

CÁNCER DE MAMA/OVARIO HEREDITARIO

Caso Clínico: Síndrome cáncer de mama/ovario hereditario

ORLAND DIEZ. Área de Genética Clínica y Molecular. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

Palabras clave: cáncer de mama/ovario hereditario, *BRCA1*, *BRCA2*.

DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO

Mujer afecta de cáncer de ovario a los 42 años que tras el tratamiento acude a la consulta de consejo genético debido a sus antecedentes familiares de cáncer: hermana diagnosticada de cáncer de mama a los 39 años, madre con cáncer de mama a los 54 años y una prima por vía materna diagnosticada de cáncer de mama a los 53 años. Además, presenta algunos casos de cáncer de próstata en ambas ramas de la familia (Figura 1).

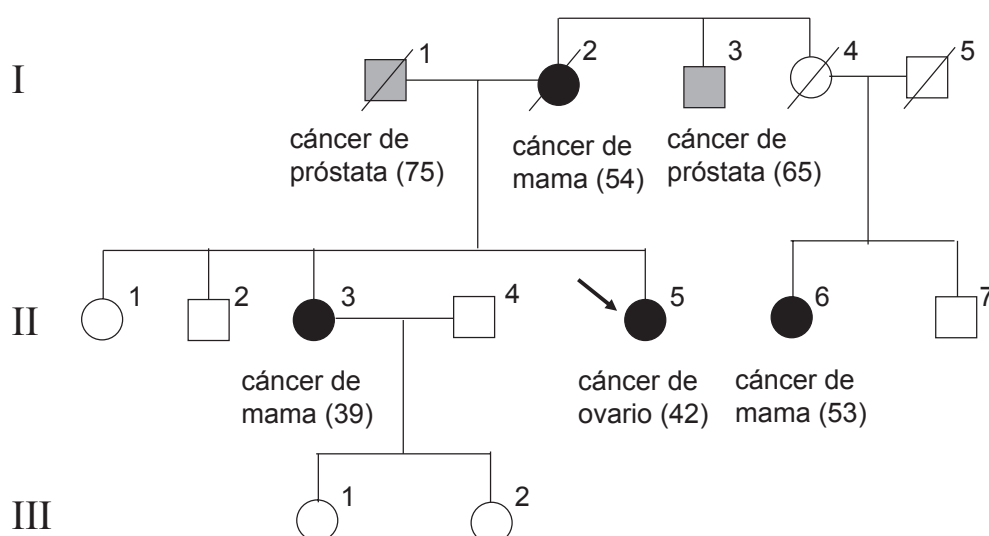


Figura 1. Árbol familiar de la probando. Se indican los tipos de cáncer y entre paréntesis la edad al diagnóstico.

SÍNDROME DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO

El cáncer de mama es la neoplasia más frecuente entre las mujeres del mundo occidental y la primera causa de muerte entre las mujeres de 35 a 64 años de edad. En el desarrollo de la enfermedad intervienen numerosos factores de riesgo ambientales y genéticos. Uno de los principales es la presencia de la enfermedad en familiares directos.

Las variantes genéticas causantes de cáncer son principalmente somáticas, debidas a carcinógenos o fallos ocurridos durante la división celular, por lo que la mayor parte de casos de cáncer de mama son esporádicos. Sin embargo, entre un 5 y un 10 % de los casos presentan un componente hereditario, atribuible a mutaciones heredadas de forma autosómica dominante en varios genes de susceptibilidad, principalmente los genes supresores de tumores *BRCA1* y *BRCA2*. Las alteraciones presentes en línea germinal (espermatozoides u ovocitos) pueden transmitirse a la descendencia causando la aparición de cáncer de mama o de ovario entre los miembros de una misma familia.

Cuando la alteración de una de las dos copias de un gen confiere ventajas de crecimiento a la célula éste se considera un *oncogén*. Contrariamente, cuando la carcinogénesis es el resultado de la inactivación de un gen, éste se considera un *gen supresor de tumores*. En este caso, deben estar alteradas ambas copias del gen para que éste pierda su función, generalmente consistente en la inhibición de la proliferación o en la preservación del genoma celular.

En los síndromes de cáncer hereditario, mayoritariamente debidos a mutaciones en genes supresores de tumores, estas alteraciones se transmiten desde el cigoto a todas las células somáticas del nuevo individuo (Figura 2), en cualquiera de las cuales puede producirse la inactivación del segundo alelo. Generalmente, la segunda alteración consiste en la pérdida del fragmento cromosómico que contiene el gen (pérdida alélica), aunque la segunda copia también puede inactivarse por metilación o por una mutación somática (muy infrecuente en el caso de *BRCA1* o *BRCA2*). Al estar ya alterada una de las dos copias del gen en todas las células, la probabilidad de que el gen se inactive aumenta extraordinariamente ya que sólo es necesario que mute el segundo alelo en cualquier célula somática. Por esta razón en estos individuos la aparición de cáncer es mucho más frecuente y precoz que en el resto de la población.

El gen *BRCA1* (OMIM 113705), localizado en el cromosoma 17, y el gen *BRCA2* (OMIM 600185) en el cromosoma 13 (Figura 3), son los dos principales genes de susceptibilidad al síndrome cáncer de mama y ovario hereditario (OMIM: 604370 y 612555). La proteína *BRCA1* interacciona con el DNA y con múltiples proteínas. Desempeña un papel fundamental en la reparación de las lesiones del DNA y actúa en múltiples procesos: transcripción de DNA, regulación del ciclo celular, ubiquitinización proteica, apoptosis, etc. La proteína *BRCA2* interacciona también con otras proteínas, especialmente Rad51 (proteína de reparación del DNA), y es necesaria para la recombinación homóloga, que conduce a la reparación del DNA. Ambos genes actúan en las vías de reparación del DNA y su inactivación origina inestabilidad genética, provocando indirectamente la aparición de un tumor por acumulación de mutaciones en otros genes reguladores directos del ciclo celular. Debido a sus funciones de mantenimiento de la integridad del genoma se consideran genes supresores de tumores.

MUTACIONES EN LÍNEA GERMINAL

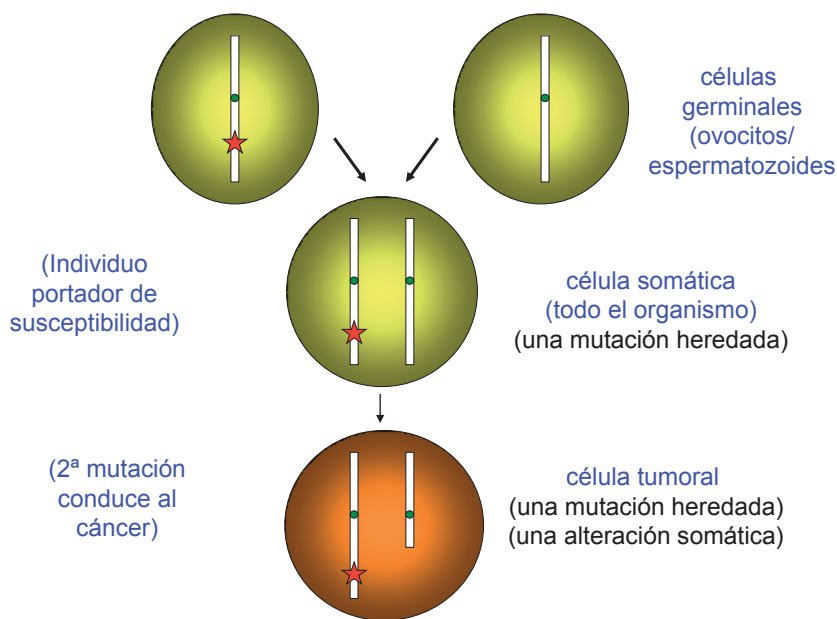
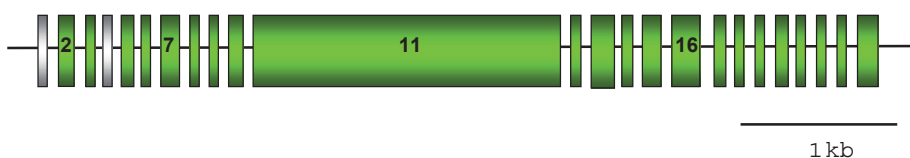


Figura 2. Las variantes genéticas hereditarias se encuentran en la línea germinal (espermatozoides u ovocitos) y se transmiten a partir del cigoto a todas y cada una de las células somáticas del nuevo individuo. Cuando se produce una alteración, en este caso somática, de la segunda copia del gen, éste pierde la función supresora de tumores y puede desarrollarse el cáncer.

BRCA1 (crom 17)



BRCA2 (crom 13)



Figura 3. Estructura de los genes BRCA1 y BRCA2. BRCA1 se compone de 5.592 nucleótidos repartidos en 24 exones (aunque dos de ellos no se traducen) a lo largo de 100 Kb de DNA genómico y genera una proteína de 1.863 aminoácidos. BRCA2 comprende 11.385 nucleótidos distribuidos a lo largo de 70 Kb de DNA genómico. Está compuesto por 27 exones, el primero de los cuales no se traduce, el transcrito es de 10-12 Kb y la proteína tiene 3.418 aminoácidos.

RIESGOS ASOCIADOS A LAS ALTERACIONES DE *BRCA1* Y *BRCA2*

Junto con la mutación se hereda una alta probabilidad o susceptibilidad a desarrollar cáncer, pero la penetrancia (porcentaje de individuos portadores que manifiestan la enfermedad) de ambos genes no es completa y varía debido a la heterogeneidad alélica (distintas mutaciones), así como a factores modificadores, tanto genéticos como medioambientales. Se estima que el riesgo aproximado de cáncer de mama a los 70 años es de un 65 % para mutaciones en *BRCA1* y de un 45 % para *BRCA2*. Los hombres, casi exclusivamente con mutaciones en *BRCA2*, tienen también un riesgo mayor de cáncer de mama. Por otra parte, el riesgo de cáncer de ovario es de un 40% para las mutaciones en *BRCA1* y un 15 % en *BRCA2*, muy superiores a los riesgos de la población general (12 % de mama y 1,4 % de ovario, aproximadamente). Adicionalmente, las mujeres con cáncer de mama y mutaciones en *BRCA1* o *BRCA2* tienen un riesgo del 40 % de desarrollar un segundo cáncer de mama a lo largo de su vida y hasta 10 veces más riesgo de desarrollar un cáncer de ovario, comparadas con mujeres no portadoras de mutación. Las alteraciones en alguno de estos dos genes aumentan en cierto grado el riesgo de cáncer de próstata y ligeramente el riesgo de cáncer de páncreas y otras neoplasias en dichas familias. El cálculo de los riesgos asociados es de extrema importancia para basar las decisiones clínicas posteriores y debería realizarse en cada población específica, considerándose los factores genéticos y ambientales propios.

IDENTIFICACIÓN CLÍNICA Y CRITERIOS DE SELECCIÓN

La complejidad y extrema laboriosidad del estudio de ambos genes y la escasa prevalencia de mutaciones en la población hacen inviable los análisis poblacionales. Por lo tanto, es necesaria la selección de mujeres y familias en las que existe una probabilidad razonable de detectar una alteración. No existen criterios de selección unánimes, pero todos incluyen los indicios de riesgo de predisposición heredada: número de casos de cáncer de mama y de ovario en la familia, edad precoz al diagnóstico, presencia de cáncer de mama bilateral o masculino, etc. El Cuadro 1 muestra un ejemplo de criterios para la indicación del estudio genético.

cáncer de mama u ovario en persona menor de 35 años, sin historia familiar
cáncer de mama en varón
cáncer de mama y ovario en la misma persona
cáncer de mama u ovario en, al menos 2 familiares, uno de ellos menor de 50 años
tres o más casos de cáncer de mama u ovario, independientemente de la edad

Cuadro 1. Criterios de selección para la indicación del estudio molecular de los genes *BRCA1* y *BRCA2* (Guía de Consejo Genético en Cáncer de mama y ovario hereditario de la Sociedad Española de Oncología Médica, SEOM).

Las características tumorales pueden sugerir la susceptibilidad heredada: los tumores de mama de portadoras de *BRCA1* suelen ser de alto grado, RE (receptor de estrógeno) negativo, RPg (receptor de progesterona) negativo y *HER2* (ERBB2; OMIM: 164870) negativo (tumores triple negativos) y se diagnostican a edades tempranas, comparados con los tumores esporádicos, en los que sólo un 20 % son triple negativos. Los tumores asociados a *BRCA2* son menos específicos y distinguibles de los esporádicos. Sin embargo, hoy por hoy, las características histopatológicas son insuficientes para identificar a las portadoras.

El indicador principal de susceptibilidad heredada es una historia familiar de cáncer, pero puede estar ausente en algunos casos. La transmisión intergeneracional puede no ser evidente en familias pequeñas, en casos de historias clínicas poco documentadas y debido a la penetrancia incompleta (individuos portadores pero no afectados en la actualidad). Obviamente, pueden aparecer nuevos casos de cáncer en la familia que modifiquen la futura valoración del riesgo. Es importante recordar que la mitad de las transmisiones de una mutación se realiza por vía paterna. Aunque los hombres raramente desarrollen cáncer de mama, debe recogerse siempre los antecedentes de ambas ramas de la familia.

Cuando la historia personal o familiar indica la posibilidad de una predisposición hereditaria, el análisis genético es de gran utilidad clínica. La identificación de una alteración tiene implicaciones importantes en el portador y en sus parientes. La predisposición (debida a la alteración en línea germinal) se hereda de forma autosómica dominante y cada familiar de primer grado de un portador (padres, hijos o hermanos) tiene el 50 % de probabilidades de ser portador. El análisis también es importante para los individuos ya afectados debido a la posibilidad de un nuevo tumor.

TIPO Y FRECUENCIA DE MUTACIONES

Hasta la fecha se han descrito miles de variantes distintas en *BRCA1* y *BRCA2*, muchas de ellas depositadas en bases de datos internacionales (BIC, LOVD, dbSNP, UMD, etc). Suelen consistir en pequeñas inserciones o deleciones que provocan un cambio en el marco de lectura, dando lugar a la aparición de un codón de parada prematuro cuya consecuencia es la ausencia o interrupción de la síntesis de la proteína. En otras ocasiones puede alterarse el proceso de eliminación de intrones (*splicing*) y generarse un transcrito anormal con resultados parecidos. Se conocen también deleciones o duplicaciones de grandes zonas de la secuencia del gen.

Son relativamente frecuentes las sustituciones de nucleótidos que causan el cambio de un aminoácido y que pueden o no alterar la función de la proteína. Para intentar averiguar el significado clínico de dichas variantes deben examinarse diversos aspectos: su frecuencia en población sana, su cosegregación con el cáncer en la familia (los afectados portan la variante) y su localización en un dominio potencialmente crítico para la función de la proteína. Debe evaluarse también si el aminoácido se ha sustituido por uno similar o muy distinto o si se localiza en una zona de la proteína que ha permanecido muy conservada durante la evolución filogenética (estudios *in silico*), lo que indicaría su importancia funcional. Una aportación importante procede de estudios funcionales, en los que se intenta generar una proteína con el cambio en cuestión

para observar si sus funciones se mantienen en un medio celular. Sin embargo, este tipo de estudios no es aplicable al diagnóstico común y forma parte de proyectos de investigación. Por último, ambos genes presentan numerosas variantes no patogénicas frecuentes ($\geq 1\%$) en la población general (polimorfismos).

En los dos genes las mutaciones se distribuyen a lo largo de toda la secuencia y aunque existe alguna evidencia de relación entre el genotipo (localización de la alteración) y el fenotipo (cáncer de mama o de ovario), no se confirma en todos los estudios. Aunque en general existe una gran heterogeneidad alélica (múltiples mutaciones distintas), algunas de ellas se presentan repetidamente en familias no emparentadas, probablemente con un ancestro común. Estas mutaciones “fundadoras” son características de determinadas poblaciones. Por ejemplo, el 2% de los judíos asquenazi son portadores de una de las tres mutaciones características de dicha población. La mutación c.68_69delAG (también denominada 185delAG) en el gen *BRCA1* aparece en la etnia judía y es una de las mutaciones recurrentes en población española, debido a la presencia histórica de judíos en la península Ibérica. Otras mutaciones frecuentes en *BRCA1* son: c.124delA (Cataluña), c.5123C>A (p.A1708E) (Castilla) o c.211A>G (Galicia). Frecuentes en *BRCA2* son: c.2808_2811del4 (común en Europa) y c.9026_9030del5 (zona mediterránea).

La frecuencia de las mutaciones varía según el fenotipo familiar. En familias con tres o más casos de cáncer de mama y presencia de cáncer de ovario, se identifica una mutación en aproximadamente un 40% de los casos. El cáncer de ovario es un indicador de probabilidad de mutación heredada (especialmente en *BRCA1*), incluso en familias con pocas mujeres afectas o una mujer afecta sin antecedentes. El hallazgo de mutaciones es menor en familias sólo con cáncer de mama, aunque aumenta con el número de casos (16 y 20% en familias con 2 o ≥ 3 casos, respectivamente). Cerca de un 40% de familias con cáncer de mama masculino presenta mutaciones en *BRCA2*. Pueden encontrarse también mutaciones en mujeres afectas sin antecedentes, aunque en baja frecuencia. En algunos casos pueden ser mutaciones *de novo*, (aparecidas en el cigoto).

TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE MUTACIONES

Aunque la existencia de mutaciones recurrentes, algunas con localización geográfica característica, permite simplificar el análisis en algunas ocasiones, generalmente debe realizarse el estudio completo de ambos genes. Su gran tamaño y la variedad de tipos y localizaciones de las mutaciones hacen que el análisis sea laborioso, complejo y basado en técnicas diversas y con gran capacidad de detección, tanto para pequeñas variaciones en la secuencia, como grandes alteraciones.

Existen varias técnicas con las que se realiza un cribado de los distintos segmentos en los que se fragmenta la secuencia de cada gen, como el análisis en gradiente de desnaturalización (DGGE/TGGE) o la cromatografía de alta resolución (dHPLC), entre otras, para identificar posteriormente la alteración concreta mediante la secuenciación de Sanger (capilar) del fragmento anómalo. También puede usarse la secuenciación de Sanger como procedimiento inicial. La capacidad de detección de la secuenciación es máxima para pequeñas variaciones de la

secuencia, pero no es útil para el hallazgo de grandes alteraciones o reordenamientos, por lo que el estudio debe complementarse con técnicas semicuantitativas que identifiquen la pérdida (deleciones) o ganancia (duplicaciones) de fragmentos del gen (MLPA, arrays, etc.). En la actualidad, las nuevas metodologías basadas en la secuenciación masiva, de implantación creciente en los laboratorios de diagnóstico, pueden aportar una capacidad de detección mucho más completa y eficiente.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Globalmente, hasta un 70 % de las familias estudiadas no presenta una variante patogénica en *BRCA1* o *BRCA2*, aunque el porcentaje varía según el grupo de riesgo.

La ausencia de detección de una mutación no implica su inexistencia. Se trata de un resultado no concluyente y el clínico deberá actuar exclusivamente en función de las características clínicas de la paciente y su familia. Este resultado puede deberse a una insuficiente capacidad de detección de las técnicas actuales. Además, normalmente en cada grupo familiar se analiza un solo individuo inicial (probando), siempre una persona con la enfermedad y, a ser posible, la de mayor afectación y menor edad al diagnóstico, puesto que es la de mayor probabilidad de ser portadora. También, debe tenerse en cuenta que, debido a la prevalencia del cáncer de mama en la población general, en algunas familias con cáncer de mama familiar existen mujeres con cáncer de mama no hereditario (fenocopias), que en caso de ser elegidas para el análisis ofrecerán un resultado negativo. Por otra parte, puede tratarse de un síndrome hereditario, pero debido a una mutación en otro gen de alta penetrancia o bien a combinaciones de genes de baja penetrancia, que combinados entre ellos y junto con factores ambientales causen agregaciones familiares de cáncer. Actualmente se conocen diversos genes de predisposición al cáncer de mama o de ovario con distintos grados de penetrancia (*TP53*, *ATM*, *PALB2*, *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D*, etc.), aunque con una frecuencia de mutaciones mucho menor que la de *BRCA1* y *BRCA2*. La secuenciación masiva permite abordar el análisis conjunto de paneles de genes y ofrecer una capacidad de detección y diagnóstico mucho más amplia, más rápida y a menor coste.

Cuando se ha identificado una variante claramente patogénica en el caso índice de la familia, puede procederse al análisis de dicha mutación en otros familiares que lo deseen y los resultados son de absoluta certeza. Un resultado de portador permite una mejor estimación del riesgo, esencial para poder tomar decisiones clínicas. Sin embargo, debe recordarse la existencia de factores modificadores genéticos, ambientales, de la historia reproductiva de la mujer, etc., capaces de alterar la predisposición de cada individuo generando diferencias de expresividad y penetrancia entre portadores, incluso familiares con una misma mutación. En cambio, si la mutación familiar previamente hallada en el caso índice no se detecta en el nuevo individuo, éste no ha heredado la predisposición y puede eludir intervenciones médicas innecesarias. Desaparece además la angustia personal y la posibilidad de transmisión a los hijos. Sin embargo, no deben abandonarse las medidas de prevención y detección precoz convencionales puesto que persiste el riesgo poblacional.

RECOMENDACIONES CLÍNICAS EN PORTADORAS DE MUTACIÓN EN LOS GENES *BRCA1* Y *BRCA2*

En los últimos años numerosos estudios han indicado las diferentes estrategias preventivas en mujeres portadoras de mutación, ya sea en prevención primaria, principalmente basada en quimioprevención y cirugías reductoras de riesgo, o en prevención secundaria, dirigidas a la detección precoz del cáncer para conseguir un mejor pronóstico de la enfermedad.

Detección precoz: Incluye mamografía y resonancia mamaria anuales, a partir de los 25-30 años, así como la determinación del marcador tumoral CA-125 y la ecografía transvaginal cada 6 o 12 meses a partir de los 30 años.

Cirugía reductora del riesgo: La mastectomía profiláctica bilateral reduce el riesgo de aparición de cáncer de mama en un 90 %, y constituye la opción más reductora del riesgo. Debe considerarse en mujeres cuyas mamografías son de difícil interpretación (mamas muy densas en mujeres jóvenes), con lesiones premalignas de alto riesgo o en mujeres que no se adhieran al seguimiento recomendado. Es una cirugía que debe individualizarse teniendo en cuenta sus implicaciones.

La salpingo-ooforectomía bilateral reduce el riesgo de cáncer de ovario, para el que no existe una forma eficaz de detección precoz, en más del 90 %. Si se realiza antes de la menopausia (especialmente antes de los 40 años de edad), reduce también el riesgo de cáncer de mama a la mitad. Es una de las opciones más recomendadas para mujeres a riesgo, especialmente cuando han cumplido sus expectativas de maternidad. El uso posterior de terapia hormonal sustitutiva no parece alterar la reducción del riesgo.

Quimioprevención: Es un área controvertida, pero el uso del Tamoxifen administrado durante 5 años parece ser efectivo en la reducción del riesgo de cáncer de mama (cerca del 40 %) en mujeres con antecedentes familiares o personales. Existen dudas acerca de cuál es el grado de riesgo que requiere el uso de este fármaco y a qué edad debe comenzarse su administración, así como sobre su indicación en mujeres con mutaciones en los genes *BRCA1* o *BRCA2*. Adicionalmente, el tratamiento con Tamoxifen reduce hasta la mitad el riesgo de cáncer de mama contralateral en portadoras de mutación que ya han desarrollado un cáncer de mama.

El uso de contraceptivos orales durante 6 o más años se ha asociado con una reducción de cerca del 60 % en el riesgo de cáncer de ovario en mujeres portadoras de mutación. Los resultados de los diferentes estudios con anticonceptivos y riesgo de cáncer de mama son controvertidos.

Tratamiento: Para el tratamiento localizado puede realizarse una cirugía conservadora, generalmente combinada con quimioterapia adyuvante, o bien cirugía profiláctica. Si la paciente opta por el tratamiento conservador deberán valorarse las diferentes estrategias para la prevención primaria o secundaria de segundas neoplasias en la mama. A pesar de la preocupación inicial de que pacientes portadoras de mutación pudieran tener una mayor sensibilidad a la radiación, no se ha observado un mayor riesgo de efectos secundarios asociados a la radioterapia complementaria a la tumorectomía.

Para el tratamiento sistémico la mayoría de pacientes con CM/CO portadoras de mutación reciben quimioterapia, generalmente basada en agentes que dañen el ADN, en particular aquellos que inducen roturas en la doble cadena, como los derivados del platino. La pérdida de función de los genes *BRCA1/2* en las células malignas se asocia a una mayor sensibilidad a dichos fármacos.

Existen también nuevos agentes con una acción distinta a la de la quimioterapia convencional y específicos para determinadas alteraciones genéticas. Algunos de ellos actúan sobre vías de reparación del ADN dañado. Por ejemplo, para la reparación de roturas de cadenas simples de DNA se requiere la actuación de la enzima poli [ADP-ribosa] polimerasa (PARP). Si se inhibe esta enzima las roturas progresan a roturas de cadena doble, que deberán repararse mediante la vía de recombinación homóloga. En células tumorales con mutaciones (una germinal y una somática) en *BRCA1* o *BRCA2*, esta vía está inactivada y por lo tanto, se acumulan las alteraciones en el DNA que conducen a la muerte celular (letalidad sintética). Esta terapia es más selectiva puesto que las células sanas (solamente con una mutación germinal) siguen presentando la vía de recombinación homóloga funcional y no sufren los efectos de los inhibidores de PARP. Actualmente, se están desarrollando clínicamente diversos inhibidores de PARP para el tratamiento del cáncer de mama y de ovario en distintas etapas de la enfermedad.

RECOMENDACIONES CLÍNICAS EN MUJERES DE FAMILIAS EN LAS QUE NO SE HA DETECTADO UNA MUTACIÓN

Las recomendaciones clínicas en mujeres de familias en las que no se ha detectado ninguna mutación dependen de las características personales y familiares. Cuando existen numerosos factores asociados a riesgo (alto número de casos de CM, presencia de CO, CM en varones, otros tumores relacionados con *BRCA1/2*) el manejo clínico de los individuos afectados es similar al de portadores de mutación. No está tan claro el manejo óptimo de las pacientes no afectas de cáncer en estas familias, ya que podrían o no haber heredado la predisposición a la enfermedad. Las mujeres pertenecientes a familias con solo CM presentan una menor probabilidad de mutación. En este caso se recomiendan las prácticas de detección precoz (autoexploración mamaria, exploración clínica, mamografía anual a edades jóvenes).

ASESORAMIENTO GENÉTICO Y ASPECTOS PSICOLÓGICOS Y ÉTICOS

Debido a la complejidad clínica del síndrome, al requerimiento de considerable información de antecedentes familiares y personales y a la laboriosidad y complejidad del análisis molecular, estos estudios deberían realizarse en centros que dispongan de un equipo profesional multidisciplinario. El proceso de asesoramiento comprende una sesión informativa sobre los riesgos de cáncer propios y de transmisión a los hijos, la posibilidad del análisis genético y la variedad de resultados posibles, las opciones y limitaciones clínicas y terapéuticas posteriores al análisis, etc. Debe ofrecerse también información acerca de las limitaciones y contratiempos que acompañan al proceso y respetarse el derecho a rechazarlo. Solamente con el previo consentimiento se procede al análisis genético. En ausencia de un beneficio anticipado para niños

o adolescentes, se recomienda posponer el análisis hasta que el individuo pueda tomar sus propias decisiones en la edad adulta. Una vez conocido el resultado, se discuten las pautas clínicas de actuación y las repercusiones familiares. En caso de existir una mutación, es el propio probando quien debe comunicarlo a sus parientes. Toda la información debe tratarse de forma confidencial y privada. Deben discutirse las dudas acerca del riesgo de discriminación social o laboral, así como de alteraciones psicológicas. Aunque, generalmente, se observa una disminución de la ansiedad una vez conocido el resultado del análisis, cualquiera que sea éste, debe existir la capacidad de proporcionar ayuda psicológica a los individuos que pueden necesitarla.

RESULTADO DEL CASO CLÍNICO

Los casos de cáncer de mama o de ovario presentes en la familia indican una sospecha de predisposición genética. La mujer que acude a la consulta es un caso índice adecuado para estudio, puesto que ha presentado cáncer de ovario a edad joven (Figura 1).

Se solicita el análisis de DNA extraído de leucocitos de sangre periférica. El análisis se realiza amplificando mediante PCR y secuenciado posteriormente por el método Sanger la secuencia genómica de ambos genes, comprendiendo todas las zonas traducibles de cada gen (exones) y las zonas intrónicas flanqueantes. Mediante este procedimiento, además de múltiples variantes no patogénicas se detecta la variante c.7617+1G>A localizada en el intrón 15 del gen *BRCA2* (Figura 4). Dicha variante no generaría aparentemente ningún cambio en la proteína correspondiente al hallarse en una zona intrónica, no traducible a proteína. Sin embargo, las variantes con localizaciones próximas a las zonas exón-intrón (zonas de consenso donadoras o aceptoras de *splicing*) pueden alterar el proceso de *splicing* y generar modificaciones en la transcripción del gen. La variante identificada se halla a +1 nucleótido del intrón 15 y por lo tanto podría tener un efecto sobre el *splicing*, que debería verificarse examinando el cDNA.

El estudio de cDNA se realiza mediante la extracción del RNA de leucocitos de sangre periférica y su posterior conversión a cDNA mediante una enzima retrotranscriptasa. El cDNA contiene la secuencia del gen correspondiente solamente a los exones, ya que se han eliminado las zonas intrónicas. Posteriormente, se amplifica el cDNA mediante cebadores situados en los exones 14 y 16, abarcando la zona en la que se ha detectado la variante. Los fragmentos obtenidos se separan mediante una electroforesis en agarosa y la aparición de dos fragmentos de distinto tamaño (Figura 5) indica la existencia de dos transcritos distintos. La secuenciación de los fragmentos obtenidos en cDNA permite observar el efecto de la variante, que consiste en la pérdida del exón 15 completo del alelo afectado (Figura 6). Puesto que el exón 15 está formado por un número de nucleótidos no múltiplo de tres, se pierde el marco de lectura y aparece un codón de terminación prematuro. Por lo tanto, el alelo con la variante c.7617+1G>A causa la alteración del *splicing* y la aparición de un codón de parada que generará o bien un mRNA inestable o la síntesis alterada de la proteína correspondiente (p.Asp2479AlafsX8).

El resultado del estudio indica que la paciente presenta uno de los alelos del gen *BRCA2* no funcional en la línea germinal y consecuentemente en todas las células de su organismo. El desarrollo del cáncer se ha producido muy probablemente tras la alteración somática del se-

gundo alelo en células del epitelio ovárico. Una vez identificada la variante y establecido su efecto patogénico, puede ofrecerse el estudio predictivo a todos los parientes de la familia, sanos o afectados.

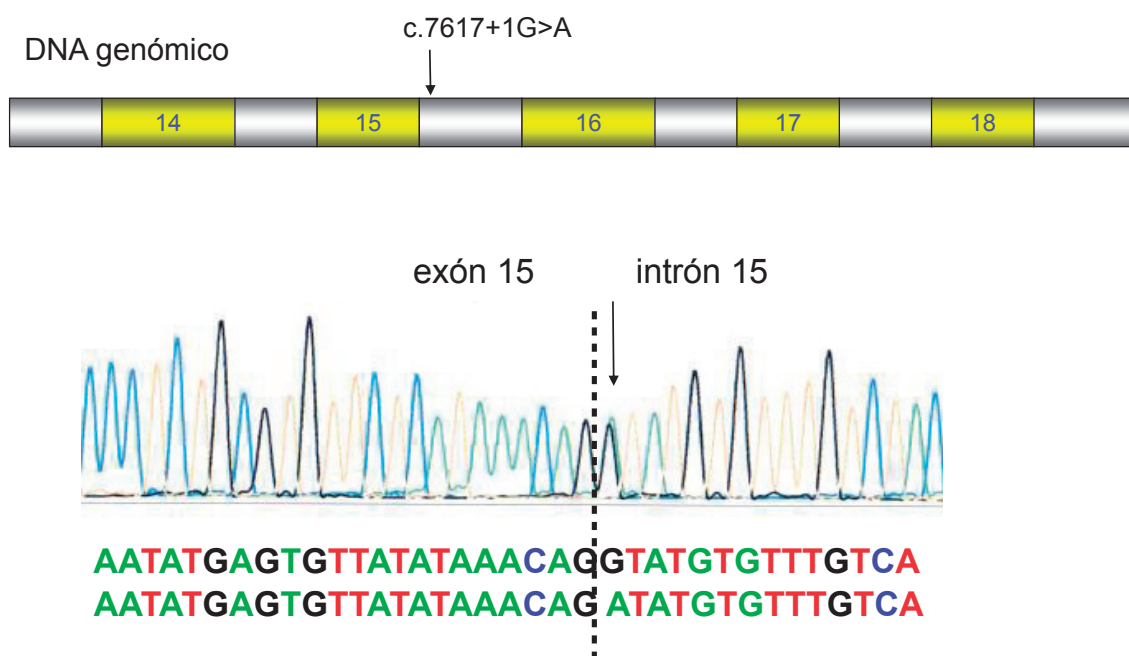


Figura 4. Resultado de la secuenciación del DNA genómico. En el intrón 15 del gen BRCA2 se ha identificado la variante c.7617+1G>A en heterocigosis.

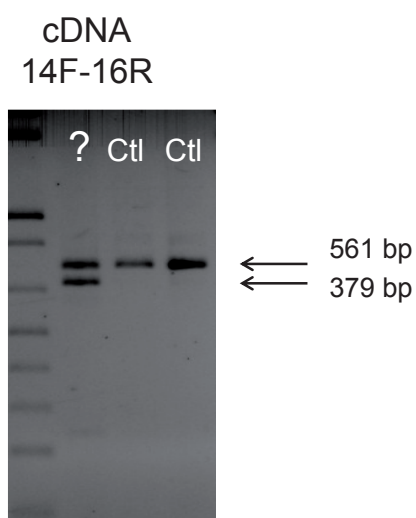


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa de los fragmentos de cDNA amplificados desde el exón 14 al exón 16 del gen, correspondientes a la probando (?) y a dos muestras control (Ctl).

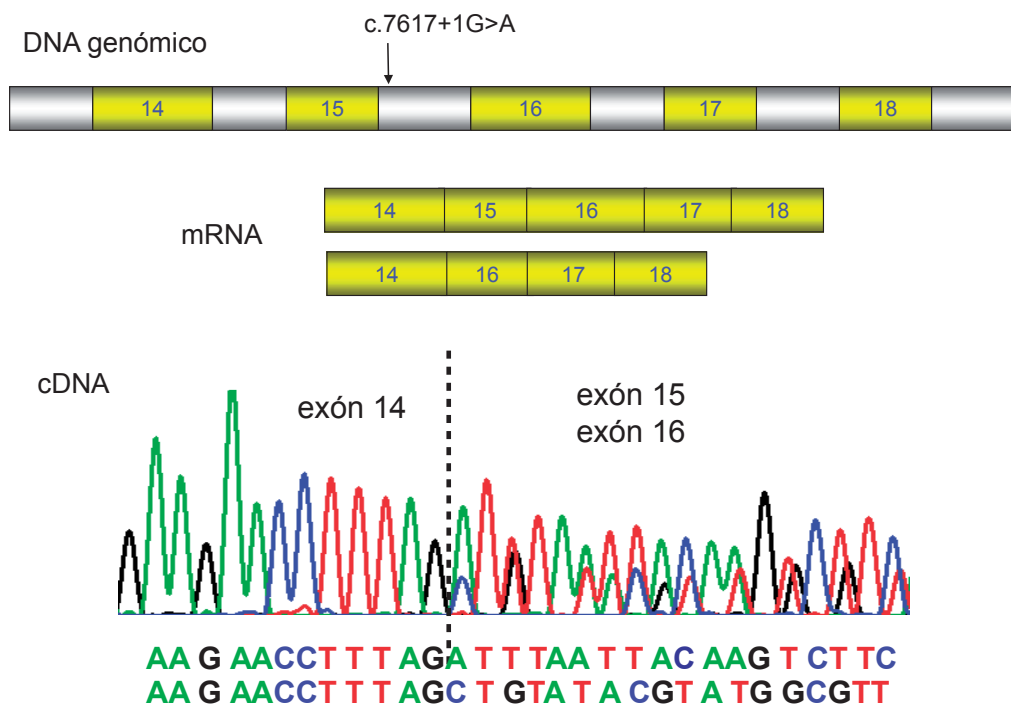


Figura 6. Secuenciación de los fragmentos de cDNA. Se observa en heterocigosis la delección del exón 15 debida a la alteración del splicing causada por el cambio c.7617+1G>A.

RESUMEN

Entre un 5 y un 10 % de todos los casos de cáncer de mama son hereditarios, debidos a mutaciones heredadas de forma autosómica dominante, principalmente en los genes supresores de tumores *BRCA1* y *BRCA2*. Las mutaciones germinales se transmiten a todas de las células somáticas del nuevo individuo, en las que se altera la segunda copia del gen. Las mutaciones en ambos genes elevan muy considerablemente el riesgo de cáncer de mama o de ovario en portadoras. Los criterios de selección de pacientes o familias para el estudio molecular incluyen el número de casos de cáncer de mama y de ovario en la familia, una edad precoz al diagnóstico o la presencia de cáncer de mama bilateral o masculino. Se conocen múltiples alteraciones distintas en *BRCA1* y *BRCA2* (pequeñas substituciones, inserciones o delecciones o grandes reordenamientos). El diagnóstico molecular identifica individuos, tanto sanos como ya afectados, que pueden beneficiarse de opciones médicas específicas para su alto riesgo heredado y que suelen consistir en detección precoz, cirugía profiláctica, quimioprevención y tratamientos específicos.

BIBLIOGRAFIA

- Meindl A, Ditsch N, Kast K, Rhiem K, Schmutzler RK. Hereditary breast and ovarian cancer: new genes, new treatments, new concepts. Dtsch Arztebl Int 2011;108:323-30.

-Mackay J, Szecsei CM. Genetic Counselling for predisposition to ovarian and breast cancer. *Ann Oncol* 2010;21 Suppl 7:vii334-8.

-Meaney-Delman D, Bellcross CA. Hereditary breast/ovarian cancer syndrome: a primer for obstetricians/gynecologists.. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2013;40:475-512.

-Burgess M, Puhalla S. BRCA1/2-Mutation Related and Sporadic Breast and Ovarian Cancers: More Alike than Different. *Front Oncol* 2014;4:19.

-Kobayashi H, Ohno S, Sasaki Y, Matsuura M. Hereditary breast and ovarian cancer susceptibility genes. *Oncol Rep* 2013;30:1019-29.

-Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int* 2013;2013:747318.

-Pal T, Vadaparampil ST. Genetic risk assessments in individuals at high risk for inherited breast cancer in the breast oncology care setting. *Cancer Control* 2010;19:255-66.

-Drohan B, Roche CA, Cusack JC Jr, Hughes KS. Hereditary breast and ovarian cancer and other hereditary syndromes: using technology to identify carriers. *Ann Surg Oncol* 2012;19:1732-7.

-Díez O. Síndrome de cáncer de mama/ovario hereditario y susceptibilidad genética al cáncer de mama. Aspectos moleculares, en "Cáncer hereditario". 2ª Ed. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Madrid: Dispublic S.L.; 2010. p. 313-324.

LINKS A PÁGINAS WEB

- GeneTests: www.genetests.org

- GeneReviews™: www.ncbi.nlm.nih.gov/books

- Breast Cancer Information Core (BIC): www.research.nhgri.nih.gov/bic/

- <http://www.lovd.nl/3.0/home>

- <http://www.umd.be/>

FORMACIÓN CONTINUADA EN GENÉTICA COMISION DE GENETICA MOLECULAR

Josep Oriola Ambrós, Ana Mª Sánchez de Abajo, Atocha Romero (*coordinadora del curso*), Begoña Ezquieta, Carmen Cañadas, Concha Alonso, Cristina Torreira Banzas, Jesús Molano, María Arruebo Muñio, María Santamaría González, Orland Díez, Pilar Carrasco Salas

ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

M. Rodríguez (*presidente*), D. Balsells, R. Deulofeu, M. Gassó, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, MC. Villà

ISSN 1887-6463 - Octubre 2014 (recibido para su publicación Septiembre 2014)