

# Nuevas Tecnologías para el Diagnóstico Molecular en Cáncer Hereditario

*Círculo Médico de Rosario  
19 de noviembre de 2020*



**DRA. NADIA CAMBADOS**

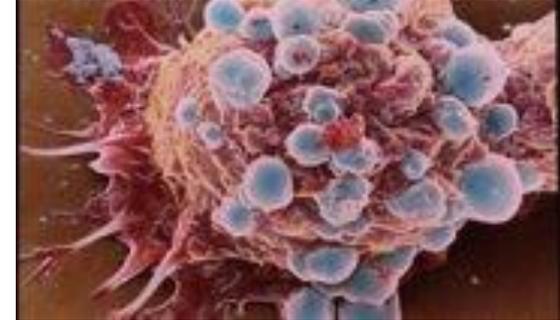
Especialista en Oncología

[nadia.cambados@heritas.com.ar](mailto:nadia.cambados@heritas.com.ar)

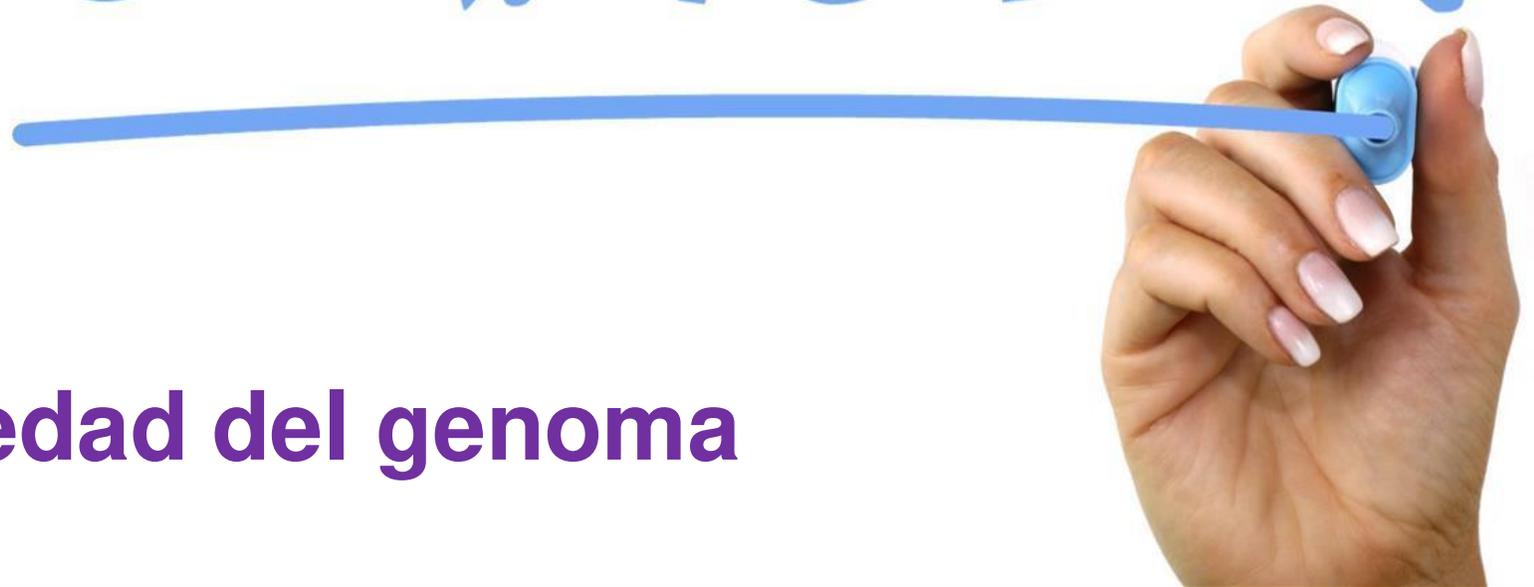


# Programa

- **Introducción:**
  - ✓ El cáncer como enfermedad del genoma
  - ✓ Etiología del cáncer
  - ✓ Heterogeneidad genética (*Genetic Overlapp*)
- **Síndrome de Cáncer Hereditario**
  - ✓ Ejemplo 1: Mama y Ovario
  - ✓ " Ejemplo 2: CCR
- **Aplicación de tecnologías de secuenciación masiva de última generación (NGS).**
  - ✓ Análisis de variantes obtenidas (ACMG)
  - ✓ CNVs
  - ✓ Generación de reporte
  - ✓ Casos clínicos



# CANCER



**Es una enfermedad del genoma**

# ¿Qué tipo de mutaciones pueden ocurrir?

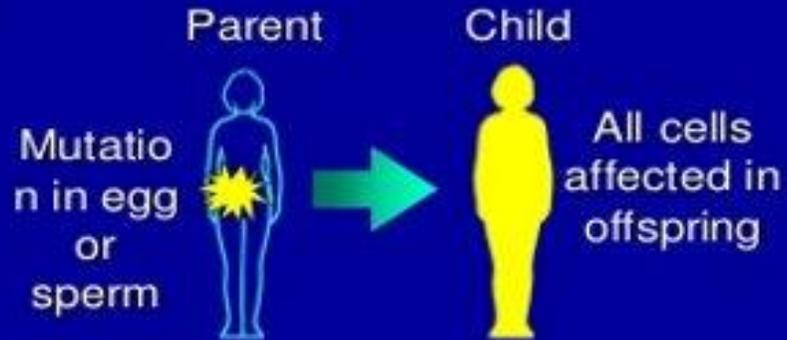
Frecuencias alélicas

50% a 100%



DATOS

## Germline mutations



- | Present in egg or sperm
- | Are heritable
- | Cause hereditary cancer syndromes

## Somatic mutations



- | Occur in nongermline tissues
- | Are nonheritable
- | Later onset

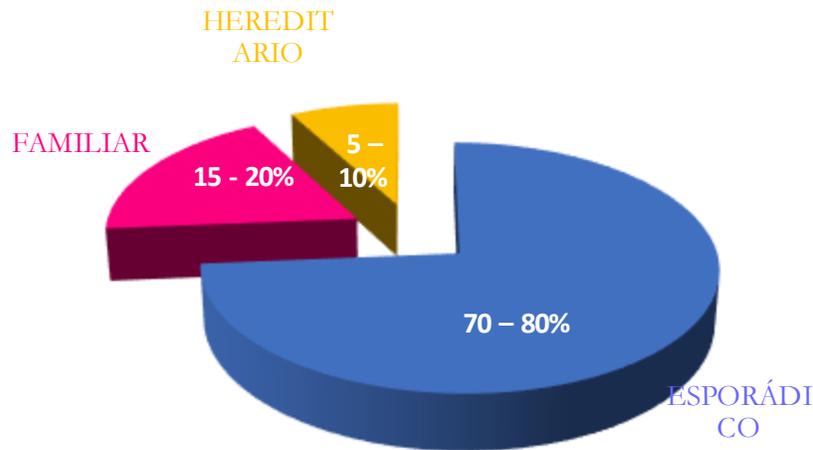
Frecuencias alélicas

0.1% a 20%

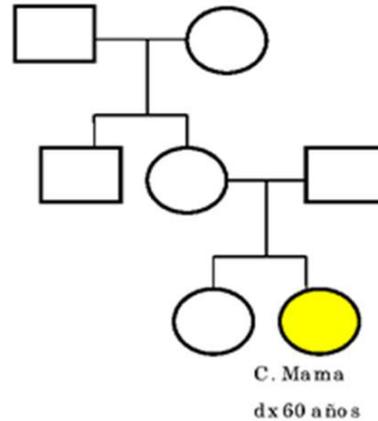


DATOS

# El Cáncer es por definición una enfermedad genética pero no necesariamente es hereditario

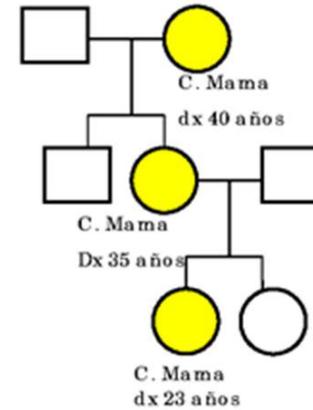


### Cáncer esporádico



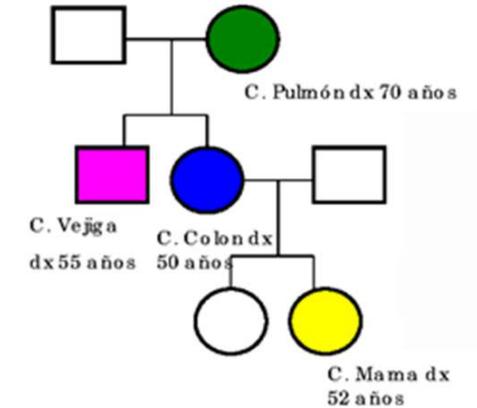
- Único caso en la familia
- Edad de aparición avanzada

### Cáncer hereditario



- Múltiples casos del mismo tipo de cáncer
- Herencia vertical: autosómica dominante

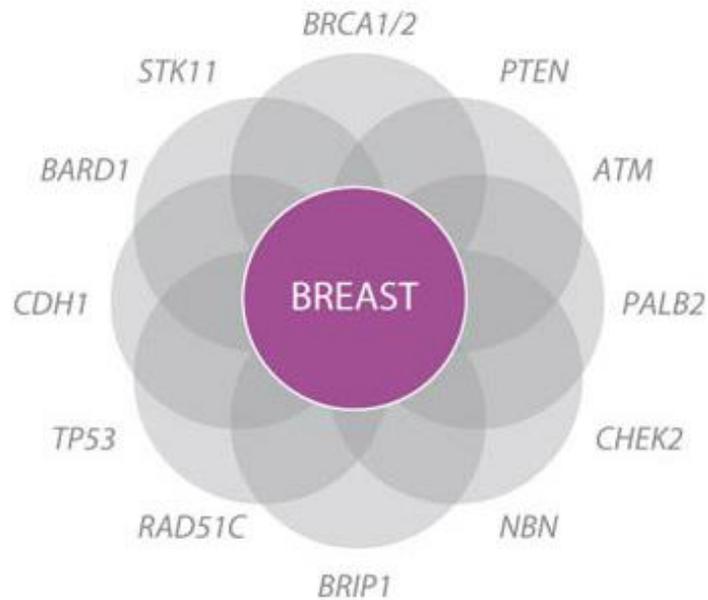
### Cáncer Familiar



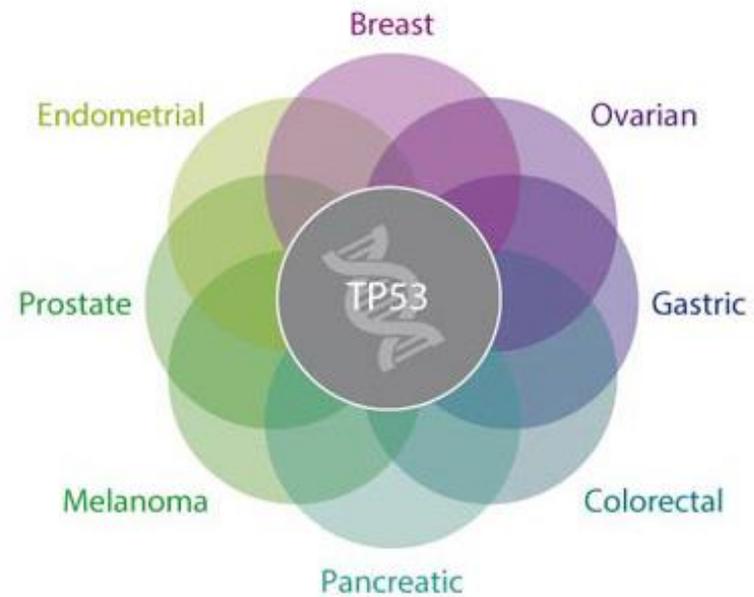
- Varios miembros afectados con múltiples neoplasias en diferentes generaciones

Sólo entre el **5-10%** de los casos, el cáncer se origina a partir de mutaciones heredadas

## Genetic Overlap

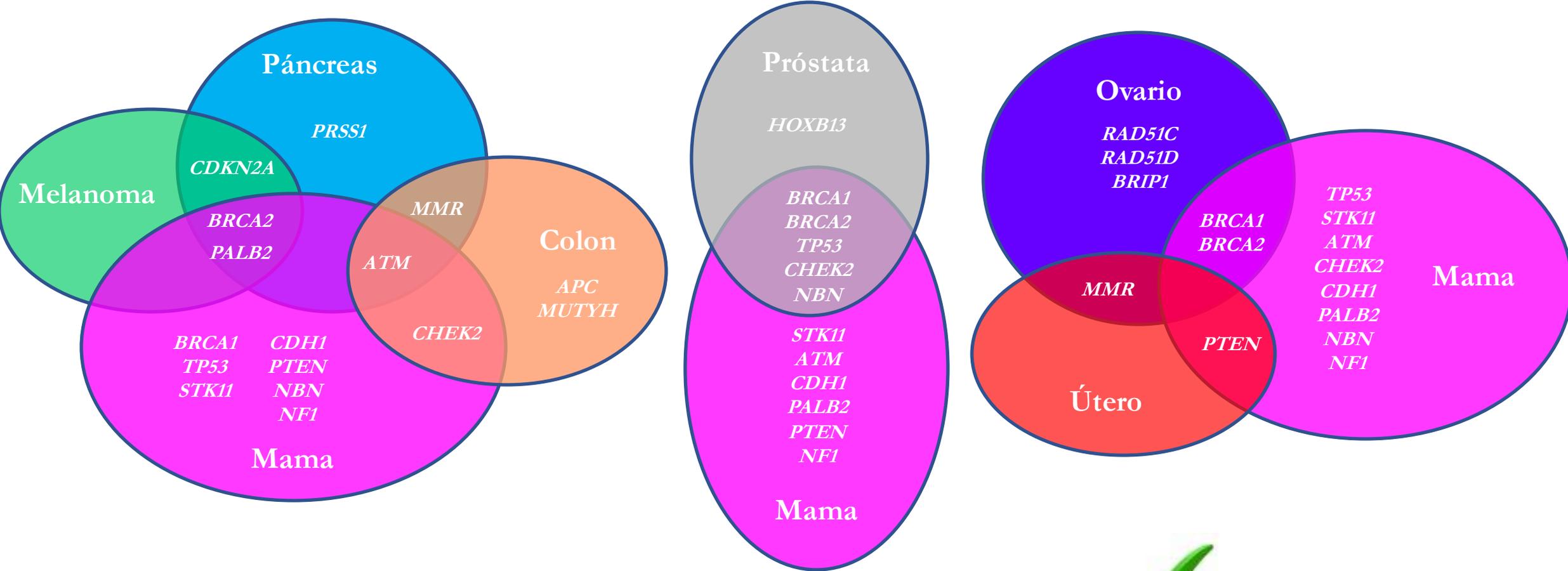


Multiple genes can increase the risk of a single cancer



Multiple cancers can be associated with a single gene

# Genetic Overlap



NGS DE PANELES MULTIGÉNICOS



# Asesoramiento Genético

**Proceso de comunicación que trata con los problemas asociados con la aparición, o con el riesgo de aparición, de una enfermedad genética en una familia**



National  
Comprehensive  
Cancer  
Network®

**NCCN Guidelines Version 1.2021**

**Breast, Ovarian, and/or Pancreatic Cancer Genetic Assessment**

[NCCN Guidelines Index](#)

[Table of Contents](#)

[Discussion](#)

## PRINCIPLES OF CANCER RISK ASSESSMENT AND COUNSELING

- The decision to offer genetic testing involves three related stages: 1) pre-test counseling done prior to ordering testing; 2) consideration of the most appropriate tests to order; and 3) post-test counseling done when results are disclosed.<sup>1-5</sup> It is recommended that a genetic counselor, medical geneticist, oncologist, surgeon, oncology nurse, or other health professional with expertise and experience in cancer genetics be involved at each stage whenever possible. Testing should be considered in appropriate high-risk individuals where it is likely to impact the risk management and/or treatment of the tested individuals and/or their at-risk family members.

### Pre-test counseling includes the following elements:

- Evaluate patient's needs and concerns regarding:
  - Knowledge of genetic testing for cancer risk, including benefits, risks, and limitations
  - Goals for cancer family risk assessment
- Detailed family history including:
  - Collection of a comprehensive family history
    - ◊ Assessing family history; close blood relatives include first-, second-, and third-degree relatives on each side of the family, particularly around individuals with a diagnosis of cancer ([See EVAL-B](#))
    - ◊ Types of cancer, bilaterality, age at diagnosis, subtype, and pathology report confirmation
    - ◊ Ethnicity (specifically Ashkenazi Jewish ancestry)
- Detailed medical and surgical history including:
  - Documentation of prior genetic testing results for patients and their family members
  - Personal cancer history (eg, age, histology, laterality)
  - Pathology reports of primary cancers and/or benign lesions (eg, breast biopsies)
  - Carcinogen exposure (eg, history of radiation therapy)
  - Reproductive history
  - Hormone or oral contraceptive use
  - History of risk-reducing surgeries
- Focused physical exam (conducted by qualified clinician) when indicated:
  - CS/PHTS specific: dermatologic,<sup>a</sup> including oral mucosa, head circumference, and thyroid (enlarged or nodular on palpation)
- Generate a differential diagnosis and educating the patient on inheritance patterns, penetrance, variable expressivity, and the possibility of genetic heterogeneity
- Prepare for the possible outcomes of testing, including positive (pathogenic, likely pathogenic), true negative and uninformative negative, uncertain variants, and mosaic results
- Obtain written informed consent, and documenting the informed consent in the patient's medical record
- Discuss plan for results disclosure when appropriate, including the possibility of the patient consenting to Release of Information of test results to a close relative or spouse when results are released.
- Discuss possible management options if a mutation is identified (enhanced surveillance, risk-reducing agents, and risk-reducing surgery)
- Advise about possible inherited cancer risk to relatives, options for risk assessment, testing, and management.
- Cost of genetic testing
- Current legislation regarding genetic discrimination and the privacy of genetic information

[References on  
EVAL-A 6 of 6](#)

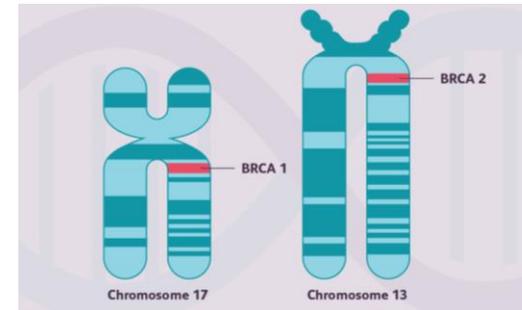
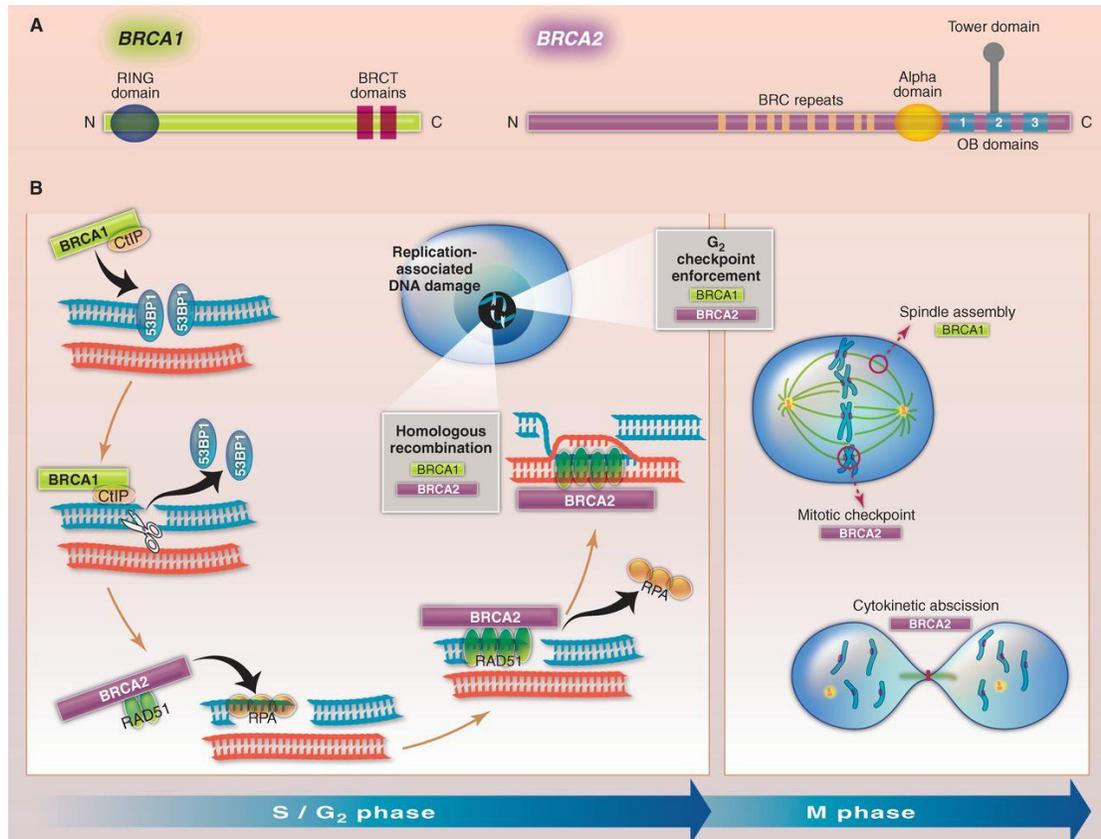
**IMPORTANT**

A hand holding a pink awareness ribbon against a wooden background. The ribbon is looped around the hand and extends across the frame. The text is overlaid on the ribbon and hand.

# Síndrome de Cáncer Hereditario de Mama y Ovario (SCHMO)

# Genes *BRCA1* y *BRCA2*

## Estructura y función.



- Codifican para proteínas involucradas en la supresión tumoral
- *BRCA1* se encuentra involucrado tanto en la reparación del ADN, como en la regulación de puntos de control del ciclo celular, en respuesta al daño en el ADN.
- *BRCA2* participa en la reparación de rupturas de ADN doble cadena.

## Genes *BRCA1* y *BRCA2*

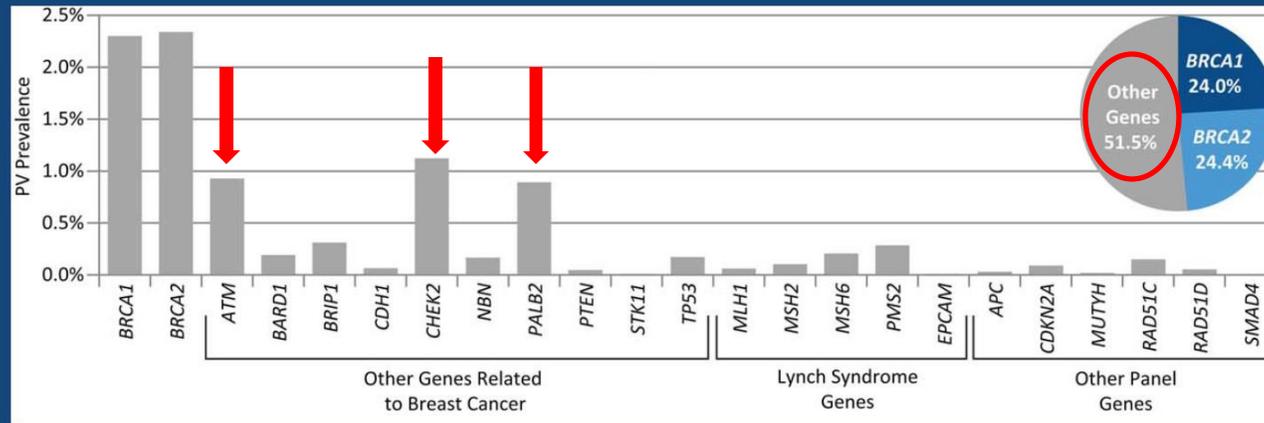
### ¿Por qué es importante estudiarlos?

- **Riesgo *BRCA1***: 50-85% de desarrollar **cáncer de mama** a los 70 años en mujeres; **40-60%** de desarrollar **cáncer de ovario** a los 85 años. Riesgo de otros tipos de cáncer en mujeres y hombres
- **Riesgo *BRCA2***: 50-85% de desarrollar **cáncer de mama** a los 70 años en mujeres; 16-27% de desarrollar cáncer de ovario a edad avanzada. En hombres, riesgo incrementado para cáncer de mama y cáncer de próstata. Mujeres y hombres: riesgo de melanoma y cáncer de páncreas



## Más allá de *BRCA1* y *BRCA2*...

### Panel testing – Prevalence of Non-*BRCA1/2* Genes

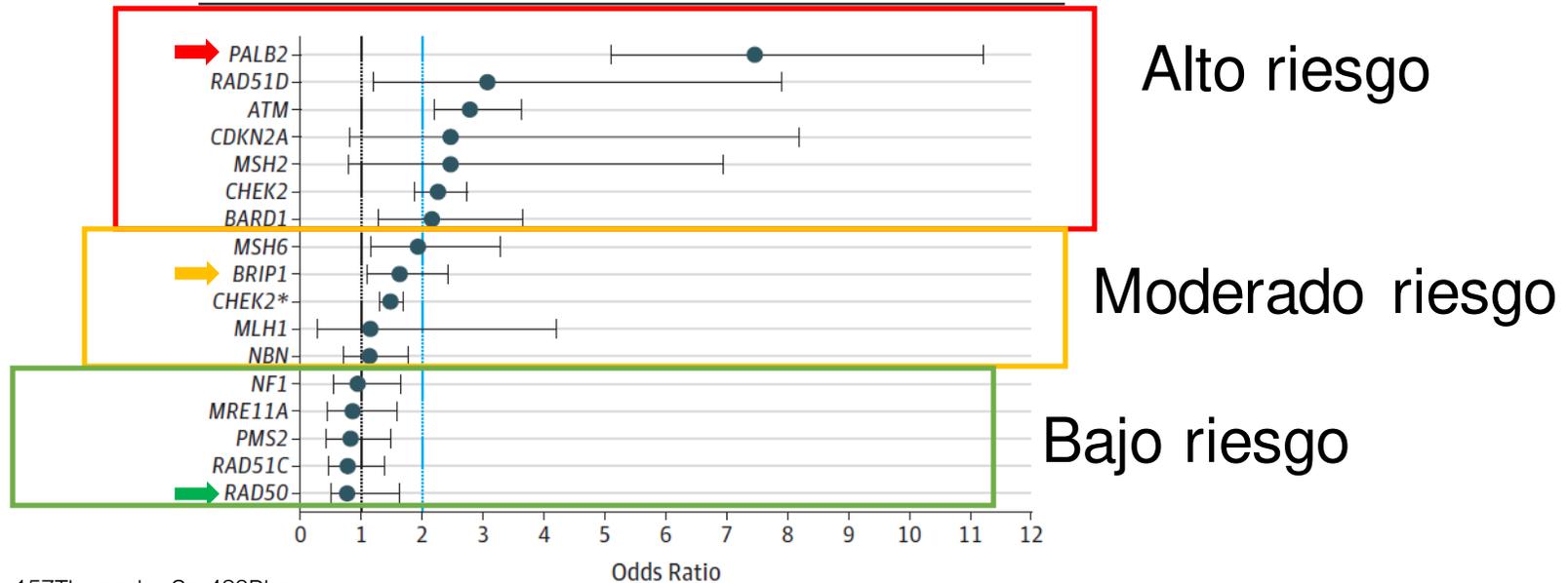


Buys S S, et al. Cancer 2017; 123(10):1721-1730

Presented By Rowan Chlebowski at 2019 ASCO Annual Meeting

## Más allá de *BRCA1* y *BRCA2*...

Figure. Odds Ratio Between Combined Pathogenic Variants in Each Gene and Breast Cancer Among White Women With Breast Cancer and Reference Controls



Chek2\* common missense variants p.Ile157Thr and p.Ser428Phe.

Exome Aggregation Consortium Non-Finn European data set excluding The Cancer Genome Atlas exomes served as the reference control group. Error bars represent 95% CIs.

Couch FJ, et al. JAMA Oncology 2017

Non BRCA1/2 - Breast Cancer Risk: genes were categorized as **high risk** (OR > 5.0), **moderate risk** (OR = 2.0-5.0), or **no clinical relevance** (OR < 2.0).

# NCCN Guidelines v. 1.2021

## Hereditary Cancer Testing Criteria

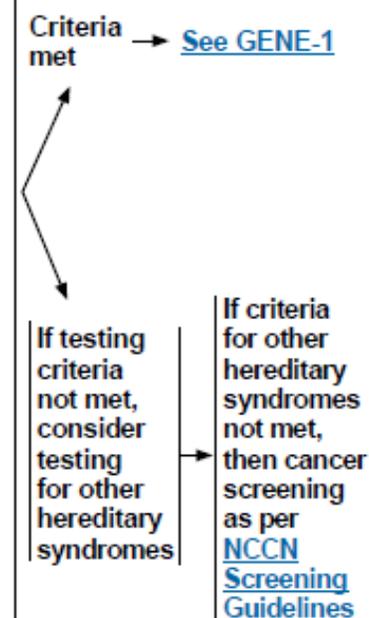


National  
Comprehensive  
Cancer  
Network®

TESTING CRITERIA FOR HIGH-PENETRANCE BREAST AND/OR OVARIAN CANCER SUSCEPTIBILITY GENES  
(This can include *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *PALB2*, *PTEN*, and *TP53* among others. See [GENE-A](#) for a more complete list.)<sup>a,b,c,d</sup>

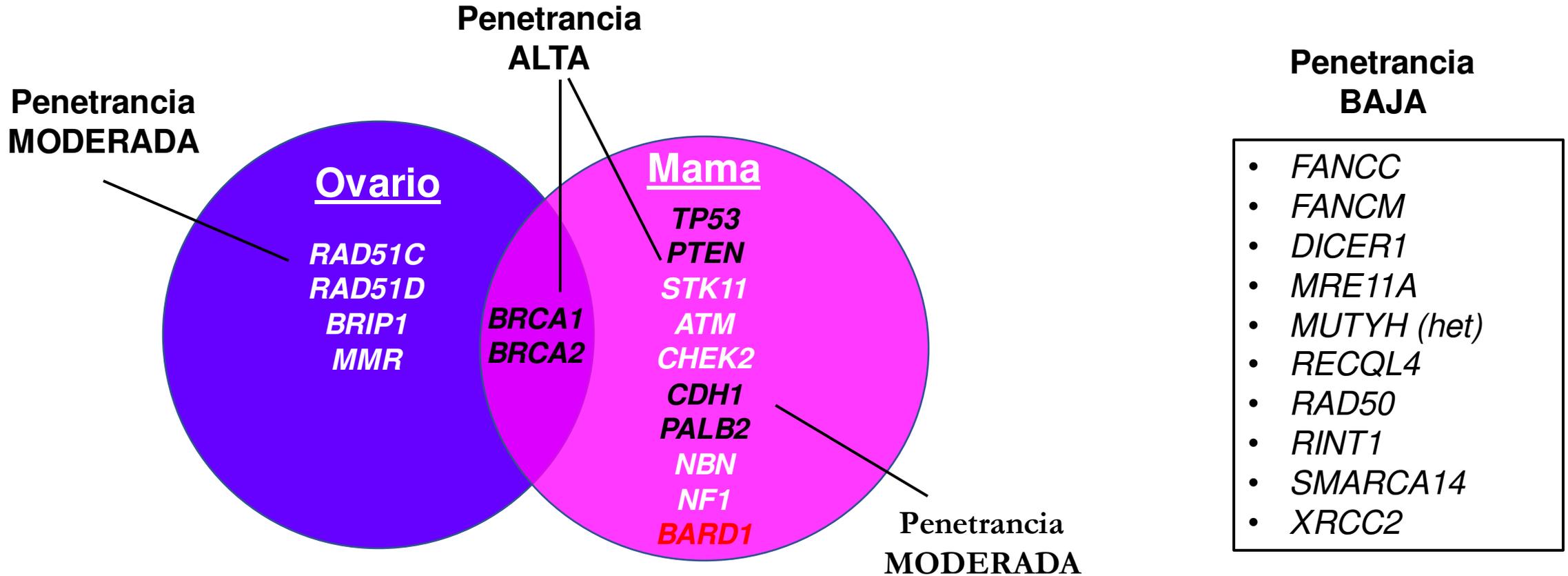
Testing is clinically indicated in the following scenarios:

- Individuals with any blood relative with a known pathogenic/likely pathogenic variant in a cancer susceptibility gene
- Individuals meeting the criteria below but tested negative with previous limited testing (eg, single gene and/or absent deletion duplication analysis) interested in pursuing multi-gene testing
- Personal history of cancer**
  - Breast cancer with at least one of the following:
    - Diagnosed at age  $\leq 45$  y; or
    - Diagnosed at age 46–50 y with:
      - Unknown or limited family history;<sup>e</sup> or
      - A second breast cancer diagnosed at any age; or
      - $\geq 1$  close blood relative<sup>f</sup> with breast, ovarian, pancreatic, or prostate cancer at any age
    - Diagnosed at age  $\leq 60$  y with triple-negative breast cancer;
    - Diagnosed at any age with:
      - Ashkenazi Jewish ancestry; or
      - $\geq 1$  close blood relative<sup>f</sup> with breast cancer at age  $\leq 50$  y or ovarian, pancreatic, metastatic,<sup>g</sup> intraductal/ciribriform histology, or high- or very-high risk group (see [NCCN Guidelines for Prostate Cancer](#)) prostate cancer at any age; or
      - $\geq 3$  total diagnoses of breast cancer in patient and/or close blood relatives<sup>f</sup>
    - Diagnosed at any age with male breast cancer
  - Epithelial ovarian cancer<sup>h</sup> (including fallopian tube cancer or peritoneal cancer) at any age
  - Exocrine pancreatic cancer at any age (See [CRIT-3](#))
  - Prostate cancer at any age with:
    - Metastatic,<sup>g</sup> intraductal/ciribriform histology, or high- or very-high-risk group (see [NCCN Guidelines for Prostate Cancer](#));
    - Any NCCN risk group (see [NCCN Guidelines for Prostate Cancer](#)) with the following family history:
      - Ashkenazi Jewish ancestry; or
      - $\geq 1$  close relative<sup>f</sup> with breast cancer at age  $\leq 50$  y or ovarian, pancreatic, metastatic,<sup>g</sup> or intraductal/ciribriform prostate cancer at any age; or
      - $\geq 2$  close relatives<sup>f</sup> with either breast or prostate cancer (any grade) at any age
  - A mutation identified on tumor genomic testing that has clinical implications if also identified in the germline
  - Individual who meets Li-Fraumeni syndrome (LFS) testing criteria (see [CRIT-4](#)) or Cowden syndrome/PTEN hamartoma tumor syndrome testing criteria (see [CRIT-5](#))
  - To aid in systemic therapy decision-making, such as for HER2-negative metastatic breast cancer<sup>i</sup>



[Footnotes on CRIT-2A](#)

## Más allá de *BRCA1* y *BRCA2*...



# **Cáncer Colorrectal (CCR) Hereditario**



# Síndrome de Lynch

- Es el síndrome hereditario gastrointestinal más frecuente, responsable del 3 - 5% de todos los casos de CCR.
- De herencia autosómica dominante, se encuentra asociado a mutaciones germinales en 1 de los 4 genes implicados en la maquinaria de reparación del ADN: ***MLH1***, ***MSH2***, ***MSH6***, ***PMS2***.
- Deleciones en el gen ***EPCAM*** también causan síndrome de Lynch a través de la hipermetilación del promotor de ***MSH2***, lo cual da lugar al silenciamiento de dicho gen.
- Riesgo acumulado otros tipos de cáncer: **endometrio** (60%), **ovario o estómago** (10 - 15%), y un riesgo superior al de la población general para desarrollar tumores de las vías urinarias, intestino delgado, vía biliar y páncreas.
- El 95% de los individuos afectados desconoce que es portador del síndrome.

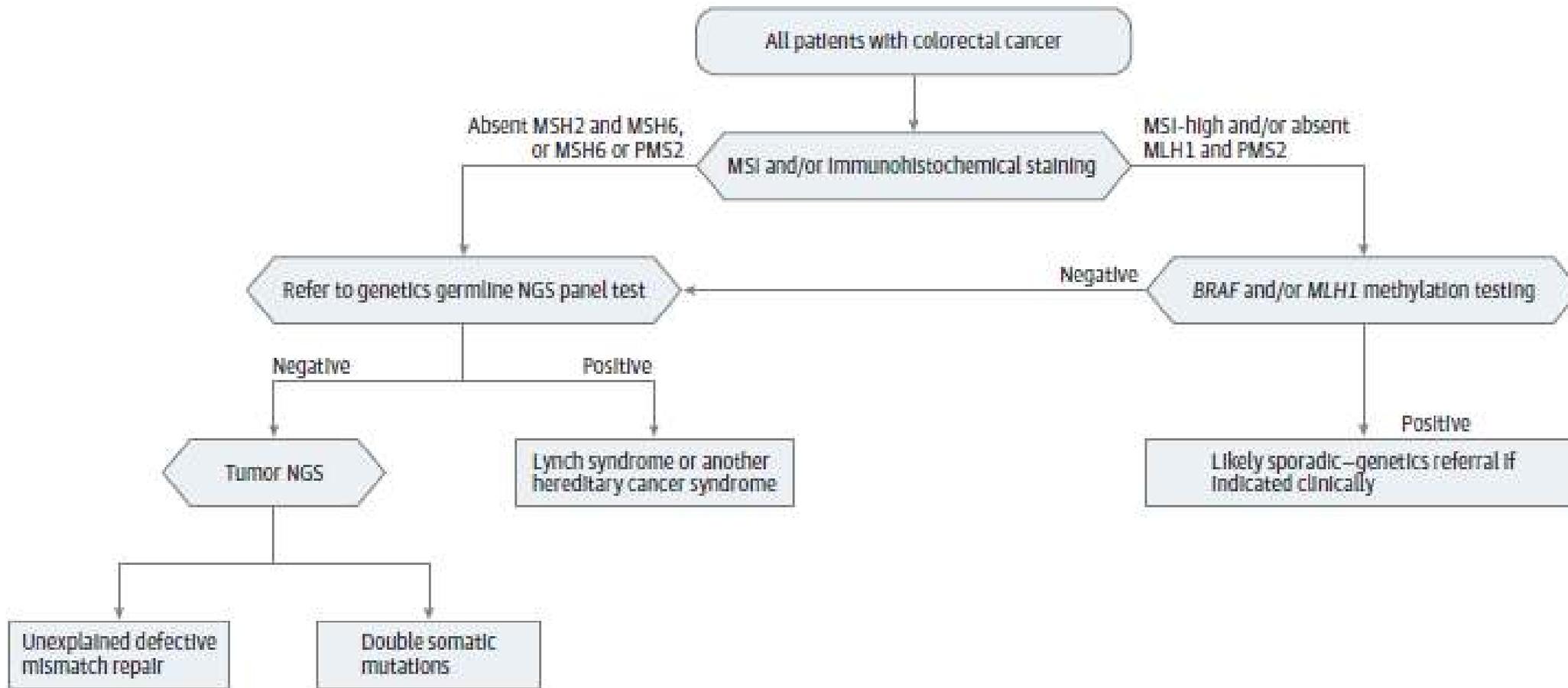


## ¿Cómo se diagnosticaba anteriormente el Síndrome de Lynch?

- **Se confiaba en la historia familiar**
- **Amsterdam II criteria:**
  - ✓ 3 casos de SL asociados
  - ✓ Al menos 2 generaciones afectadas
  - ✓ 1 individuo afectado es un familiar de 1º de los otros 2
  - ✓ 1 dx < 50 años
- **Bethesda criteria:**
  - ✓ CRC dx < 50 años
  - ✓ 3 casos de cáncer asociados a SL a cualquier edad
  - ✓ CRC + 1 familiar un cáncer asociado a SL dx < 50 años

**NINGUNO DE ESTOS MODELOS FUNCIONABA DEL TODO BIEN!!!**

# Present Paradigm for Universal Tumor Screening for Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer



## Multigene Panel Testing for CRC

### Tumor Sequencing as First-Line Lynch Screening Performs Better Than Traditional Screening

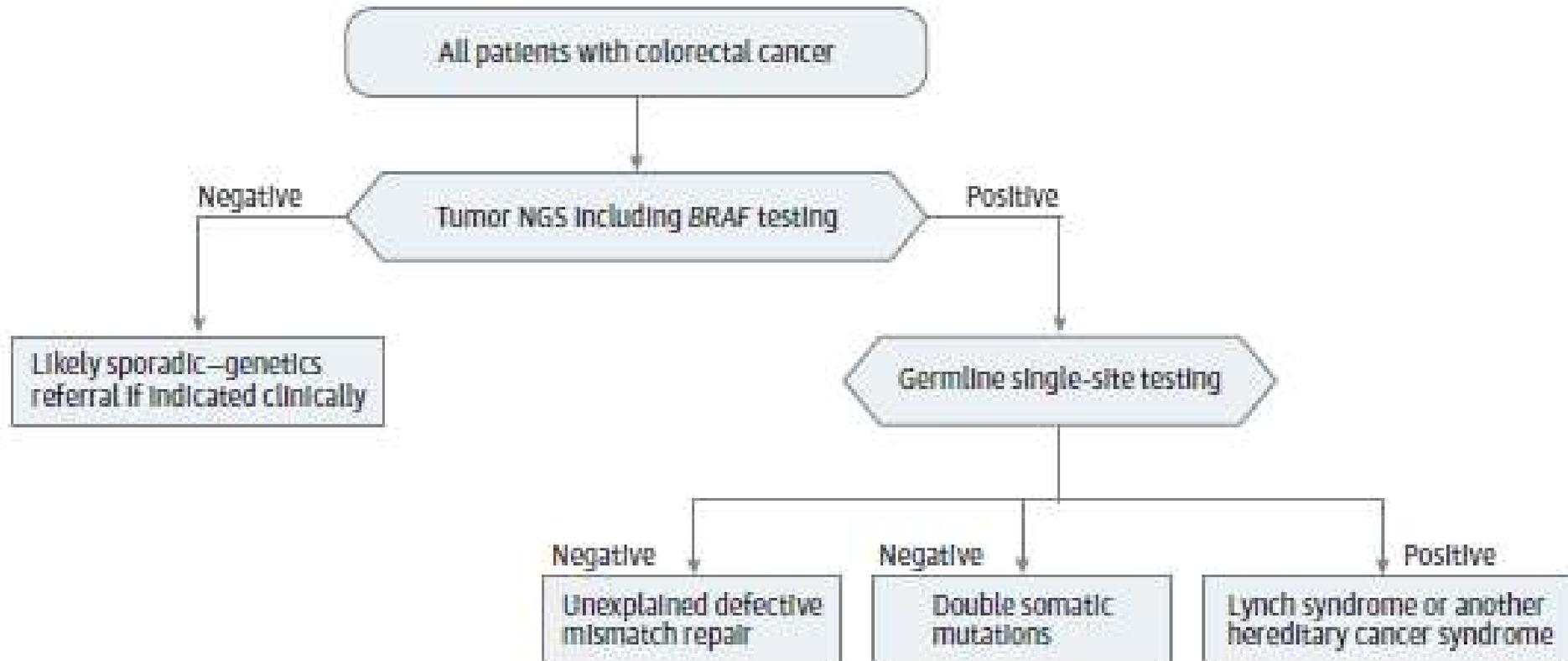
	<b>Tumor NGS</b>	<b>MSI + BRAF</b>	<b>IHC + BRAF</b>
<b>Sensitivity</b>	100% (94-100)	91% (81-97)	90% (79-96)
<b>Specificity</b>	95% (93-97)	95% (92-97)	95% (92-97)
<b>PPV</b>	40% (30-51)	34% (25-45)	33% (24-44)
<b>NPV</b>	>99% (99-100)	>99% (98-100)	>99% (98-100)
<b>Lynch Cases Missed</b>	<b>0 missed</b>	<b>5 missed</b>	<b>6 missed</b>

PPV= positive predictive value;  
NPV= negative predictive value  
(95% confidence intervals)

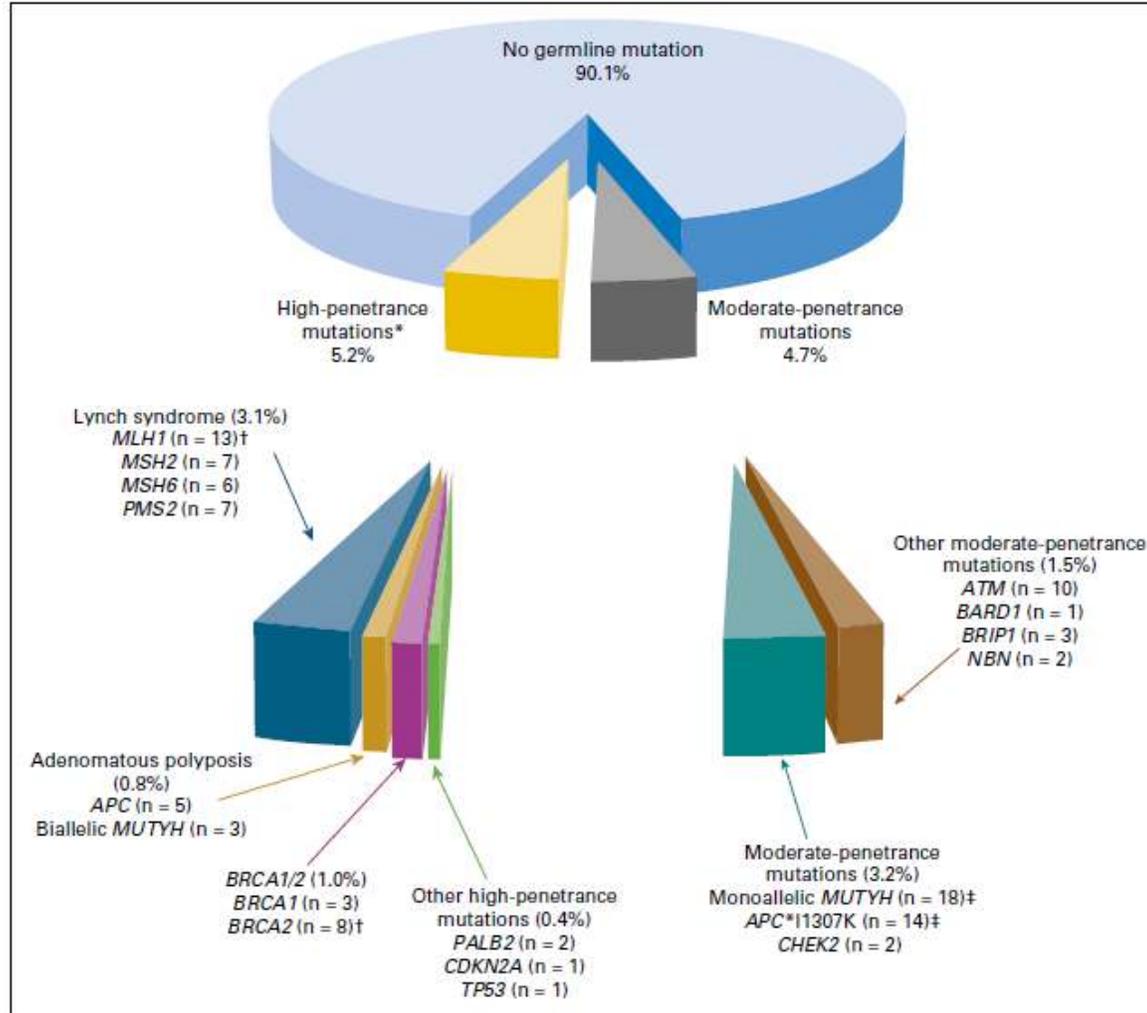


ALL GOING IN

# Proposed Universal Tumor Screening Pathway Using Tumor Sequencing for All Patients With Colorectal Cancer



# Multigene Panel Testing for CRC



## Germline Genetic Testing for Some Cancers

### Prevalence of Germline Mutations in Cancers

Epithelial ovarian/fallopian tube cancer	18.1-23.6%
Prostate cancer (metastatic)	11.8%
Colorectal cancer	9.9%
Breast cancer	9.3%
Endometrial cancer	9.2%
Pancreatic cancer	3.8-8.4%

Testing for all  
cases  
recommended  
by NCCN

## Germline Genetic Testing Offered to All Cancer Patients

- MSK-Impact™ Study
  - Tumor profiling with optional germline testing offered to all cancer patients
  - Informed consent required for germline testing component
- 11,975 patients underwent germline testing from 2015 – 5/2019
- 17.1% had a germline pathogenic/likely pathogenic variants in a cancer gene
  - 6.5% were in genes with potentially targetable therapeutic implications
  - Of those with advanced disease, 45.3% received the targeted drug
  - >40% receiving therapy in the research setting

***“A significant challenge for clinical laboratory geneticists is the provision of accurate and consistent variant classification”***



APC  
ATM  
BMP1A  
BRCA1  
BRCA2  
BRIP1  
CDH1  
CDK4  
CDKN2A  
CHEK2  
EPCAM  
MLH1



MSH2  
MSH6  
MUTYH  
NBN  
NF1  
PALB2  
PMS2  
PTEN  
RAD51C  
RAD51D  
SMAD4  
STK11  
TP53

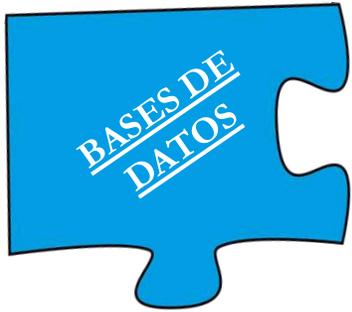
## Consenso sobre informes de estudios moleculares en Cáncer Hereditario

- ❖ Definir secciones y componentes indispensables que debe tener un informe de laboratorio
- ❖ Unificar pautas de nomenclatura y notación de variantes genéticas
- ❖ Definir parámetros básicos de calidad en relación al estudio realizado
- ❖ Delinear la competencia del laboratorio y del médico en la interpretación clínica de variantes
- ❖ Plantear áreas con ausencia de consenso o discrepancia que deberían ser abordadas en forma más específica
- ❖ Constituir un modelo inicial normativo que sirva de base a otras áreas de la genómica más allá del cáncer heredofamiliar.
- ❖ Mejorar la comunicación multidisciplinaria entre profesionales involucrados en la detección y manejo de individuos con alto riesgo de cáncer.

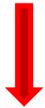
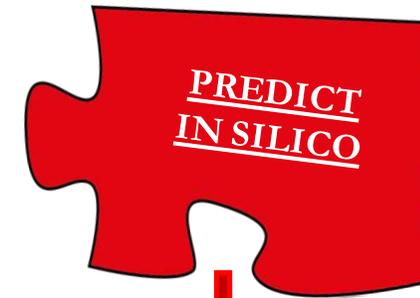
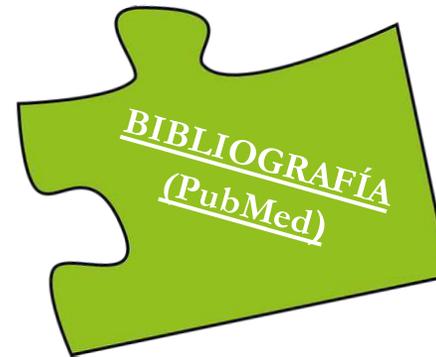


# ¿Cómo clasificamos la variante hallada?

GEN (*MIM)	Cambio detectado			Significado clínico <sup>2</sup>	Referencia Frecuencia alélica
	Condición Profundidad (alelo salvaje / alelo mutado)	RefSeq NM_032043.2	Proteína NP_114432.2		
<i>BRIP1</i> (605882)	Heterocigosis 474(259:215)	c.1702_1703delAA	p.Asn568TrpfsTer9	???	ND 4.06e-06



- dbSNP
- ExAC
- gnomAD
- Exomes
- ClinVar
- Clinvtiae
- VarSome
- LOVD
- BIC
- BRCA Mutation Database
- BRCA Exchange
- Insight



- DANN\*
- M-CAP\*
- MetaLR\*
- SPIDEX\*
- SIFT
- PolyPhen
- Mutation Taster

# Clasificación de variantes germinales: ACMG guidelines



	Benign		Pathogenic			
	Strong	Supporting	Supporting	Moderate	Strong	Very strong
<b>Population data</b>	MAF is too high for disorder BA1/BS1 OR observation in controls inconsistent with disease penetrance BS2	<b>VUS</b>		Absent in population databases PM2	Prevalence in affecteds statistically increased over controls PS4	
<b>Computational and predictive data</b>		Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene /gene product BP4 Missense in gene where only truncating cause disease BP1 Silent variant with non predicted splice impact BP7 In-frame indels in repeat w/out known function BP3	Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene /gene product PP3	Novel missense change at an amino acid residue where a different pathogenic missense change has been seen before PM5 Protein length changing variant PM4	Same amino acid change as an established pathogenic variant PS1	Predicted null variant in a gene where LOF is a known mechanism of disease PVS1
<b>Functional data</b>	Well-established functional studies show no deleterious effect BS3		Missense in gene with low rate of benign missense variants and path. missenses common PP2	Mutational hot spot or well-studied functional domain without benign variation PM1	Well-established functional studies show a deleterious effect PS3	
<b>Segregation data</b>	Nonsegregation with disease BS4		Cosegregation with disease in multiple affected family members PP1	Increased segregation data		
<b>De novo data</b>	<b>STRONG</b>	<b>SUPPORTING</b>		De novo (without paternity & maternity confirmed) PM6	De novo (paternity and maternity confirmed) PS2	
<b>Allelic data</b>		Observed in <i>trans</i> with a dominant variant BP2 Observed in <i>cis</i> with a pathogenic variant BP2		For recessive disorders, detected in <i>trans</i> with a pathogenic variant PM3		
<b>Other database</b>		Reputable source w/out shared data = benign BP6	Reputable source = pathogenic PP5			
<b>Other data</b>		Found in case with an alternate cause BP5	Patient's phenotype or FH highly specific for gene PP4			

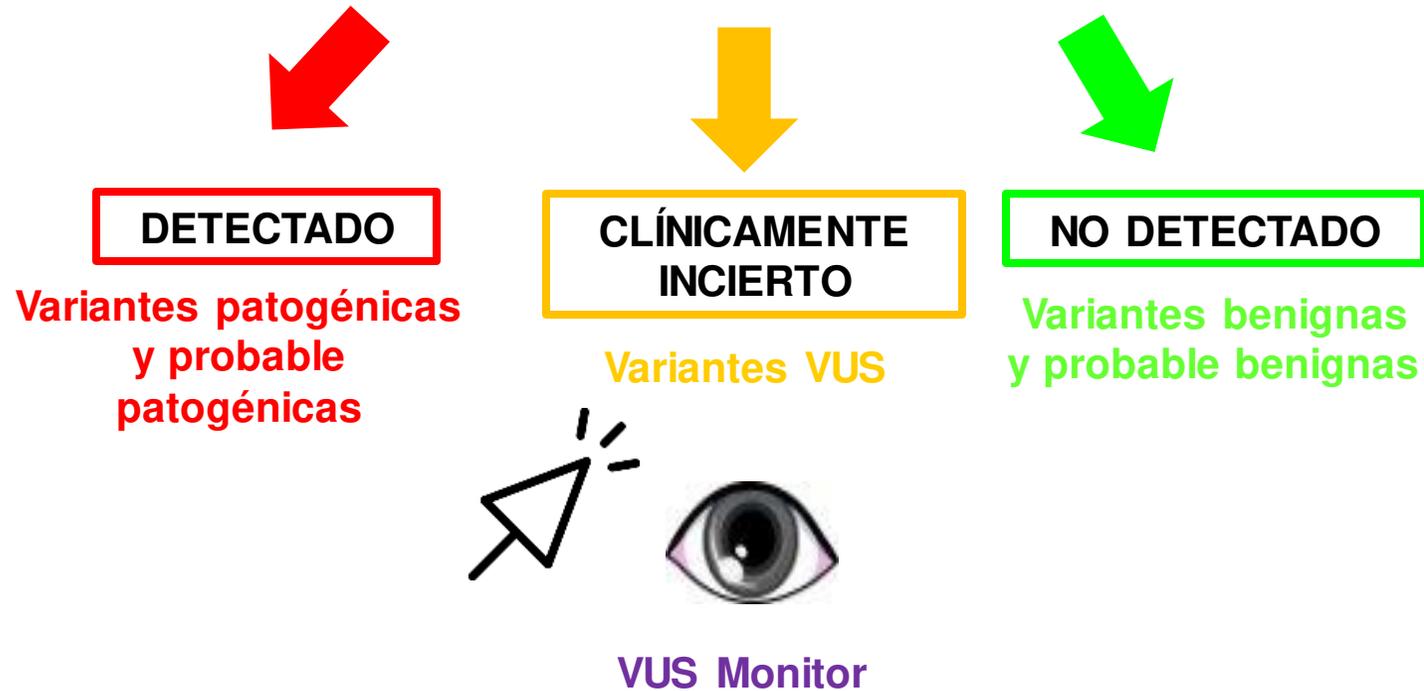
**BENIGN  
LIKELY BENIGN**

**LIKELY PATHOGENIC  
PATHOGENIC**

**SUPPORTING MODERATE STRONG VERY STRONG**

# ¿Cómo resolvemos finalmente el caso?

## Resolución del caso



## Why are VUS problematic

Problematic for clinical management of BRCA1/2 patients

- Risk assessment of patient and family members
- Mammography/MRI screening
- Prophylactic surgery
- Treatment options (PARP inhibitors/platinum)

Most VUS will not ultimately be pathogenic

VUS should NOT be used to guide care

- Inappropriate interventions on basis of VUS
- Inappropriate reassurance

Anxiety about unresolved uncertainty

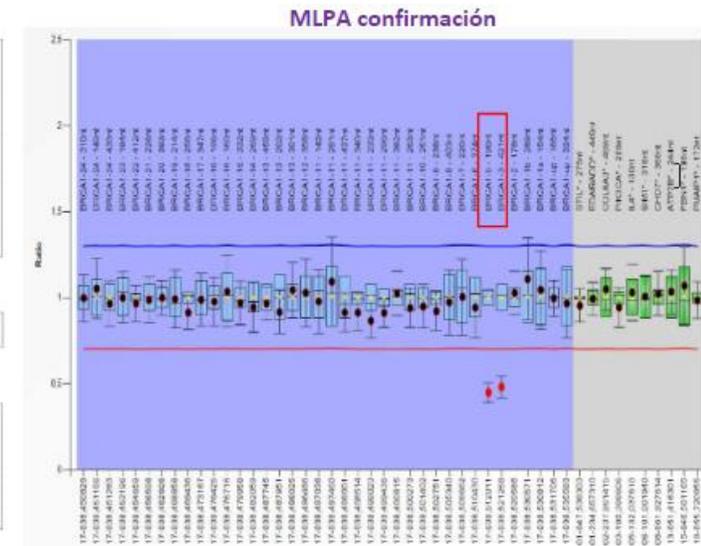
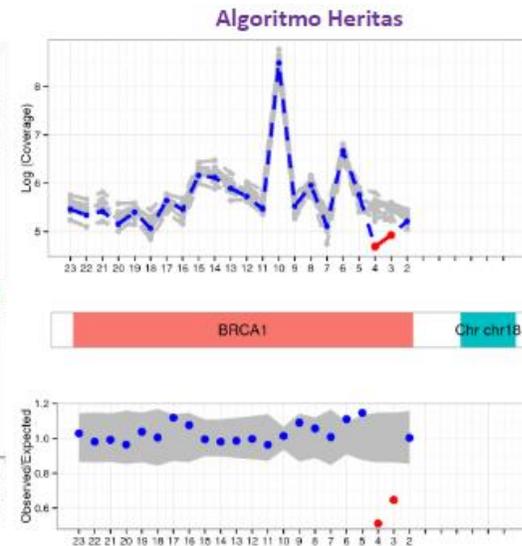
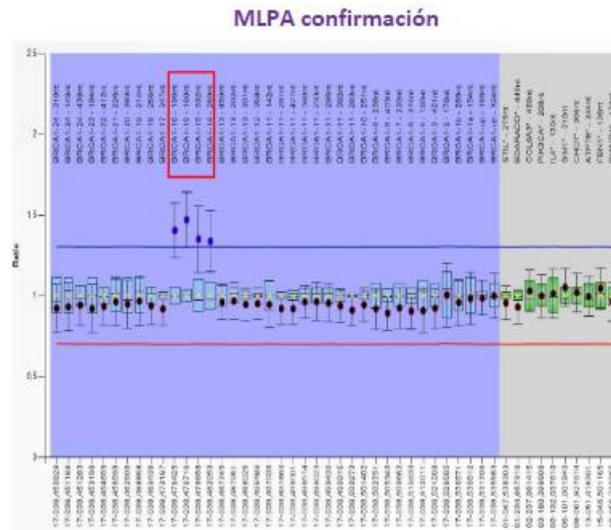
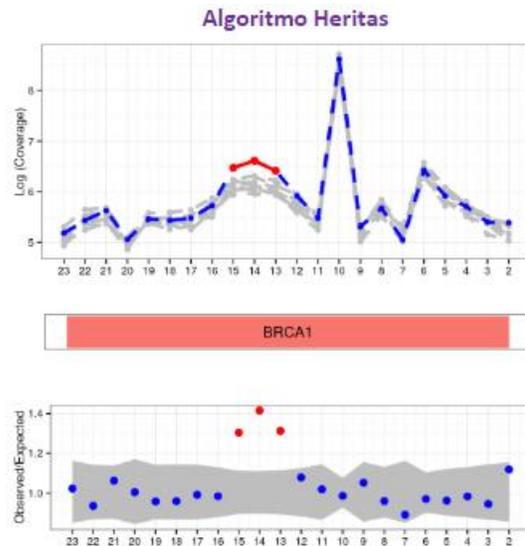
## ¿En qué consiste el análisis de variantes en el número de copias (CNVs)?

- ❑ El screening de **Copy Number Variants (CNVs)** permite detectar **deleciones** y **duplicaciones** de exones en los genes del panel.
- ❑ Se utilizan los mismos datos de NGS producidos para mutaciones, tales como SNVs e INDELS.
- ❑ **Costo-efectivo:** reduce tiempos de retorno de resultados y el costo del ensayo.
- ❑ *DECoN* compara la muestra probanda con el resto de las muestras de una corrida de secuenciación, seleccionando aquellas con la correlación más alta como grupo control y de esta forma determinar posibles CNVs.
- ❑ Resultado: tasa de lecturas de secuenciación observadas / esperadas para un exón
  - Tasa 0.5 = **DELECIÓN**
  - Tasa 1.5 = **DUPLICACIÓN**
- ❑ Ante un **screening CNVs positivo** (menos del 3% de los casos), **se confirma por MLPA**.

# CLEAR Screening CNVs

Duplicación

Delección



Caso 3 CNVs BRCA1 ID: 452093 (AZ10126) – Exones 13, 14 y 15 deleciones

CNVs BRCA1 ID: 4417096 Exones 3 y 4 deleciones

# 1. Analista define las variantes a reportar en tableta priorización

Selección de muestra | Filtrado | Análisis Secundario | Mastermind | Priorización CNVs | **Priorización AS**

Variantes a reportar

Copy | Print | Download | Show 10 entries | Search: \_\_\_\_\_

Gene	ClinVarOMIM	Genotype	ReadDepth	AltReadDepth	HGVSc	HGVSp	dbSNPID	AlleleFreq	ACMGLabel	ACMGEvidence
1 BRCA1	113705	het	104	36	NM_007294.3:c.5123C>A	NP_009225.1:p.Ala1708Glu	rs28897696	1000g: 0. ExAC: 0. gnomAD: 2.031315e-05	Pathogenic	PS3,PM1,PM2,PM4,PP3,BP1
2 BRCA1	113705	het	41	23	NM_007294.3:c.591C>T	NP_009225.1:p.Cys197Cys	rs1799965	1000g: 0.04. ExAC: 0.15. gnomAD: 1.47e-03	Likely Benign	BS3,BP7
3 BRCA2	600185	het	98	34	NM_000059.3:c.8851G>A	NP_000050.2:p.Ala2951Thr	rs11571769	1000g: 1. ExAC: 0.78. gnomAD: 9.650151e-03	Benign	PM1,PP3,BS1,BS2,BP1,BP6

Showing 1 to 3 of 3 entries | Previous | 1 | Next

Resolución del caso: DETECTADO

# 2. Campos se completan de forma automática

Análisis | **Reporte**

Selección de muestra AP | Carga de hallazgos | Referencias | Generación de Boxes | **Generación de reporte PDF**

Generar PDF

**Informe genético molecular dirigido a Cáncer de Mama/Ovario Hereditario**

INFORMACIÓN DE LA PACIENTE

NRO. PROTOCOLO DE6064412	MUESTRA ANALIZADA SANGRE ENTERA + EDTA
PACIENTE [REDACTED]	FECHA DE INGRESO 29-02-2020
EDAD 31	FECHA DE REPORTE 05-05-2020
SEXO	

**Anexo de variantes polimórficas**

INFORMACIÓN DE LA PACIENTE

NRO. PROTOCOLO DE6064412	MUESTRA ANALIZADA SANGRE ENTERA + EDTA
PACIENTE [REDACTED]	FECHA DE INGRESO 29-02-2020
EDAD 31	FECHA DE REPORTE 05-05-2020
SEXO	

# 3. El reporte se imprime en PDF Primera página

**Informe genético molecular dirigido a Cáncer de Mama/Ovario Hereditario (genes BRCA1 y BRCA2)**

INFORMACIÓN DE LA PACIENTE

N° PROTOCOLO: DCxxxxx	SEXO: Femenino
CÓDIGO PFIZER: PBDxxxxx	MUESTRA ANALIZADA: Sangre entera con EDTA
PACIENTE: xxxxxx xxxxxxxx	FECHA DE INGRESO: xx/xx/xxxx
EDAD: xx años	FECHA DE REPORTE: xx/xx/xxxx

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

**NO DETECTADO**

GENES CON HALLAZGOS PATOGENICOS  
Ninguno

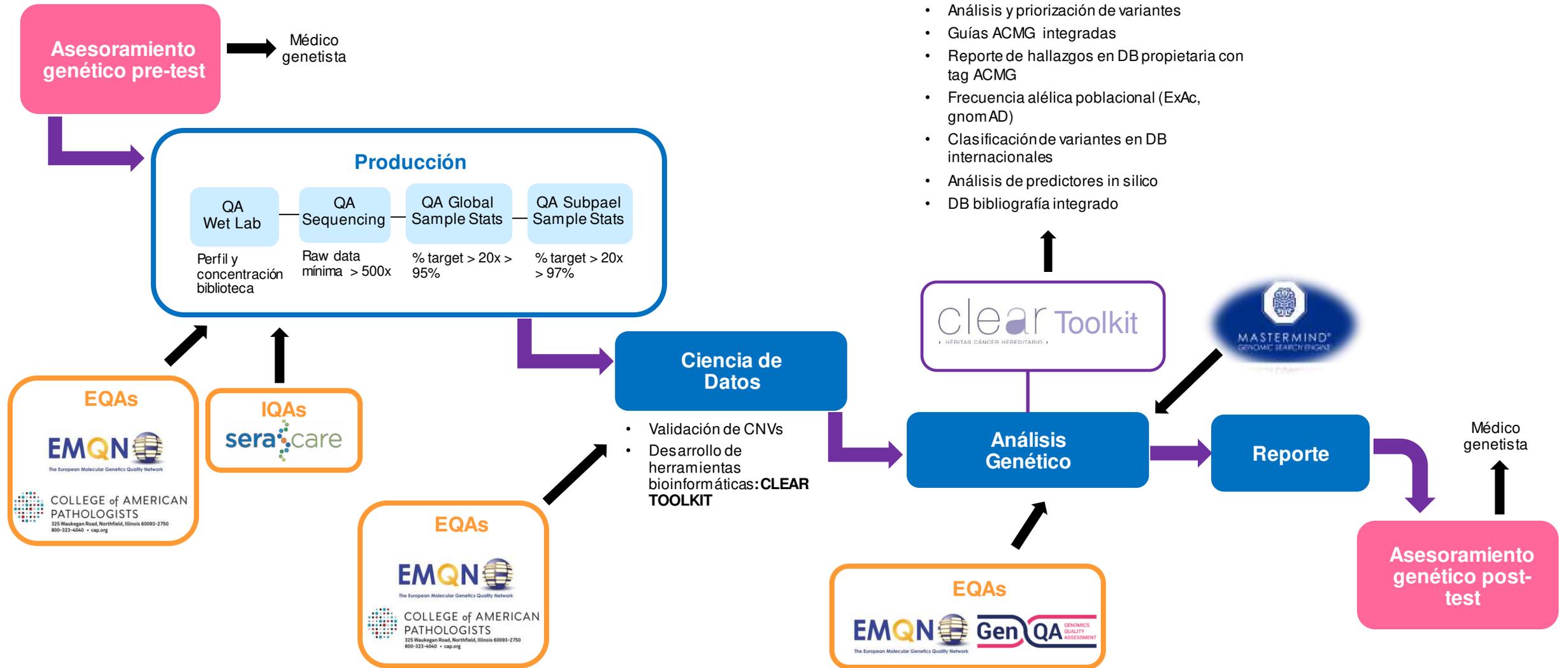
GENES CON HALLAZGOS DE SIGNIFICANCIA INCIERTA  
Ninguno

GENES ANALIZADOS SIN HALLAZGOS RELEVANTES  
BRCA1  
BRCA2

Contacto: info@heritas.com.ar | CONFIDENCIAL | N°Protocolo | 1 de 7

Box de resolución del caso y detalle de genes analizados obtenido automáticamente del análisis realizado en el Toolkit

# Workflow



## Caso clínico 1

- ✓ Edad de dx: 42 años
- ✓ Patología: carcinoma inflamatorio bilateral de mama, estadio IV, con compromiso axilar bilateral, supraclavicular izquierdo, derrame pleural con citología positiva para metástasis, considerado subtipo triple negativo (RE negativo; PR positivo: 30%; Her2 negativo; Ki67 positivo: 80% células).
- ✓ Tratamiento: quimioterapia neoadyuvante (AC x 4 ciclos, seguido de paclitaxel semanal con respuesta clínica completa). Abril 2020: mastectomía + linfadenectomía axilar bilateral, encontrándose actualmente en tratamiento con capecitabina.
- ✓ Antecedentes familiares: madre con diagnóstico de cáncer de mama a los 58 años; tía con diagnóstico de cáncer de mama; prima materna con diagnóstico de cáncer de mama, con mutación en el gen *BRCA1*; prima materna con diagnóstico de cáncer de ovario



**Se solicita estudio *gBRCA1/2***



## Caso clínico 1

## Estudio genético molecular *gBRCA1/2*

Secuenciación NGS: *Nextera Flex Enrichment – Trusight Hereditary Cancer by Illumina*

GEN (OMIM*)	Condición Profundidad (alelo salvaje:alelo mutado)	Transcripto NM_007294.3	Proteína NP_009225.1
BRCA1 113705	Heterocigosis 254 (159:95)	c.212G>A	p.Arg71Lys

- **Fecha de reporte:** 18/11/20
- SNV missense en el exón 4 del gen *BRCA1*
- Deleción exón 3 del gen *BRCA1* (falta confirmación MLPA)



## Caso clínico 1

## Clasificación de la variante: ACMG Guidelines

Verdict  
**Pathogenic**

Transcript NM\_007294.4, protein length 1864, gene BRCA1, missense variant

Rules

<input checked="" type="checkbox"/> PVS1 Strong	<input checked="" type="checkbox"/> PS1	<input type="checkbox"/> PS2	<input checked="" type="checkbox"/> PS3 Strong	<input type="checkbox"/> PS4	<input checked="" type="checkbox"/> PM1 Moderate	<input checked="" type="checkbox"/> PM2 Supporting	<input type="checkbox"/> PM3
<input checked="" type="checkbox"/> PM4	<input checked="" type="checkbox"/> PM5 Moderate	<input type="checkbox"/> PM6	<input type="checkbox"/> PP1	<input checked="" type="checkbox"/> PP2	<input checked="" type="checkbox"/> PP3	<input type="checkbox"/> PP4	<input checked="" type="checkbox"/> PP5
<input checked="" type="checkbox"/> BA1	<input checked="" type="checkbox"/> BS1	<input checked="" type="checkbox"/> BS2	<input checked="" type="checkbox"/> BS3	<input checked="" type="checkbox"/> BS4			
<input checked="" type="checkbox"/> BP1	<input type="checkbox"/> BP2	<input checked="" type="checkbox"/> BP3	<input checked="" type="checkbox"/> BP4	<input type="checkbox"/> BP5	<input checked="" type="checkbox"/> BP6	<input checked="" type="checkbox"/> BP7	

**PVS1:** Se trata de una variante ubicada en el último nt del exón, con lo cual forma parte del sitio canónico de splicing. Considerada spliceogénica, ya que se ha demostrado altera al sitio dador de splicing, dando lugar a splicing alternativo (transcripto out of frame: truncamiento dominio RING). Ocurre en un gen en el que LOF es un mecanismo asociado a fenotipo patológico.

**PS3:** estudios funcionales que permitieron caracterizar la variante, demostrando splicing alternativo y efecto deletéreo de la misma (*Zhang L, et al. 2011; Colombo M, et al. 2013*)

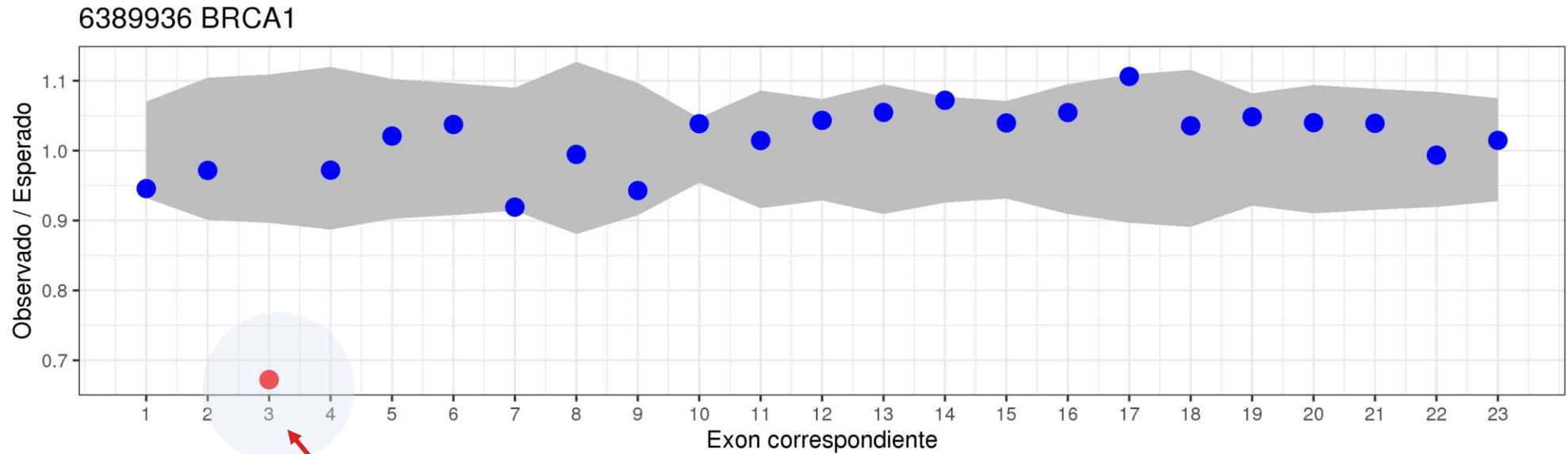
**PM1:** variante missense en dominio funcional RING, altamente conservado, considerado hotspot.

**PM2\_Supporting:** no reportada en población control (gnomAD Exomes)

**PM5:** 2 variantes adicionales que afectan el mismo nucleótido, clasificadas patogénicas en las DBs (*BRCA1 c.212G>C y c.212G>T*)

## Caso clínico 1

## Screening de CNVs: delección exón 3 de *BRCA1*

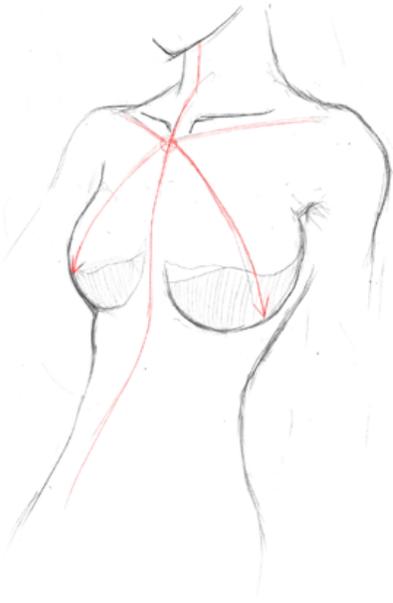


Tasa cercana a  
0.5

**FALTA CONFIRMACIÓN POR MLPA!!!**

## Caso clínico 2

- ✓ Edad de dx: 35 años
- ✓ Patología: Cáncer de mama – Subtipo: triple negativo (RE y RP negativos; Her2 negativo; Ki67 positivo: 35% células tumorales)
- ✓ Tratamiento: quimioterapia neoadyuvante
- ✓ Antecedentes familiares: no refiere



↓

**Evaluada en AGO**

↓

**Se solicita estudio germinal asociado a  
SCHMO: ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2,  
BRIP1, CDH1, CHEK2, NBN, PALB2, PTEN,  
STK11, TP53**



## Caso clínico 2

## Estudio genético molecular dirigido a SCHMO

Secuenciación NGS: *Nextera Flex Enrichment*– *Trusight Hereditary Cancer by Illumina*

GEN (OMIM*)	Cambio detectado <sup>1</sup>		
	Condición Profundidad (alelo salvaje / alelo mutado)	RefSeq NM_024675.3	Proteína NP_078951.2
<i>PALB2</i> (610355)	Heterocigosis 159(68:91)	c.1653T>A	p.Tyr551Ter

- **Fecha de reporte:** 24/09/19
- **SNV nonsense (null variant)** en el exón 4 del gen *PALB2*
- **No se han detectado CNVs** en los genes analizados

## Caso clínico 2

## Clasificación de la variante: ACMG Guidelines

Verdict  
**Pathogenic**

Transcript: NM\_024675.4, canonical, protein length 1187, gene PALB2, nonsense variant

Rules

<input checked="" type="checkbox"/> PVS1 <sup>?</sup> Very Strong	<input checked="" type="checkbox"/> PS1 <sup>?</sup>	<input type="checkbox"/> PS2 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> PS3 <sup>?</sup> Strong	<input checked="" type="checkbox"/> PS4 <sup>?</sup> Moderate	<input checked="" type="checkbox"/> PM1 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> PM2 <sup>?</sup> Supporting	<input type="checkbox"/> PM3 <sup>?</sup>
<input checked="" type="checkbox"/> PM4 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> PM5 <sup>?</sup>	<input type="checkbox"/> PM6 <sup>?</sup>	<input type="checkbox"/> PP1 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> PP2 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> PP3 <sup>?</sup>	<input type="checkbox"/> PP4 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> PP5 <sup>?</sup>
<input checked="" type="checkbox"/> BA1 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> BS1 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> BS2 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> BS3 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> BS4 <sup>?</sup>			
<input checked="" type="checkbox"/> BP1 <sup>?</sup>	<input type="checkbox"/> BP2 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> BP3 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> BP4 <sup>?</sup>	<input type="checkbox"/> BP5 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> BP6 <sup>?</sup>	<input checked="" type="checkbox"/> BP7 <sup>?</sup>	

**PVS1:** Se trata de una variante de truncamiento, que da lugar a una proteína no funcional, en un gen en el que LOF es un mecanismo asociado a fenotipo patológico.

**PS3:** estudios funcionales recientes que permitieron caracterizar la variante, demostrando efecto deletéreo de la misma (*Boonen RACM, et al. 2019*)

**PS4 Moderate:** en individuos con historia personal y/o familiar de cáncer de mama/ovario de origen europeo (*Casadei S, et al. 2011; Blanco A, et al. 2013*). También reportada como variante recurrente en la población argentina (*Cerretini R, et al. 2019*). No en contacto de estudios caso – control (se desconoce OR)

**PM2 Supporting:** no reportada en población control (gnomAD Exomes)



## Caso clínico 2

# *PALB2*



The panel recommends annual mammogram for carriers of a *PALB2* pathogenic or likely pathogenic variant beginning at 30 years of age, as this is the age when the average 5-year risk for breast cancer in these mutation carriers exceeds 1%.<sup>81,502</sup> Breast MRI screening may also be considered. There are no data on the benefit of risk-reducing mastectomy for women with *PALB2* pathogenic or likely pathogenic variants,<sup>81</sup> but this procedure may be considered based on family history. Though some

Gracias



[www.heritas.com.ar](http://www.heritas.com.ar)



[info@heritas.com.ar](mailto:info@heritas.com.ar)



Héritas



HeritasArg