La indicación de secuenciación para mutaciones relacionadas al cáncer de mama y ovario se efectuó siempre según el criterio de los consejeros genéticos del grupo y apoyándose en las pautas de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN)⁽⁵⁾ y en el modelo de riesgo BRCAPRO toda vez que se consideró necesario.

Cuando la historia familiar sugería claramente un síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario (HBOC por

su sigla en inglés) se indicó una secuenciación NGS exclusiva de los genes BRCA1 y 2 (laboratorio Genia, Montevideo, Uruguay, www.genia.com.uy).

Cuando el patrón familiar no configuraba claramente un síndrome HBOC, se utilizó un panel multigénico (Common Hereditary Cancers Panel, Invitae, San Francisco, Estados Unidos, www.invitae.com), o de color test, golor Genomics, San Francisco (www.color.com).

Estos paneles utilizan tecnología NGS para la secuenciación genética de entre 30 y 42 genes, incluyendo BRCA1 y 2, además de otros genes relacionados al cáncer de mama y ovario tipo hereditarios como: CHEK2, ATM, PALB2, PTEN, TP53, CDH1, RAD51C, BRIP1, STK11, entre otros.

En caso de ausencia de mutaciones puntuales todos los laboratorios realizan la búsqueda de grandes rearrreglos de los genes estudiados.

Toda vez que una variante patogénica o de significado incierto (VUS) fue identificada por NGS, se efectuó su confirmación por método de Sanger.

Los criterios utilizados para clasificar las variantes se realizó según las normas del Colegio Americano de Genética de Medicina Genómica (ACGM)⁽⁶⁾.

Resultados

Fueron analizadas 62 familias por NGS exclusiva de genes BRCA1 y 2, y 73 familias por panel multigénico. Del total de las 135 familias secuenciadas, solo tres eran de etnia judía ashkenazi.

Se identificaron en total 29 mutaciones patogénicas (21 en genes BRCA y 8 en otros genes) que se detallan en la tabla 1.

Entre las mutaciones patogénicas de BRCA1 y 2, dos de ellas fueron noveles (no reportadas anteriormente en bases de datos) y tres se repitieron en nuestra serie y pueden considerarse recurrentes en la población uruguaya (sin evidencias de cosanguinidad).

No encontramos mutaciones patogénicas en ninguna de las familias de etnia judía ashkenazi.

Adicionalmente se encontraron diez VUS: tres en BRCA1, tres en BRCA2, dos en CHEK2 y dos en TP53.

Discusión

Aproximadamente el 15% de las pacientes con cáncer de mama tiene antecedentes familiares cargados, pero solo en la mitad de ellas se identifican mutaciones responsables de la enfermedad^(2,7). En la otra mitad de los casos, incluso cuando la pesquisa de mutaciones es negativa, no debe considerarse que ese grupo de pacientes tenga un riesgo estándar de desarrollar la enfermedad⁽⁸⁾.

Es por ello que resulta de fundamental importancia la figura del consejero genético que es quien debe indicar este tipo de estudios genéticos y, aun más importan-

Tabla 1. Resumen de las mutaciones encontradas por gen y características de los casos índice.

#	Mutación	Gen	# mama	Promedio edad cáncer de mama
1	c.798_799delTT	BRCA1	2	26,5
2	c.798_799delTT	BRCA1	5	42,6
3	c.211 A>G	BRCA1	4	40,75
4	c.5464_5465insT	BRCA1	4	37,6
5	c.211A>G	BRCA1	3	36,6
6	c.213_12A>G	BRCA2	1	41
7	c.302-2A>G	BRCA1	1	42
8	c.1504_1508delTTAAA	BRCA1	1	48
9	c.211A>G	BRCA1	3	39,3
10	delección exón 14	BRCA1	2	31,5
11	c.5144_5147delTGTA	BRCA2	5	48
12	c.2806_2809delAAAC	BRCA2	3	54,3
13	c.2806_2809delAAAC	BRCA2	3	47,8
14	c.5946delT	BRCA2	0	NC
15	c.8878C>T	BRCA2	2	39,5
16	c.6645C>G	BRCA2	3	36,6
17	c.9808delG	BRCA2	1	31
18	c.2C>T	BRCA2	3	37,3
19	c.2979G>A	BRCA2	1	44
20	c.4222C>T	BRCA2	4	39
21	c.4889C>G	BRCA2	2	37,5
22	c.743G>A / c.1921C>T	p53/BARD1	1	27
23	c.375G>A	Tp53	5	35
24	c.818G>A	Tp53	2	38,1
25	c.473G>A	tp53	2	35,5
26	c.916C>T	Tp53	1	33
27	c.709C>T	RAD51C	1	45
28	c.846+1G>C	CHEK2	1	55

mama: número de tumores mamarios por familia; promedio edad mama: edad promedio de edad de aparición de cáncer de mama; NC: debut con cáncer de ovario.

te, establecer la pauta con que deberán ser manejados los pacientes luego de conocidos los resultados de la secuenciación.

Por este motivo, en las pacientes con historia familiar de cáncer de mama u ovario el médico de atención primaria no debe solicitar estudios genéticos, sino derivar el caso a uno de los centros especializados en oncogenética que trabajan en nuestro medio. En dicha consulta el consejero genético evaluará el riesgo específico del individuo y decidirá si corresponde o no la realización de un estudio genético para confirmar o descartar la sospecha clínica de cáncer hereditario.

En nuestra serie de 135 familias pesquisadas se encontraron mutaciones patógenas en 29 (21,5%), proporción que es consistente con la de la mayoría de las series de la literatura en que se estudian pacientes de alto riesgo⁽⁹⁾.

Entre las mutaciones en los genes BRCA, y siguiendo la tendencia de la mayoría de las series publicadas⁽¹⁰⁾, hubo una proporción balanceada entre BRCA1 y BRCA2 (48% vs 52%, respectivamente). La gran mayoría de las mutaciones halladas ya estaban reportadas en las bases de datos y fueron descritas fundamentalmente en poblaciones de Europa occidental y Europa del este, lo que se explica por la elevada proporción de ancestría europea (77%) que se ha descrito en nuestro país⁽¹¹⁾.

Dos mutaciones en el gen BRCA1 (c.1504_1508delTTAAA y delección completa del exón 14) fueron noveles (no reportadas previamente en bases de datos).

Tres mutaciones se presentaron como recurrentes en nuestra serie: dos en BRCA1 (c.211A>G, c.798_799delTT, c.2806_2809delAAAC) y una en BRCA2 (c.2806_2809delAAAC). Una cuarta mutación (BRCA1 c.5464_5465insT) fue descrita previamente en una serie de Uruguay⁽⁴⁾, por lo cual puede ser considerada como recurrente para nuestro país.

Una de ellas, la mutación en el gen BRCA1 c.211A>G (de alta prevalencia en la población de Galicia y descrita como la mutación recurrente más frecuente en una serie argentina⁽¹²⁾) se presentó tres veces en nuestra casuística.

Ninguna de las mutaciones de nuestra serie coincide con las reportadas en series de hispanoparlantes de Estados Unidos y México por Weitzel⁽¹³⁾, creador del panel multigénico HISPANEL. Este hecho reafirma el concepto de Solano⁽¹²⁾ y Ossa⁽¹⁴⁾ de que las mutaciones de las poblaciones latinoamericanas difieren de las encontradas en los hispanoparlantes de Norteamérica.

La ausencia de mutaciones fundacionales de la etnia judía ashkenazi se explica seguramente por la bajísima proporción de familias con este tipo de ancestría en nuestra cohorte.

Un hallazgo peculiar en nuestro estudio es el alto porcentaje de mutaciones patógenas en genes no BRCA. Solo las mutaciones en el gen TP53 representaron el 17% del total de mutaciones deletéreas encontradas. Este porcentaje triplica al descrito en la mayoría de las series de la literatura^(15,16) y resalta la importancia del estudio con panel multigénico, ya que de haberse secuenciado solo los genes BRCA1/2, estas mutaciones patógenas hubiesen pasado inadvertidas.

Conclusión

Este trabajo es el primero en Uruguay en reportar el resultado de la aplicación de la tecnología NGS y los paneles multigénicos en el estudio del cáncer de mama y ovario hereditario.

El hallazgo de 29 mutaciones patógenas en genes de susceptibilidad para cáncer de mama y ovario permite, junto a otras series locales, comenzar a delinear el perfil mutacional de nuestro país y sienta las bases para la futura formación de un registro nacional de mutaciones.

Conflicto de intereses: los autores formamos un grupo de estudio de enfermedades oncológicas hereditarias y la Fundación financia la realización de algunos estudios moleculares a familias. No percibimos sueldo u otra forma de bonificación alguna.

Agradecimientos

Al laboratorio Genia por haber brindado el servicio de NGS sin costo a gran parte de los pacientes analizados.

Abstract

Introduction: breast cancer is women's first cause of death in Uruguay. According to estimations, around 7% of cases result from germinal mutations by deoxyribonucleic acid. The cost of genetic sequencing has dramatically dropped thanks to the arrival of next-generation sequencing (NGS). This technological change opened a new era in the study of hereditary cancer in our country.

Objective: to communicate the results of using NGS technology and multigenic panels in Uruguayan families with high risk of hereditary breast cancer.

Method: 135 high risk families referred by the genetic counselling consultation that is provided at the Uruguayan Collaborative Group (Hereditary Oncological Conditions Research) were sequenced. When the family history clearly suggested hereditary breast and ovary cancer was a possibility, exclusive NGS sequencing was done for BRCA1 and BRCA2 genes; when the family pattern was not clear to this respect, multigenic panels were used.

Results: exclusive NGS sequencing for BRCA1 and BRCA2 genes was done in 62 families, and multigenic

panels were used in 73 families. 29 pathogenic mutations were identified (21 in BRCA genes and 8 in other genes). Two of them were new to the disease and three could be considered recurrent in the Uruguayan population.

Conclusions: this study is the first one in Uruguay to report the results of this new technology in hereditary breast cancer. The finding of 29 pathogenic mutations contributes to outlining the mutational profile of our country.

Resumo

Introdução: o câncer de mama é a primeira causa de morte por câncer em mulheres no Uruguai. Estima-se que aproximadamente 7% sejam causados por mutações no ácido desoxirribonucleico germinal. Os custos da sequenciação genética diminuíram dramaticamente graças ao aparecimento da sequenciação de nova geração (NGS). Esta nova tecnologia deu início a uma nueva etapa no estudo do câncer hereditário no nosso país.

Objetivo: comunicar os resultados da utilização de tecnologia NGS e painéis mutagênicos em famílias uruguaias com alto risco de câncer de mama hereditário.

Pacientes e método: 135 famílias de alto risco originárias do aconselhamento genético que funciona no *Grupo Colaborativo Uruguai: Pesquisa de afecções oncológicas hereditárias* foram sequenciadas. Quando a história familiar sugeria uma síndrome de câncer de mama e ovário hereditários fez-se a secuenciacao NGS exclusivamente dos genes BRCA1 e 2; quando o padrão familiar não era claro foi utilizado um painel multigênico.

Resultados: realizou-se NGS exclusivamente de genes BRCA1 e 2 em 62 famílias e um painel multigênico em 73 famílias. Foram identificadas 29 mutações patogênicas (21 em genes BRCA e 8 em outros genes). Duas eram novas e três podem ser consideradas como recorrentes na população uruguia.

Conclusões: este trabalho é o primeiro que apresenta os resultados desta nova tecnologia aplicada ao câncer de mama hereditário no Uruguai. O achado de 29 mutações patogênicas ajuda a definir o perfil mutacional do nosso país.

Bibliografía

1. **Uruguay. Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer.** Registro Nacional de Cáncer. V Atlas de mortalidad por cáncer en el Uruguay: período 2009-2013. Registro Nacional de Cáncer. Disponible en: http://www.comisioncancer.org.uy/categoria_53_1.html [Consulta: 14 abril 2016].
2. **Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD, Risch NJ.** The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. *Cancer* 1996; 77(11):2318-24.
3. **Meldrum C, Doyle MA, Tothill RW.** Next-generation sequencing for cancer diagnostics: a practical perspective. *Clin Biochem Rev* 2011; 32(4):177-95.
4. **Delgado L, Fernández G, Grotiuz G, Cataldi S, González A, Lluveras N, et al.** BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Uruguayan breast and breast-ovarian cancer families: identification of novel mutations and unclassified variants. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 128(1):211-8.
5. **United States. National Comprehensive Cancer Network.** NCCN guidelines® insights: genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian, version 2.2016. Washington, DC : NCCN, 2016. Disponible en : <https://www.nccn.org/> [Consulta: 23 marzo 2016].
6. **Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee.** Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17(5):405-24.
7. **Judkins T, Leclair B, Bowles K, Gutin N, Trost J, McCulloch J, et al.** Development and analytical validation of a 25-gene next generation sequencing panel that includes the BRCA1 and BRCA2 genes to assess hereditary cancer risk. *BMC Cancer* 2015; 15:215.
8. **Metcalfe KA, Finch A, Poll A, Horsman D, Kim-Sing C, Scott J, et al.** Breast cancer risks in women with a family history of breast or ovarian cancer who have tested negative for a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Br J Cancer* 2009; 100(2):421-5.
9. **Petrucelli N, Daly MB, Feldman GL.** BRCA1 and BRCA2 hereditary breast and ovarian cancer. [Updated 2013 Sep 26]. En: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, eds. *GeneReviews®*. Seattle (WA): University of Washington, 1993-2016.
10. **Peto J, Collins N, Barfoot R, Seal S, Warren W, Rahman N, et al.** Prevalence of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in patients with early-onset breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(11):943-9.
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 Womens Health* 2015; 15:11.
12. **Solano AR, Cardoso FC, Romano V, Perazzo F, Bas C, Recondo G, et al.** Spectrum of BRCA1/2 variants in 940 patients from Argentina including novel, deleterious and recurrent germline mutations: impact on healthcare and clinical practice. *Oncotarget* 2016 Jul 24. [Epub ahead of print].
13. **Villarreal-Garza C, Álvarez-Gómez RM, Pérez-Plasencia C, Herrera LA, Herzog J, Castillo D, et al.** Significant clinical impact of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Mexico. *Cancer* 2015; 121(3):372-8.
14. **Ossa CA, Torres D.** Founder and Recurrent Mutations in BRCA1 and BRCA2 genes in Latin American countries: state

- of the art and literature review. *Oncologist* 2016; 21(7): 832-9.
15. **Desmond A, Kurian AW, Gabree M, Mills MA, Anderson MJ, Kobayashi Y, et al.** Clinical Actionability of multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer risk assessment. *JAMA Oncol* 2015; 1(7):943-51.
16. **Kapoor NS, Curcio LD, Blakemore CA, Bremner AK, McFarland RE, West JG, et al.** Multigene panel testing detects equal rates of pathogenic BRCA1/2 mutations and has a higher diagnostic yield compared to limited BRCA1/2 Analysis Alone in Patients at Risk for Hereditary Breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2015; 22(10):3282-8.