



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES GERMINALES Y SOMÁTICAS EN *BRCA1* Y
BRCA2 POR SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN EN PACIENTES CON
CÁNCER DE MAMA Y OVARIO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

OLIVER MILLAN CATALAN

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. CARLOS PÉREZ PLASENCIA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

COMITÉ TUTOR: DR. ALFREDO HIDALGO MIRANDA
INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA
DR. LUIS IGNACIO TERRAZAS VALDÉS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

CD. MX. JUNIO, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presenta

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 12 de marzo de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **MILLAN CATALAN OLIVER**, con número de cuenta 410037296, con la tesis titulada **Identificación de mutaciones germinales y somáticas en BRCA1 Y BRCA2 por secuenciación de nueva generación en pacientes con cáncer de mama y ovario**, realizada bajo la dirección del **DR. CARLOS GUADALUPE PÉREZ PLEASNCIA**:

Presidente: DR. ROBERTO EDUARDO LÓPEZ URRUTIA
Vocal: DRA. ALMA DELIA CAMPOS PARRA
Secretario: DR. ALFREDO HIDALGO MIRANDA
Suplente: DR. SARA FRIAS VÁZQUEZ
Suplente: DR. LUIS ALONSO HERRERA MONTALVO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 28 de mayo de 2018.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al apoyo recibido por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), mediante la beca de maestría otorgada (Número de CVU: 780371).

A mi tutor el Dr. Carlos Pérez Plasencia, y a los miembros del comité tutor, el Dr. Alfredo Hidalgo Miranda y al Dr. Luis Ignacio Terrazas Valdés.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A mis padres, Santos y Teodora, por apoyarme en todo momento, por todo el esfuerzo que han hecho y siguen haciendo por mis hermanos y por mí. Gracias por todo el amor y la confianza, los amo.

A mis abuelitos, por cuidarnos siempre y querernos tanto.

A mis hermanos, Cynthia (Gorethy), Yuri (Yuya) y David (Davis), porque aunque cada vez compartimos menos tiempo, siempre estamos juntos, los amo, son los mejores hermanos.

A mi Bere, por todo el cariño y el amor de verdad, por tantas cosas aprendidas y tantas cosas bonitas a tu lado. Gracias por escucharme y apoyarme siempre, eres la mejor. Te amo igualito, fin de la discusión (estamos loquitos).

Al Dr. Carlos Pérez Plasencia, por permitirme ser parte de este excelente grupo de investigación, por brindarme la confianza para dirigir este proyecto e invitarme a colaborar otros más. Gracias por su amistad y por todas las enseñanzas.

Al Dr. Eduardo López Urrutia, la Dra. Alma Delia Campos Parra, el Dr. Alfredo Hidalgo Miranda, la Dra. Sara Frías Vázquez, y el Dr. Luis Alonso Herrera Montalvo, por aceptar ser parte del jurado para mi examen de grado y aportar en mi formación académica.

Al Dr. Abraham, el Dr. Jorge, el Dr. Horacio, la Dra. Gaby y la Dra. Vero, por los conocimientos compartidos.

A mis amigos biólogos Luisito, David, Memo, Ferchis, Vero y Fer, por seguir compartiendo nuestras experiencias.

A los actuales y OliBere (Bere, Rebe, Vic, Yahir, Migue, Ale, Rod, Pablo, Carlingui Toño, Eli, Emmanuel, Gerardo e Iván), a Joss e Iza, son los mejores amigos, compañeros de laboratorio y los mejores estudiosos del cáncer.

Gracias Diosito.

DEDICATORIA

A mi familia, principalmente a mis padres que han dado todo por mí.

¡Los amo!

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

I. RESUMEN EN ESPAÑOL

II. ABSTRACT	1
--------------------	---

III. INTRODUCCIÓN	2
-------------------------	---

1. Cáncer	2
-----------------	---

1.1 Cáncer de mama	3
--------------------------	---

1.1.1. Estadísticas del cáncer de mama	4
--	---

1.1.2. Estadificación del cáncer de mama	5
--	---

1.1.3. Subtipos moleculares del cáncer de mama	8
--	---

1.1.4. Tratamiento del cáncer de mama	10
---	----

1.2. Cáncer de ovario	14
-----------------------------	----

1.2.1. Estadísticas del cáncer de ovario	15
--	----

1.2.2. Estadificación del cáncer de ovario	16
--	----

1.2.3. Clasificación molecular del cáncer de ovario	18
---	----

1.2.4. Tratamiento del cáncer de ovario	19
---	----

2. Genes de predisposición al cáncer	20
--	----

2.1. Genes BRCA1 y BRCA2	29
--------------------------------	----

2.1.1. Función de BRCA1 y BRCA2	30
---------------------------------------	----

2.1.2. Mutaciones en <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> en cáncer de mamá y ovario	32
---	----

3. Secuenciación de nueva generación	34
--	----

3.1. Pirosecuenciación	35
------------------------------	----

3.2. Illumina	35
---------------------	----

3.3. Ion Torrent	36
------------------------	----

IV. OBJETIVO GENERAL	39
----------------------------	----

V. OBJETIVOS PARTICULARES	39
---------------------------------	----

VI. ANTECEDENTES	40
VII. METODOLOGÍA	42
VIII. RESULTADOS	46
IX. DISCUSIÓN	54
X. CONCLUSIONES	59
XI. REFERENCIAS	60

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Características distintivas del cáncer.

Figura 2. Tipos de cáncer con mayor incidencia y mortalidad a nivel mundial en mujeres.

Figura 3. Tipos de cáncer con mayor incidencia y mortalidad en México en mujeres.

Figura 4. Dominios de las proteínas BRCA1 y BRCA2.

Figura 5. Mecanismo molecular en respuesta al daño al DNA.

Figura 6. Riesgo de padecer cáncer de mama y ovario si se porta una mutación en los genes *BRCA1/2*.

Figura 7. Estructura de los Chips Ion Torrent.

Figura 8. Esquemización de la liberación de un H⁺ durante la síntesis de DNA.

Figura 9. Secuenciador PGM de Ion torrent.

Figura 10. Flujo de trabajo para la secuenciación el Ion Torrent.

Figura 11. Cargado de chip y porcentaje de lecturas usables.

Figura 12. Distribución del tamaño de los fragmentos amplificados para *BRCA1* y *BRCA2*.

Figura 13. Variantes totales en *BRCA1* y *BRCA2* encontradas en los pacientes con cáncer de mama

Figura 14. Tipo de mutaciones más encontradas en cáncer de mama.

Tabla 1. Estadificación TNM CaMa.

Tabla 2. Agrupación TNM CaMa.

Tabla 3. Subtipos moleculares del CaMa y sus características.

Tabla 4. Estadificación del CaOv.

Tabla 5. Genes de predisposición a cáncer

Tabla 6. Genes con mutaciones somáticas.

Tabla 7. Especificaciones y rendimiento de los chips disponibles para el PGM de Ion Torrent.

Tabla 8. Características del panel utilizado para secuenciar *BRCA1* y *BRCA2*.

Tabla 9. Profundidad promedio y cobertura en muestras germinales de CaMa.

Tabla 10. Profundidad promedio y cobertura de muestras somáticas de CaOv.

Tabla 11. Mutaciones patogénicas en CaMa.

Tabla 12. Características clínicas de 46 pacientes con CaOv del INCAN.

Tabla 13. Mutaciones patogénicas en CaOv.

I. RESUMEN EN ESPAÑOL

Tanto el cáncer de mama (CaMa) como el cáncer de ovario (CaOv), son enfermedades heterogéneas cuya etiología es multifactorial, sin embargo en aquellas personas que son portadoras de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* el riesgo de desarrollar alguno de estos tipos de cáncer incrementa más del 50%. Estos genes juegan un papel crítico en los mecanismos de reparación del daño al ADN y control del ciclo celular, en estudios recientes, se ha demostrado que mutaciones germinales o somáticas deletéreas en *BRCA1/2* en pacientes con CaMa o CaOv, están asociadas a una mayor tasa de supervivencia global en portadores (48%) con respecto a no-portadores (36%); es decir, la presencia funcional de ambos genes en la célula tumoral le permite sobrevivir a la terapia convencional. El objetivo de este estudio fue identificar mutaciones germinales y somáticas en *BRCA1* y *BRCA2* en pacientes con CaMa y CaOv. Los genes *BRCA1/2* fueron amplificados a partir de 25 ng de DNA utilizando el Ion Ampliseq BRCA 1 y 2 panel (Thermo Fisher Scientific). Se analizaron 126 muestras germinales de pacientes con CaMa, de las cuales 6.34% fueron positivas para una mutación patogénica en alguno de estos genes; y 46 muestras germinales y somáticas de pacientes con CaOv, de ellas, 8.69% de las pacientes porta una mutación patogénica a nivel germinal; en este grupo no se identificaron mutaciones somáticas.

II. ABSTRACT

Both, breast and ovarian cancer are heterogeneous diseases with multifactorial etiology; however, in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutation, the risk for developing any these types of cancer increases by more than. These genes play a central role in DNA repair mechanisms and cell cycle control. In recent studies it has been demonstrated that germinal or somatic deleterious mutations of BRCA in breast cancer or ovarian cancer patients are associated with a higher overall survival in carriers (48%), with respect to non-carriers (36%); that is, the presence of both BRCA functional genes in a tumor cell, allows it to survive conventional therapy. The aim of this study was to identify BRCA1 and BRCA2 germinal and somatic mutations of in patients with breast and ovarian cancer. BRCA1/2 genes were amplified from 25 ng of DNA using Ion Ampliseq BRCA 1 and 2 panel (Thermo Fisher Scientific). We analyzed 126 germinal breast cancer samples, 6.34% were positive for one pathogenic mutation in any of these genes; and we analyzed 46 germinal and somatic ovarian samples, 8.69% of patients carried one pathogenic germinal mutation, we did not identify somatic mutations in this group.

III. INTRODUCCIÓN

1. Cáncer

El cáncer representa un importante problema de salud ya que es una de las principales causas de muerte a nivel mundial. En el 2012 se estimaron 14.1 millones de casos nuevos de cáncer, y 8.2 millones de muertes por esta causa. Los tipos de cáncer más frecuentes en ambos sexos son los siguientes: pulmón, colon, mama, colorrectal, próstata, estomago e hígado. Pero en la población femenina, el orden es el siguiente: mama, colorrectal, pulmón, cervicouterino, estomago, útero y ovario (Ferlay et al., 2015).

El cáncer engloba un conjunto de enfermedades de origen multifactorial que presentan como característica en común la capacidad de proliferar descontroladamente como consecuencia de alteraciones genéticas y epigenéticas que provocan la transformación de células normales a células tumorales, las cuales tienen la capacidad de invadir localmente y a distancia a otros tejidos. Hanahan y Weinberg propusieron los "*hallmarks of cancer*", que son las características que subyacen a la serie de cambios complejos en los tejidos que dan lugar a tumores malignos. Los *hallmarks* incluyen: señalización de crecimiento autosuficiente, insensibilidad a las señales de inhibición del crecimiento, evasión de la apoptosis, angiogénesis sostenida, potencial replicativo ilimitado, e invasión y metástasis de tejidos. (D Hanahan & Weinberg, 2000). Posteriormente se describió, que la adquisición de estos *hallmarks* hacia posible dos características importantes para las células tumorales, la inestabilidad genética y un estado de inflamación promotor del crecimiento del tumor; además se incorporaron dos

hallmarks emergentes, la reprogramación del metabolismo energético y la evasión del sistema inmunológico (Figura 1) (Hanahan & Weinberg, 2011).

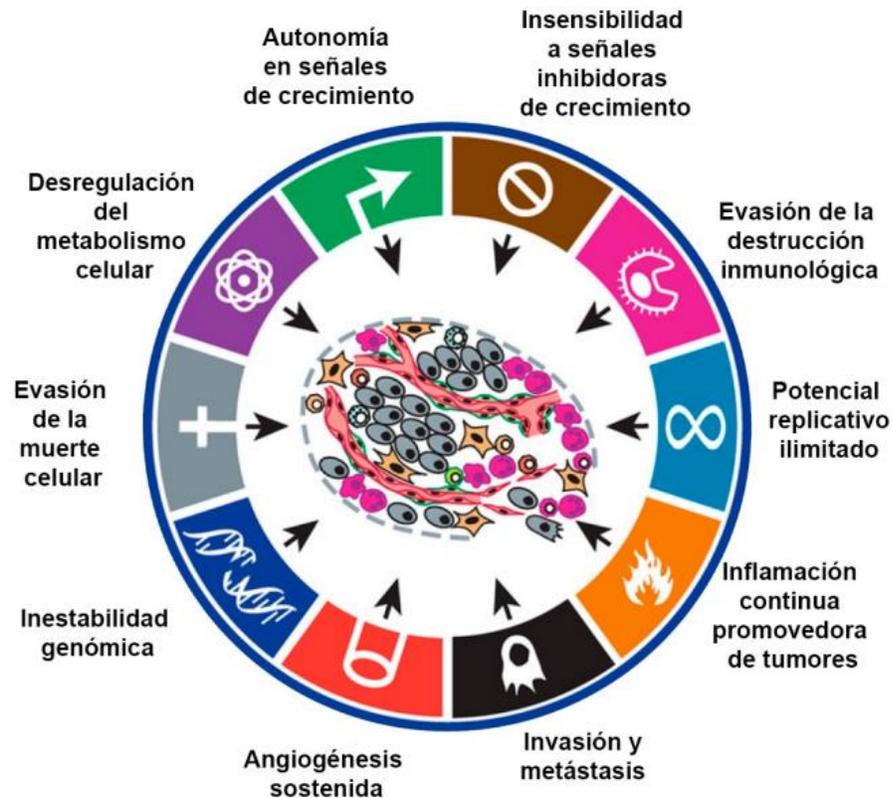


Figura1. Características distintivas del cáncer. Características que las células tumorales adquieren durante el proceso de carcinogénesis (Douglas Hanahan & Weinberg, 2011).

1.1. Cáncer de mama

El CaMa es una neoplasia que se desarrolla a partir del tejido mamario, el 80% de los casos de esta enfermedad corresponde a neoplasias ductales y el resto a neoplasias lobulillares.

Los tumores de la glándula mamaria son considerados una enfermedad multifactorial, y se conocen diversos factores que propician su desarrollo, entre ellos factores biológicos, ambientales, relacionados con los antecedentes reproductivos y del estilo de vida.

Sin embargo hay tumores que son propiciados por el componente genético, como por ejemplo mutaciones en los genes *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *ATM* o *PTEN* que están presentes entre el 5 y 10% de los cánceres de mama (Thompson & Easton, 2004).

1.1.1. Estadísticas del cáncer de mama

A nivel mundial el cáncer de mama ocupa el primer lugar tanto en incidencia como en mortalidad en mujeres, con 1.7 millones de casos nuevos diagnosticados al año y más de 500 000 decesos (Figura 2) (Ferlay et al., 2015).

El riesgo de padecer esta enfermedad es mayor en mujeres de países desarrollados debido al incremento en la expectativa de vida y urbanización, sin embargo, el riesgo de mortalidad es superior entre las mujeres que habitan en países en vías de desarrollo, debido a un menor acceso a los servicios de salud para su detección temprana y subsecuente tratamiento (Ferlay et al., 2015).

Además se estima que al menos la tercera parte de los casos de CaMa ocurre en mujeres jóvenes o menores de 50 años; esta proporción varía de acuerdo a la región geográfica y estatus socioeconómico. En los países desarrollados, solo el 12% de los casos son detectados en mujeres menores de 45 años, mientras que

este porcentaje se eleva hasta un 20% en los países menos desarrollados (Villarreal-Garza et al., 2013; Isabelle Romieu, Amadou, & Chajes, 2017).

En México, la probabilidad de desarrollar cáncer de mama ha aumentado en las últimas décadas y a partir del 2006 éste ocupa el primer lugar de mortalidad por tumor maligno en las mujeres mayores de 25 años (Chávarri-Guerra et al., 2012), al año se diagnostican alrededor de 20 000 casos nuevos, y más de 5 000 decesos (Figura 3) (Ferlay et al., 2015).

En nuestro país, una alta proporción del total de número de casos de CaMa son diagnosticados en mujeres jóvenes, alcanzando hasta un 15% en algunos institutos de salud (Villarreal-Garza et al., 2015).

1.1.2. Estadificación del cáncer de mama

La estadificación del cáncer de mama proporciona información respecto al pronóstico y orienta del tratamiento. Los estudios de imagen en la actualidad son un complemento para evaluar el tamaño del tumor, la presencia de los ganglios y las metástasis (TNM). En la tabla 1 se describe el sistema de estadificación TNM de la AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) y en el tabla 2, la agrupación (Arce et al., 2011).

Tabla 1. Estadificación TNM CaMa. Tomado y modificado de (Arce et al., 2011).

Tumor Primario	
Tx	El tumor primario no puede ser evaluado.
T0	No hay evidencia de tumor primario.
Tis	CDIS Carcinoma Ductal In Situ. CLIS Carcinoma Lobulillar In Situ. Enfermedad de Paget del pezón.
T1	Tumor \leq 20 mm.
T1mi	Tumor \leq 1mm en su diámetro mayor.
T1a	Tumor $>$ 1 mm pero \leq 5mm en su diámetro mayor.
T1b	Tumor $>$ 5 mm pero \leq 10 mm en su diámetro mayor.
T1c	Tumor $>$ 10 mm pero \leq 20 mm en su diámetro mayor.
T2	Tumor $>$ 20 mm pero \leq 50 mm en su diámetro mayor.
T3	Tumor $>$ 50 mm.
T4	Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared torácica y/o dermis (ulceración o nódulos cutáneos). La invasión a la dermis no se considera como T4.
T4a	Extensión a la pared torácica, no incluye solo la adherencia o invasión al musculo pectoral.
T4b	Ulceración y/o nódulos satélite y/o edema (incluye piel de naranja) de la piel, que no cumple criterios de carcinoma inflamatorio.
T4c	T4a y T4b combinados.
T4d	Carcinoma inflamatorio.
Ganglios	
Nx	Los ganglios regionales no pueden ser evaluados.
N0	No hay metástasis en los ganglios regionales.
N1	Metástasis móviles en los ganglios ipsilaterales, del nivel I o II de la axila.
N2	Metástasis en ganglios ipsilaterales en el nivel I o II de la axila, que están fijos o en conglomerado.
N2a	Metástasis en ganglios ipsilaterales del nivel I o II, fijos entre ellos o a otras estructuras.
N2b	Metástasis en los ganglios de la cadena mamaria interna en ausencia de ganglios axilares clínicamente detectables.
N3	Metástasis a ganglios infraclaviculares (nivel III) ipsilaterales con o sin involucro a ganglios de los niveles I o II. Ganglios en la cadena mamaria interna con afección a los ganglios I o II axilar. Metástasis a ganglios supraclaviculares ipsilaterales con o sin

	afección de los ganglios axilares o de la cadena mamaria interna.
N3a	Metástasis a ganglios infraclaviculares ipsilares.
N3b	Metástasis a ganglios ipsilares de la cadena mamaria interna.
N3c	Metástasis a ganglios supraclaviculares ipsilares.
Metástasis	
M0	No hay evidencia clínica o radiográfica de metástasis a distancia.
cM0 (i+)	No hay evidencia clínica o radiográfica de metástasis a distancia, pero existen depósitos moleculares o microscópicos detectados por células tumorales circundantes en sangre, médula ósea o ganglios regionales menores a 0.2 mm en un pacientes sin síntomas de metástasis.
M1	Metástasis a distancia detectable.

Tabla 2. Agrupación TNM CaMa. Tomado y modificado de (Arce et al., 2011).

Estadio	T	N	M
0	Tix	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0	N1M1	M0
	T1	N1M1	M0
IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	Cualquier T	N3	M0
IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

1.1.3. Subtipos moleculares del cáncer de mama

El CaMa es una enfermedad heterogénea en la que se agrupan diversas entidades, las cuales difieren en sus características histológicas, biológicas y principalmente en la respuesta al tratamiento y su comportamiento clínico. Inicialmente el CaMa era clasificado con base en la morfología y criterios adicionales como el tamaño y grado del tumor, estado de los nódulos linfáticos y lo cual es de gran utilidad para asignar un pronóstico y dar un tratamiento a esta enfermedad (Elston CW, 2002). Sin embargo, la capacidad pronostica y predictiva de todos estos parámetros es limitada. Es por ello que se ha recurrido al uso de tecnologías de alto rendimiento como los microarreglos de expresión para definir los subtipos moleculares del cáncer de mama (Weigelt & Reis-Filho, 2009).

En el 2000, Perou *et al.*, propusieron que el CaMa podía ser clasificado en subtipos a partir de los distintos perfiles de expresión génica identificados (Perou *et al.*, 2000). Los principales subtipos moleculares identificados son los siguientes: luminal A, luminal B, basal-like y Erb-B2+ (HER2/neu). El subtipo luminal A es el más frecuente (aproximadamente un 67% del total los tumores de mama); posee alta expresión de genes relacionados con receptores hormonales y baja expresión de genes involucrados en proliferación celular, engloba tumores que expresan receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP), o ambos y receptores del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER-2); éste subtipo de cáncer es el de menor grado de diferenciación celular, tiende a crecer lentamente, y presentan el mejor pronóstico. El subtipo luminal B, a diferencia del luminal A, presenta niveles menores de expresión de RE y niveles elevados de

expresión de genes relacionados con proliferación (*Ki67*, *TP53*, *PIK3AC*, *GATA3*), es positivo para RE o RP y HER-2; los tumores con éste subtipo crecen ligeramente más lento que el luminal A y su pronóstico tiende a ser menos favorable. El subtipo Erb-B2+ presenta RE y RP negativos y HER-2 positivo; los tumores tienden a crecer más rápido que los luminales y el pronóstico puede ser peor. Finalmente, el subtipo basal-like se caracteriza por ser negativo para todos los receptores mencionados (RE-, RP- y HER-2-), pero expresa genes basales de las células epiteliales, (*CK5/6* y *EGFR*), se considera que este subtipo es el de peor pronóstico (Ornelas-Aguirre & Perez, 2013).

Afortunadamente, de acuerdo a lo considerado en varias de las discusiones llevadas a cabo por los especialistas en las Conferencias internacionales de cáncer de mama en San Gallen, aunque la clasificación por perfiles de expresión genética permite un mejor entendimiento de esta enfermedad, sigue siendo de gran utilidad que los subtipos moleculares del CaMa puedan ser relacionados con el resultado de inmunohistoquímica para la presencia de RE, RP y HER-2, de tal manera que para cada subtipo molecular, existe una definición sustituta clínico-patológica (Tabla 1). Además, en la práctica clínica la pregunta clave no es la separación de los subtipos definidos molecularmente, si no la discriminación entre pacientes que se beneficiarán o no de las terapias convencionales (Coates et al., 2015; Goldhirsch et al., 2011, 2013).

Tabla 3. Subtipos moleculares del CaMa y sus características.

Subtipo molecular	Definición sustituta clínico-patológica	Inmunofenotipo	Comportamiento
Luminal A	“Luminal A-like”	RE (+) y/o RP (+) HER2 (-)	Es el más común y menos agresivo. Buen pronóstico. Bajo grado histológico. Respuesta hormonal. Asociado con la edad.
Luminal B	“Luminal B-like”	RE (+) y/o RP (+) HER2 (+)	Similar al subtipo luminal A, pero peor pronóstico. Más común RE (+)/RP (-).
Basal-like	“Triple negativo”	RE(-) RP (-) HER2 (-) CK 5/6 (+) y/o EGFR (+)	Subtipo agresivo, alto grado histológico e índice mitótico. Riesgo en mujeres < 40 años. Frecuente en mujeres premenopáusicas afroamericanas.
Erb-B2+	“HER2 positivo”	RE (-) y/o RP (-) HER2 (+)	Es el menos común, altamente agresivo. Alto grado histológico. Riesgo en mujeres < 40 años.

CK 5/6 (antígeno nuclear presente en todas las células que se encuentran en la fase proliferativa del ciclo celular), EGFR (receptor de factor de crecimiento epidermal). Tomado y modificado de (Imigo et al, 2011).

1.1.4. Tratamiento del cáncer de mama

El tratamiento integral del CaMa es multidisciplinario, los manejos locorregionales son cirugía y radioterapia en cualquiera de sus tres modalidades (neoadyuvante, adyuvante y paliativa). La cirugía para el CaMa se ha ido modificando con el conocimiento de la enfermedad, cambio la mastectomía radical, por mastectomía

radical modificada y eventualmente por cirugía conservadora de mama(Sledge et al., 2017).

El tratamiento sistémico incluye las siguientes modalidades:

- **Quimioterapia**

El desarrollo de los taxanos representa uno de los acontecimientos más importantes en la terapia sistémica contra el cáncer de mama, tanto el paclitaxel como el docetaxel muestran actividad similar o incluso mejor que las antraciclinas. Un gran estudio randomizado en pacientes con cáncer de mama metastásico, compara el uso por separado de doxorubicina, paclitaxel, y en combinación, indicando que la combinación producía tasas de respuesta más altas (Sledge, 2014).

Un gran porcentaje del cáncer de mama TN, son positivos a mutaciones en BRCA1/2, los cuales aparentemente responden a los inhibidores de PARP, actualmente existe mucha intensidad en ensayos con estos agentes (Underhill et al., 2011).

- **Terapia endocrina**

El desarrollo de los fármacos para el cáncer de mama ER+. Ha sido uno de los grandes avances de los años 50s, y considerado como un paradigma para el desarrollo de terapias blanco en oncología. Y en la actualidad las terapias antiestrógenos son en principal tratamiento en este grupo de pacientes (Sledge et al., 2017).

En el terreno adyuvante, la administración de tamoxifén durante cinco años ha demostrado una disminución en el riesgo a recurrencia de 40% y en riesgo de muerte de 35%, así como reducción en el desarrollo de otro cáncer de mama, lo que se traduce en un beneficio absoluto a 15 años de 12% y de muerte de 9%. Los inhibidores de aromatasa fármacos representan otra opción terapéutica en el tratamiento adyuvante exclusivo de mujeres posmenopáusicas, administrados de forma inicial o secuencial, han demostrado mejorar la supervivencia libre de enfermedad, no así en la supervivencia global (Arce et al., 2011).

- **Terapia blanco**

El Trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido en contra de la proteína HER2. Múltiples estudios han evaluado el beneficio de trastuzumab concomitante o secuencial con quimioterapia de forma adyuvante, los resultados combinados demuestran disminución relativa del riesgo de recurrencia o muerte por cualquier causa de 38%. Por ejemplo, En 1998, un estudio clínico aleatorizado, en el que se utilizó quimioterapia convencional más trastuzumab, se mostró una mejora en la supervivencia de pacientes con cáncer metastásico. Posteriormente el uso de trastuzumab como adyuvante mejoró la supervivencia libre de enfermedad y global en pacientes HER+ (Arce et al., 2011).

Por otra parte, el tratamiento del CaMa depende tanto de la etapa clínica como del subtipo molecular, por lo que se divide en enfermedad temprana (donde se incluyen los estadios I y II), localmente avanzada y metastásica.

El tratamiento para la enfermedad temprana incluye la cirugía (Granados & Herrera, 2010), pudiendo tratarse de tratamiento conservador o tratamiento radical; así como radioterapia adyuvante y tratamiento sistémico, el cual engloba hormonoterapia a base de tamoxifeno, quimioterapia con antraciclinas o taxanos y terapia blanco con trastuzumab para pacientes con sobreexpresión de HER-2 (Cárdenas Sánchez et al., 2015)

El tratamiento para etapas II y III incluyendo enfermedad localmente avanzada, comprende quimioterapia neoadyuvante basada en taxanos, terapia blanco neoadyuvante con trastuzumab (si el tumor es HER-2 positivo) y hormonoterapia con inhibidores de aromatasa en mujeres postmenopausicas con expresión de receptores hormonales; así como cirugía y radioterapia en enfermedad localmente avanzada (Cárdenas Sánchez et al., 2015).

La enfermedad metastásica se define como de bajo riesgo para las pacientes con receptores hormonales positivos, y negativo para HER-2, puesto que se ha reportado que estas manifiestan periodos libres de enfermedad mayores a 2 años, y metástasis limitada a tejidos blandos y huesos; en estos casos el tratamiento de primera elección es la terapia hormonal. En cambio la enfermedad metastásica de alto riesgo se caracteriza por carecer de la expresión de receptores hormonales, y presentar periodos libre de enfermedad menor a 2 años, enfermedad metastásica extensa y afección visceral. Siendo el tratamiento de elección la quimioterapia más trastuzumab (Granados & Herrera, 2010).

1.2. Cáncer de ovario

El CaOv es considerado como la neoplasia ginecológica más letal en el mundo. Sin embargo, pese a que la mortalidad global ha disminuido en proporción moderada, la supervivencia a cinco años se ha duplicado en los últimos 20 años (Ferlay et al., 2015).

Los ovarios son órganos sexuales complejos que pueden ser asiento de tumores de naturaleza, morfología y actividad hormonal muy diversas, y el tipo más común es el cáncer de ovario epitelial, aunque también pueden desarrollarse a partir de las células germinales o del estroma de los cordones sexuales de los ovarios (Kaku et al., 2003).

Dentro de la categoría de CaOv epitelial se han incluido tumores de histología y grado de diferenciación distinto. A la fecha se han reconocido la existencia de cinco subtipos principales: seroso papilar de alto grado (el más común), seroso papilar de bajo grado, endometriode, mucinoso y de células claras (Kaku et al., 2003).

Los factores de riesgo para presentar esta enfermedad son: la edad, historia familiar, obesidad, antecedentes reproductivos. De tal manera que puede considerarse que el CaOv tiene un modelo etiológico multifactorial, sin embargo, en un 10% aproximadamente de las mujeres, el desarrollo de esta neoplasia se atribuye al componente genético (Hunn & Rodriguez, 2012).

1.2.1. Estadísticas del cáncer de ovario

El CaOv, a pesar de ser una neoplasia menos frecuente que el CaMa, no deja de ser de importancia, debido a su alto porcentaje de mortalidad. A nivel mundial se diagnostican alrededor de 230 000 casos, y más de 150 000 muertes (Ferlay et al., 2015) (Figura 2).

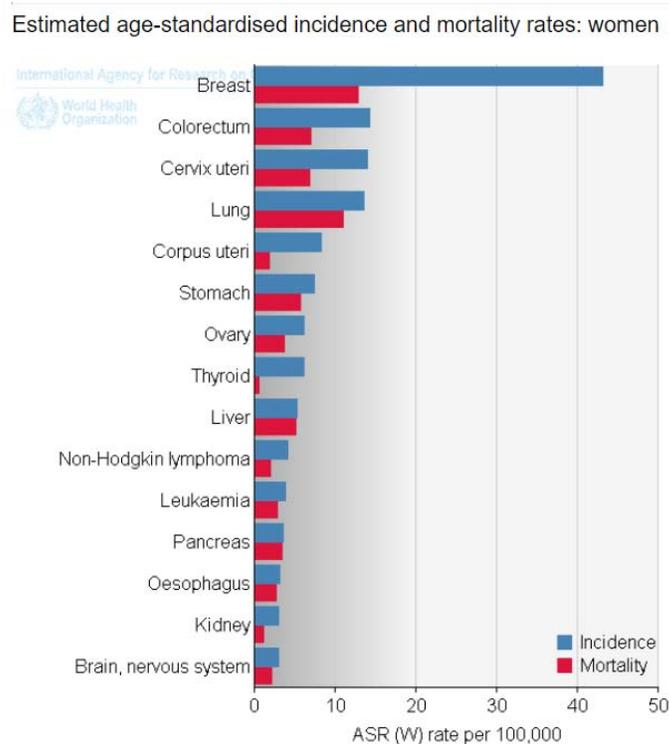


Figura 2. Tipos de cáncer con mayor incidencia y mortalidad a nivel mundial en mujeres. Tomado y modificado de (Ferlay et al., 2015).

México está ubicado en la segunda región con mayor frecuencia de cáncer de ovario epitelial en el mundo, después de Estados Unidos, Canadá y la Unión Europea. En nuestro país se detectan 3 200 casos al año aproximadamente y más de 2 100 decesos (Figura 3). Para el 2015 la proyección fue de 4 500 casos nuevos (Ferlay et al., 2015).

Estimated age-standardised incidence and mortality rates: women

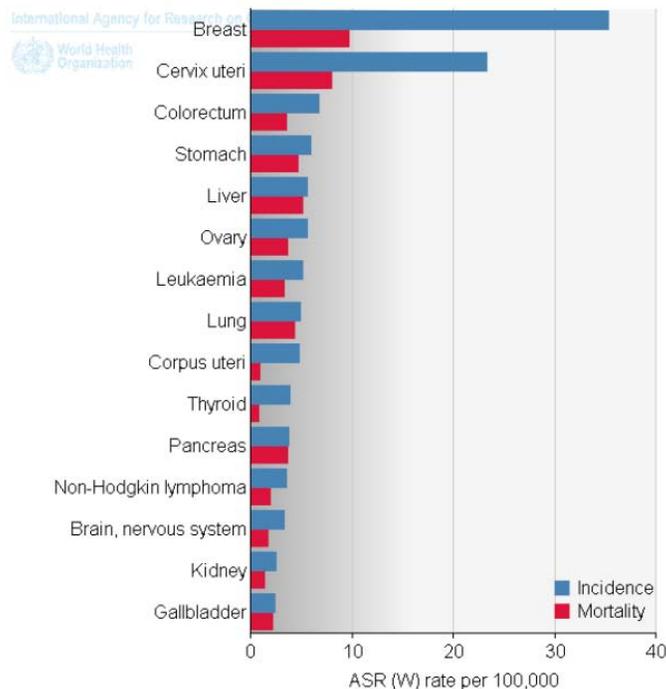


Figura 3. Tipos de cáncer con mayor incidencia y mortalidad en México en mujeres. Tomado y modificado de (Ferlay et al., 2015).

Tanto en el mundo, como en nuestro país, el diagnóstico del CaOv se realiza en etapas avanzadas (III y IV) al menos el 75% de los casos, cifra que puede ser superior en países subdesarrollados, desafortunadamente no se considera que este dato pueda ser reversible, ya que el CaOv no se considera como un tipo de cáncer que pueda ser detectado de manera precoz (Gallardo et al., 2011)

1.2.2. Estadificación del cáncer de ovario

La estadificación del CaOv epitelial, es quirúrgica y realizada siempre por un oncólogo. Y se realiza de acuerdo con la última revisión de la FIGO en el año 2009 (Tabla 4). Se estima que solo el 15% de los casos se encuentra como enfermedad

localizada en los ovarios, 17% como enfermedad locoregional y 62% presenta enfermedad a distancia (Gallardo et al., 2011).

Tabla 4. Estadificación del CaOv (Gallardo Rincón et al., 2011).

Etapa	Descripción
I	Crecimiento limitado a los ovarios.
IA	Un ovario, sin ascitis, cápsula intacta, sin tumor en la superficie externa.
IB	Afectación de ambos ovarios, sin ascitis, cápsula intacta, sin tumor en la superficie externa.
IC	Uno o ambos ovarios, con tumor en la superficie del ovario, o ruptura de la cápsula o ascitis o lavado peritoneal con presencia de células malignas.
II	Extensión pélvica.
IIA	Afectación del útero y/o trompas de Falopio.
IIB	Afectación de otros tejidos pélvicos.
IIC	IIA ó IIB con tumor en la superficie del ovario o ruptura de la cápsula o ascitis o lavado peritoneal con presencia de células malignas.
III	Implantes peritoneales fuera de la pelvis y/o ganglios inguinales o ganglios retroperitoneales.
IIIA	Limitado predominantemente a la pelvis verdadera, ganglios negativos, siempre microscópica del peritoneo abdominal.
IIIB	Implantes del peritoneo abdominal menores a 2 cm, ganglios negativos.
IIIC	Implantes abdominales mayores a 2 cm y/o ganglios retroperitoneales positivos o inguinales.
IV	Metástasis a distancia. Incluyendo metástasis hepáticas parenquimatosas, el derrame pleural debe ser positivo para considerarlo etapa 4.

1.2.3. Clasificación molecular del cáncer de ovario

Debido a que las características clinicopatológicas no son suficientes para elaborar el pronóstico del CaOv, en la actualidad se hace uso de las tecnologías genómicas de alto rendimiento, con la finalidad de identificar biomarcadores con relevancia clínica para el diagnóstico y pronóstico basados en firmas génicas (Shih & Kurman, 2004).

Con base en los hallazgos morfológicos y moleculares, Shih y Kurman en el 2004 propusieron un modelo dualístico en el que se agruparon los subtipos de cáncer de ovario epitelial de la siguiente manera:

Tipo I. Comprende el carcinoma seroso y endometrioide de bajo grado, el de células claras y el mucinoso, Se distinguen por ser generalmente de buen pronóstico, que suelen encontrarse en etapa temprana IA. En el aspecto genético son estables y presentan mutaciones somáticas en los genes *KRAS*, *BRAF*, *ERBB2*, *CTNNB1*, *PTEN*, *PI3CA*, *ARID1A* Y *PPP2R1A* (Shih & Kurman, 2004) .

Tipo II. Corresponde al tumor seroso y endometrioide de alto grado, el carcinoma indiferenciado y los tumores mesodérmicos mixtos (carcinosarcoma). El comportamiento general de estas histologías es de mayor agresividad. Son de rápido crecimiento, por lo que hasta el 75% de los caso se encuentra en etapas avanzadas (II a IV). Se ha observado que cursan con inestabilidad genética. Suelen ser quimiorresistentes, los fármacos con mayor potencial de beneficio son los inhibidores de PARP y los antiangiogénicos (Shih & Kurman, 2004).

1.2.4. Tratamiento del cáncer de ovario

El tratamiento inicial para CaOv tanto para fines de diagnóstico, estadificación y tratamiento es la cirugía estadificadora citorreductora.

En la actualidad, los tratamientos específicos recomendados para los carcinomas de ovario dependen del estadio de la enfermedad (Jelovac & Armstrong, 2011).

Aproximadamente el 25% de las pacientes con cáncer de ovario presentan la enfermedad confinada a uno o los dos ovarios (FIGO estadio I) o a la pelvis (FIGO estadio II) (Jelovac & Armstrong, 2011); en estos casos (en estadios tempranos), la mayoría de las mujeres con cáncer de ovario son tratadas con cirugía, así como quimioterapia adyuvante, la cual puede ser a base de carboplatino solamente o en combinación con paclitaxel (Raja, Chopra, & Ledermann, 2012).

En el caso de los estadios avanzados del cáncer de ovario (estadios III y IV), que representa alrededor del 75% de las mujeres con esta neoplasia (Jelovac & Armstrong, 2011), son tratadas con cirugía citorreductora primaria (López-Graniel, González Encizo, Cantú de León, Chang, & Padilla Longoria, 2007), seguida de quimioterapia con medicamentos a base de platino como cisplatino o carboplatino (Raja et al., 2012).

Para pacientes que no responden al retratamiento con carboplatino o paclitaxel o que desarrollan resistencia a estos fármacos, se puede emplear manejo con monoterapia basada en fármacos del tipo del topotecan, etopósido oral, gemcitabina, doxorubicina liposomal y vinorelbina con respuestas esperadas

menores (20 a 30%) mismas que son de corta duración (Gallardo Rincón et al., 2011).

El uso de los inhibidores de PARP es una nueva alternativa para el tratamiento de pacientes con CaOv que presenten mutaciones en *BRCA1/2* (Mirza et al., 2018)

2. Genes de predisposición al cáncer

Los genes que favorecen el proceso de tumorigénesis, pueden clasificarse en tres grandes grupos: oncogenes, genes supresores de tumor y genes de estabilidad.

Los oncogenes, se encuentran mutados de tal manera que se encuentran constitutivamente activados, o activados bajo condiciones que en una célula normal no lo está. La activación de este tipo de genes puede darse de diferentes formas, ya sea por translocación de cromosomas, amplificación o mutaciones intragénicas (Vogelstein & Kinzler, 2004).

En los genes supresores de tumores, las alteraciones genéticas tienen el efecto contrario: las mutaciones reducen la actividad de las proteínas producto de estos genes. Tales inactivaciones son el resultado de mutaciones sin sentido en aminoácidos que son esenciales para la actividad de las proteínas, mutaciones que generan proteínas trucas, deleciones e inserciones de diferentes tamaños, o de silenciamiento epigenético (Vogelstein & Kinzler, 2004).

Una tercera clase de genes, los genes de estabilidad o de vigilancia, cuando se encuentran mutados promueven la tumorigénesis en una forma totalmente diferente. Sus productos, se encargan de reparar el daño al DNA generado

durante la replicación del DNA o por la exposición a mutágenos. En este grupo se incluyen a los genes implicados en la reparación de malapareamiento (MMR), reparación por escisión de nucleótidos (NER) y reparación por escisión de bases (BER), responsables de reparar daños sutiles ocurridos durante la replicación del DNA o por exposición a mutágenos. Otros genes de estabilidad controlan procesos que involucran grandes regiones de cromosomas, tales como los responsables de la recombinación mitótica y de la segregación de cromosomas (por ejemplo, *BRCA1*, *BLM*, *ATM*) (Tabla 5 y 6) (Vogelstein & Kinzler, 2004).

Tabla 5. Genes de predisposición a cáncer. Tomado y modificado de (Vogelstein & Kinzler, 2004).

Gen	Síndrome	Patrón hereditario	<i>Second hit</i>	Vía de señalización	Tipo de tumor
Supresores de tumor					
APC	FAP	Dominante	Inactivación de alelo WT	APC	Colon, tiroides, estomago, intestino
AXIN2	Poliposis atenuada	Dominante	Inactivación de alelo WT	APC	Colon
CDH1 (E-caderina)	Carcinoma gástrico familiar	Dominante	¿?	APC	Estomago
GPC3	Síndrome de Simpson-Golabi-Behmel	Ligado al cromosoma X	Inactivación de alelo WT	APC	Embrional
CYLD	Cilindromatosis familiar	Dominante	Inactivación de alelo WT	APOP	Pilomatricoma
EXT1,2	Exostosis múltiple hereditaria	Dominante	Inactivación de alelo WT	GLI	Hueso
PTCH	Síndrome de Gorlin	Dominante	Inactivación de alelo WT	GLI	Piel, meduloblastoma
SUFU	Predisposición a meduloblastoma	Dominante	Inactivación de alelo WT	GLI	Piel, meduloblastoma
FH	Leiomiomatosis hereditaria	Dominante	Inactivación de alelo WT	HIF1	Leiomiomas
SDHB, C, D	Paraganglioma familiar	Dominante	Inactivación de alelo WT	HIF1	Parangliomas, feocromocitomas
VHL	Síndrome Von Hippel-Lindau	Dominante	Inactivación de alelo WT	HIF1	Riñón

TP53 (p53)	Síndrome de Li-Fraumeni	Dominante	Inactivación de alelo WT	p53	Mama, sarcoma, adrenal, cerebro
WT1	Tumor de Wilms familiar	Dominante	Inactivación de alelo WT	p53	Wilms
STK11 (LKB1)	Síndrome de Peutz-Jeghers	Dominante	Inactivación de alelo WT	PI3K	Intestino, ovario, páncreas
PTEN	Síndrome de Cowden	Dominante	Inactivación de alelo WT	PI3K	Hamartoma, glioma, útero
TSC1, TSC2	Esclerosis tuberosa	Dominante	Inactivación de alelo WT	PI3K	Hamartoma, riñón
CDKN2A (p16INK4A, p14ARF)	Melanoma maligno familiar	Dominante	Inactivación de alelo WT	RB	Melanoma, páncreas
CDK4	Melanoma maligno familiar	Dominante	¿?	RB	Melanoma
RB1	Retinoblastoma hereditario	Dominante	Inactivación de alelo WT	RB	Ojo
NF1	Neurofibromatosis, tipo 1	Dominante	Inactivación de alelo WT	RTK	Neurofibroma
BMPR1A	Poliposis juvenil	Dominante	Inactivación de alelo WT	SMAD	Gastrointestinal
MEN1	Neoplasia endocrina múltiple, tipo 1	Dominante	Inactivación de alelo WT	SMAD	Paratiroide, pituitaria, células islotes, carcinoide
SMAD4 (DPC4)	Poliposis juvenil	Dominante	Inactivación de alelo WT	SMAD	Gastrointestinal
BHD	Síndrome de Birt-Hogg-Dube	Dominante	Inactivación de alelo WT	¿?	Renal, folículo del cabello

HRPT2	Hiperparatiroidismo	Dominante	Inactivación de alelo WT	¿?	Paratiroide, fibroma mandibular
NF2	Neurofibromatosis, tipo 2	Dominante	Inactivación de alelo WT	¿?	Meningioma, neuroma acústico
Genes de estabilidad					
MUTYH	Poliposis atenuada	Recesivo	¿?	BER	Colon
ATM	Ataxia telangiectasia	Recesivo	¿?	CIN	Leucemias, linfomas, cerebro
BLM	Síndrome de Bloom	Recesivo	¿?	CIN	Leucemias, linfomas, piel
BRCA1, BRCA2	Cáncer de mama hereditario	Dominante	Inactivación de alelo WT	CIN	Mama, ovario
FANCA, C, D2, E, F, G	Anemia de Fanconi	Recesivo	¿?	CIN	Leucemias
NBS1	Síndrome de ruptura de Nijmegen	Recesivo	¿?	CIN	Linfomas, cerebro
RECQL4	Síndrome de Rothmund-Thomson	Recesivo	¿?	CIN	Hueso, piel
WRN	Síndrome de Werner	Recesivo	¿?	CIN	Hueso, cerebro
MSH2, MLH1, MSH6, PMS2	Síndrome de Linch	Dominante	Inactivación de alelo WT	MMR	Colon, útero
XPA, C; ERCC2-5; DDB2	Xenoderma pigmentosa	Recesivo	¿?	NER	Piel
Oncogenes					
KIT	Tumores estromales gastrointestinales familiar	Dominante	¿?	RTK	Tumores gastrointestinales

					estromales
<i>MET</i>	Carcinoma de células renales papilar hereditario	Dominante	Inactivación de alelo WT	RTK	Riñón
<i>PDGFRA</i>	Tumores estromales gastrointestinales familiar	Dominante	¿?	RTK	Tumores gastrointestinales estromales
<i>RET</i>	Neoplasia endocrina múltiple, tipo II	Dominante	Inactivación de alelo WT	RTK	Tiroides, paratiroides, adrenal

WT, *wild type*; APOC, vía apoptótica; RTK, vía de los receptores de tirosina cinasa.

Tabla 6. Genes con mutaciones somáticas. Tomado y modificado de (Vogelstein & Kinzler, 2004).

Gene	Tipo de mutación somática	Cáncer con gen mutado	Vía de señalización
CTNNB1 (B-catenina)	Activación por cambio de codón	Colon, hígado y meduloblastoma	APC
BCL2	Translocación	Linfomas	APOP
TNFRSF6 (FAS)	Activación por cambio de codón	Linfomas, tumor testicular de células germinales	APOP
BAX	Inactivación por cambio de codón	Colon, estomago	APOP
FBXW7 (CDC4)	Inactivación por cambio de codón	Colon, uterino , ovario, mama	CIN
GLI	Amplificación, translocación	Cerebro, sarcomas	GLI
HPVE6	Infección VPH	Cervical	p53
MDM2	Amplificación	Sarcomas	p53
NOTCH1	Translocación	Leucemias	p53
AKT2	Amplificación	Ovario, mama	PI3K
FOXO1A, 3^a	Translocación	Rabdomiosarcomas, leucemias	PI3K
PI3KCA	Activación por cambio de codón	Colon, estomago, cerebro y mama	PI3K
CCND1 (ciclina D1)	Amplificación, translocación	Leucemias, mama	RB
HPVE7	Infección VPH	Cervical	RB
TAL1	Translocación	Leucemias	RB
TFE3	Translocación	Riñón, sarcomas	RB
ABL1 (ABL)	Translocación	Leucemia mielógena crónica	RTK
ALK	Translocación	Linfoma anaplásico de células grandes	RTK
BRAF	Activación por cambio de codón	Melanoma, colorrectal, tiroides	RTK
EGFR	Amplificación, activación por cambio de codón	Glioblastoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas	RTK

<i>EPHB2</i>	Inactivación por cambio de codón	Próstata	RTK
<i>ERBB2</i>	Amplificación	Mama, ovario	RTK
<i>FES</i>	Activación por cambio de codón	Colon	RTK
<i>FGFR1–3</i>	Translocación	Linfomas, cáncer gástrico, cáncer de vejiga	RTK
<i>FLT3, 4</i>	Activación por cambio de codón	Leucemias, angiosarcomas	RTK
<i>JAK2</i>	Translocación	Leucemias	RTK
<i>KRAS2, N-RAS</i>	Activación por cambio de codón	Colorrectal, pancreático, cáncer de pulmón de células no pequeñas	RTK
<i>NTRK1, 3</i>	Translocación, activación por cambio de codón	Tiroides, mama secretorio, colon	RTK
<i>PDGFB</i>	Translocación	Dermatofibrosarcomas y fibroblastomas	RTK
<i>PDGFRB</i>	Translocación	Sarcomas	RTK
<i>EWSR1</i>	Translocación	Sarcomas de Ewing, linfomas, leucemias	SMAD
<i>RUNX1</i>	Translocación	Leucemias	SMAD
<i>SMAD2</i>	Inactivación por cambio de codón	Colon, mama	SMAD
<i>TGFBR1, TGFBR2</i>	Inactivación por cambio de codón	Colon, estomago, ovario	SMAD
<i>BCL6</i>	Translocación	Linfomas	¿?
<i>EVI1</i>	Translocación	Leucemias	¿?
<i>HMGA2</i>	Translocación	Lipomas	¿?
<i>HOXA9, 11, 13; HOXC13, HOXD11, 13; HOX11,</i>	Translocación	Leucemias	¿?

HOX11L2

MAP2K4 (MKK4)	Inactivación por cambio de codón	Páncreas, mama, colon	¿?
MLL	Translocación, activación por cambio de codón	Leucemias	¿?
MYC, MYCN, MYCL1	Amplificación	Linfomas, neuroblastomas, cáncer de pulmón de células pequeñas	¿?
PTNP1, 11	Activación por cambio de codón	Leucemias, colon	¿?
RARA	Translocación	Leucemia promielocítica	¿?
SS18	Translocación	Sarcomas sinoviales	¿?

2.1. Genes *BRCA1* y *BRCA2*

BRCA1 y *BRCA2* son genes supresores de tumor, y portar una mutación en ellos, predispone a padecer cáncer de mama y ovario.

En 1994 fue identificado por clonación el gen *BRCA1*, ubicado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21). Se compone de 24 exones distribuidos en poco más de 100 kb de DNA genómico, pero solo 22 exones son codificantes para una proteína de 1863 aminoácidos (Miki et al., 1994). Dicha proteína cuenta con cinco dominios.

Y en 1995 se identificó a *BRCA2* en el brazo largo del cromosoma 13 (13q12.3). Comprende alrededor de 70 kb, se compone de 27 exones, y solo 26 de ellos codifican para una proteína de 3418 aminoácidos (Wooster et al., 1995) (Figura 4).

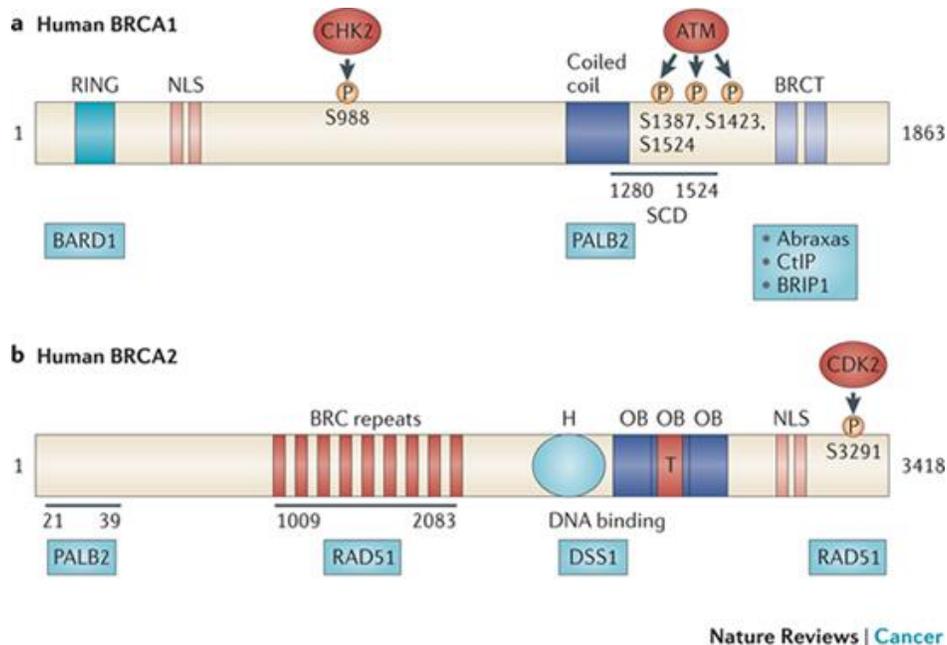


Figura 4. Dominios de las proteínas BRCA1 y BRCA2. Tomado y modificado de (Roy et al., 2012).

2.1.1. Función de las proteínas BRCA1 y BRCA2

Tanto BRCA1 como BRCA2 tienen un papel esencial en la recombinación homóloga, el principal mecanismo para la reparación de ruptura de doble cadena del DNA (Walsh, 2015).

La primera evidencia que sugirió un rol de BRCA1 en la reparación de daño al DNA, fue la observación de su hiperfosforilación en respuesta a daño al DNA (Scully et al., 1997). Estudios subsecuentes demostraron la participación de BRCA1 y BRCA2 en forma de complejos que activan la reparación de doble corte de cadena del DNA (DCS) e inicio de la recombinación homóloga (HR), mecanismo esencial para mantener la integridad genómica y la supresión tumoral.

BRCA1 y BRCA2 se colocan con Rad51 en forma de complejo en los sitios de recombinación y focos inducidos por daño al DNA, lo que sugiere que las proteínas BRCA1 y BRCA2 tienen una función tanto en la detección como en la reparación de DCS (Scully et al., 1997).

El rol que juegan BRCA1 y BRCA2 en la reparación de DCS por HR parece ser diferente. Cuando el DNA es dañado, BRCA1 es fosforilada y se coloca en el sitio dañado con Rad51, sin embargo se desconoce la naturaleza de la interacción de BRCA1 y Rad51, de hecho esta interacción estereoquímica es insignificante, lo que sugiere que BRCA1 no regula directamente a RAD51. Aparentemente BRCA1 funciona como regulador del complejo Rad50-Mre11-NBS1. En cambio, se sabe que BRCA2 interactúa directamente con RAD51 a través de sus repetidos BRC y

de su dominio localizado en el carboxilo terminal (Figura 5) (Sharan et al., 1997; Wong, Pero, Ormonde, Tavtigian, & Bartel, 1997).

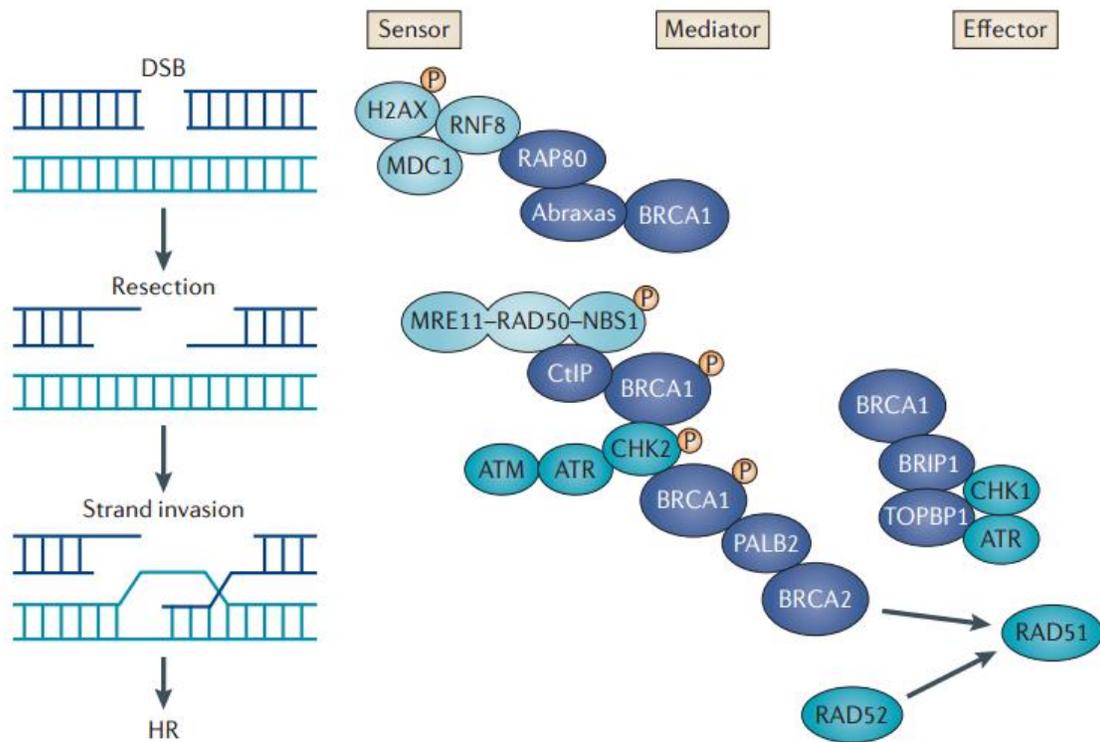


Figura 5. Mecanismo molecular en respuesta al daño al DNA. Tomado y modificado de (Roy et al., 2012).

Otras de las funciones en las que se encuentran implicadas las proteínas BRCA son:

- Control del ciclo celular: Se describió que BRCA1 es fundamental para el control del ciclo celular, cuando se reportó que la fosforilación de BRCA1

mediada por ATM es indispensable para el punto de control G2/M en respuesta al daño al DNA (David Cortez, Yi Wang, Jun Qin, 1999)

- Ubiquitinación: BRCA1, puede actuar como una E3 ubiquitin ligasa, marcando a múltiples blancos. La ubiquitinación es un proceso por el cual las proteínas son marcadas para su degradación mediante el proteasoma, o incluso la ubiquitinación puede favorecer la estabilización (Mallery, Vandenberg, & Hiom, 2002).
- Remodelación de la cromatina: BRCA1 ha sido implicada en la regulación transcripcional de algunos genes en respuesta al daño al DNA, ya que su extremo C-terminal se une y activa la maquinaria transcripcional basal (Chapman & Verma, 1996; Monteiro, August, & Hanafusa, 1996).

2.1.2. Mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* en cáncer de mamá y ovario

BRCA1/2 son los genes más importantes de susceptibilidad a padecer cáncer de mamá y de ovario. La identificación de mutaciones en *BRCA1/2* es un importante componente tanto para la prevención como para el tratamiento del CaMa y CaOv (Claus et al., 1996).

Portar mutaciones en los genes *BRCA1/2* incrementa de manera significativa el riesgo de desarrollar cáncer (Risch et al., 2001) (Figura 6).

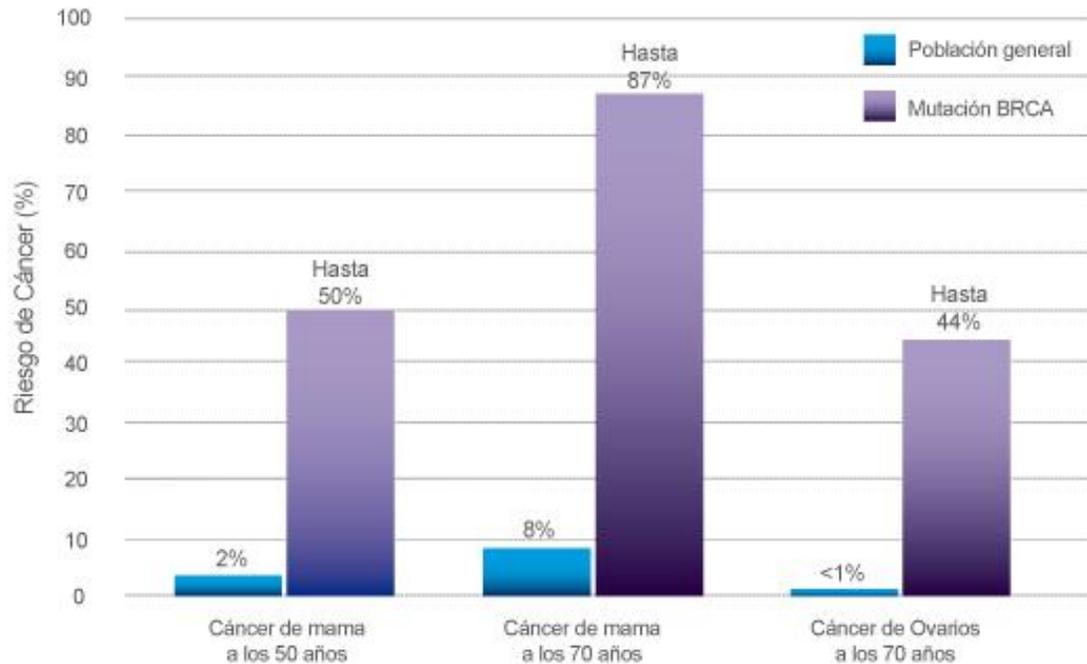


Figura 6. Riesgo de padecer cáncer de mama y ovario si se porta una mutación en los genes *BRCA1/2*.

Las mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* parecen estar distribuidas a lo largo de toda la secuencia codificante, la mayoría de estas mutaciones encontradas en CaMa y CaOv generan una proteína trunca. Los tipos de mutaciones más frecuentes son pequeñas inserciones o deleciones que generan corrimiento del marco de lectura, codón de paro o mutaciones que afectan los sitios de splicing, resultando en la deleción parcial o completa de exones o inserción de secuencias intrónicas. El consorcio vinculado al CaMa ha estimado que aproximadamente el 70% de las mutaciones en *BRCA1* y 93 % de las mutaciones en *BRCA2* son de este tipo (Thompson & Easton, 2004).

También se han identificado rearrreglos de gran escala, incluyendo inserciones, deleciones o duplicaciones de más de 500 kb de DNA, con mayor frecuencia en

BRCA1, propiciado por la alta densidad de secuencias repetidas Alu en este gen, aproximadamente 42% vs 20% en *BRCA2* (Smith et al., 1996).

Mientras que la mayoría de las mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* son observadas infrecuentemente, ciertas mutaciones han sido observadas en varias ocasiones. Mediante análisis de haplotipos usando marcadores que flanquean los genes, se ha demostrado que en la mayoría de los casos, estas mutaciones recurrentes descienden de un solo fundador, tales mutaciones tienden a ser comunes en poblaciones específicas. Este tipo de mutaciones pueden ser más frecuente si la población se ha formado a partir de un grupo fundador relativamente pequeño. Los ejemplos mejor caracterizados ocurren en las poblaciones Judía-Ashkenazi con las mutaciones 185delAG y 5382insC en *BRCA1* y 6174delT en *BRCA2* (Abeliovich et al., 1997), mientras que en la población Islandesa se ha identificado la mutación 999del5 en *BRCA2* (Gudmundsson, Johannesdottir, & Arason, 1996; Thorlacius et al., 1996).

3. Secuenciación de nueva generación

El método de secuenciación Sanger, utilizado desde 1977 (Sanger, Nicklen, & Coulson, 1977), es considerado como de primera generación, y los métodos que surgieron después son referidos como secuenciación de nueva generación (NGS). Estas nuevas tecnologías consisten en la preparación de librería, preparación de templado y el proceso de secuenciación finalmente.

La mayor ventaja ofrecida por NSG es la gran cantidad de información obtenida a costos relativamente bajos. Las principales plataformas son las siguientes:

3.1. Pirosecuenciación:

Es considerado el primer método de secuenciación masiva, el método fue publicado en Nature en 2005 y se describió como un sistema de secuenciación escalable y altamente paralelo, con un rendimiento significativamente mayor que los instrumentos de electroforesis capilar (Margulies et al., 2005).

El método consiste en 4 pasos:

1. Fragmentación del material genético.
2. Ligación de oligonucleótidos (adaptadores) en cada uno de los extremos.
3. Amplificación clonal mediante PCR en emulsión.
4. Secuenciación por síntesis usando un protocolo de pirosecuenciación optimizado en un soporte sólido y en escala de picolitros.

La principal diferencia de este método con la secuenciación Sanger, es que no utiliza nucleótidos terminadores, en este caso, la secuenciación es llevada a cabo por ciclos, en los que se ofrece un nucleótido conocido a la vez, de tal manera que cuando se incorpora el nucleótido correspondiente a la cadena de DNA sintetizada, se libera un pirofosfato, este pirofosfato es convertido en luz que es captado por una cámara; finalmente los datos se procesan (Margulies et al., 2005).

3.2. Illumina

En esta plataforma se utilizan nucleótidos terminadores marcados con moléculas fluorescentes al igual que en la secuenciación Sanger. La principal diferencia de esta tecnología que se lanzó al mercado en el 2006 es la posibilidad de desbloquear al carbono 3' en el que se añade el nucleótido terminador, de tal

manera que pueda aceptar una nueva base para continuar la reacción de secuenciación, haciendo que la incorporación de un nucleótido terminador sea reversible.

Los primeros pasos consisten en la fragmentación del ADN y ligación de adaptadores, para posteriormente realizar la amplificación que consiste en un compartimento de flujo y un estado sólido en el que se encuentran los pozos en los que llevan a cabo la reacción de secuenciación. En este caso, la detección de la incorporación de los nucleótidos se lleva a cabo en una superficie sólida: llamada "*flow cell*", dónde también se lleva a cabo la reacción de secuenciación (Metzker, 2010).

3.3. Ion Torrent

La plataforma Ion Torrent es reconocida como la primera tecnología de secuenciación *postlight* del mundo. Esta tecnología desarrollo un nuevo chip semiconductor con una alta densidad de pozos micromecanizados para realizar procesos bioquímicos de forma masivamente paralela, debajo de los pozos hay una capa sensible a los iones y un sensor de iones (Rusk, 2011) (Figura 7).

Para las plataformas de secuenciación Ion Torrent, el templado es generado en *beads* o *ion sphere particles*, mediante PCR en emulsión. La detección de nucleótidos incorporados no es a través de fluorescencia, si no que al momento de la síntesis del DNA, por cada nucleótido que se incorpora se libera un H⁺, el cual es detectado como un cambio de pH por el microsensor de cada pozo (Figura 8).

Posteriormente se traducen directamente las señales químicas en formato digital (Buermans & den Dunnen, 2014).

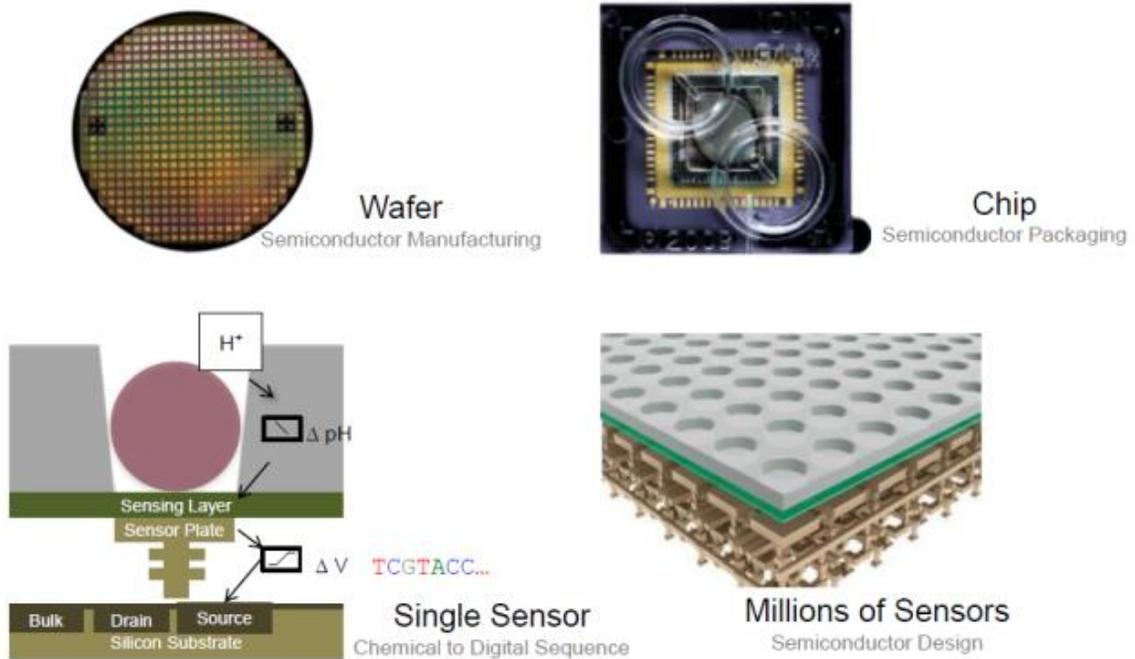


Figura 7. Estructura de los Chips Ion Torrent. Tomado y modificado de (Kohn et al., 2013)

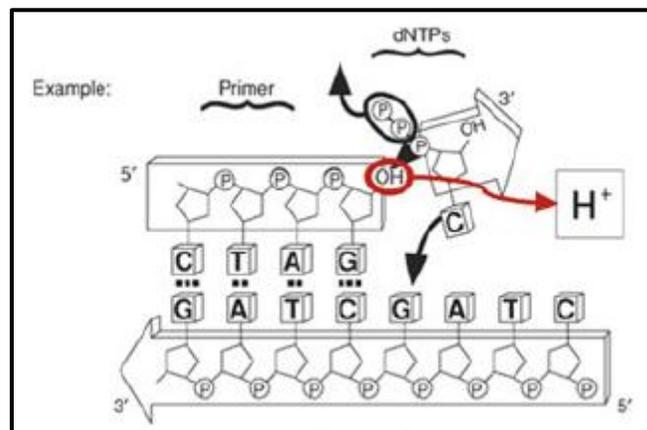


Figura 8. Esquematización de la liberación de un H^+ durante la síntesis de DNA. Tomado y modificado de (Kohn et al., 2013).

La introducción de los secuenciadores semiconductores (*Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM), Ion Torrent Proton, Ion Torrent S5*) (Figura 9) brindan nuevas oportunidades para el estudio genómico del cáncer. En la tabla 7, se observan las características y el rendimiento de los chips utilizados con el PGM.



Figura 9. Secuenciador PGM de Ion torrent.

Tabla 7. Especificaciones y rendimiento de los chips disponibles para el PGM de Ion Torrent. Tomado y modificado de (Kohn et al., 2013)

Ion Torrent PGM			
Tipo de chip	Ion chip 314	Ion chip 316	Ion chip 318
No. de pozos por chip	1 300 000	6 300 000	11 000 000
Rendimiento total	10-40 Mb	100-400 Mb	~1 Gb
Total de lecturas	600 000	3 000 000	6 000 000
Tiempo de corrida en horas	2.4	3.1	4.5

IV. OBJETIVO GENERAL

Identificar mutaciones germinales y somáticas en *BRCA1* y *BRCA2* en pacientes con CaMa y CaOv.

V. OBJETIVOS PARTICULARES

Secuenciar *BRCA1* y *BRCA2* en muestras germinales de CaMa.

Secuenciar *BRCA1* y *BRCA2* en muestras germinales y somáticas de CaOv.

VI. ANTECEDENTES

Los reportes que destacan para el análisis de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* hechos en población hispana son los estudios de Weitzel y colaboradores, quienes documentaron la primera mutación fundadora en población Mexicana (Weitzel et al., 2007).

Entre los estudios reportados en México se encuentran los siguientes:

Ruiz-Flores *et al.*, en el 2002, secuenciaron la región codificante de *BRCA1* y *BRCA2* de linfocitos de 32 pacientes jóvenes con CaMa identificando una frecuencia del 6% de pacientes con una mutación patogénica (Ruiz-Flores et al., 2002).

Vidal-Millán *et al.*, en el 2009, en un grupo de 40 pacientes con CaMa hereditario o mujeres jóvenes, encontraron que un 5% de ellas portaban una mutaciones patogénicas a nivel germinal en *BRCA1* o *BRCA2*.

En el 2012, Vaca-Paniagua *et al.*, mediante pirosecuenciación analizaron las regiones exónicas y regiones de *splicing* de *BRCA1/2* en 39 pacientes con CaMa y/o CaOv, algunos de los cuales presentaban una historia familiar de CaMa; y reportaron una frecuencia del 10.2% de mutaciones en su grupo de estudio (Vaca-Paniagua et al., 2012).

En el 2014, Torres-Mejía et al., analizaron 810 muestras germinales de pacientes con CaMa, identificando 35 mutaciones (20 en *BRCA1* y 15 en *BRCA2*) en 34 pacientes (4.3%) (Torres-Mejia et al., 2015).

En el 2015, Villareal-Garza, utilizando un panel de mutaciones diseñado para población hispana (HISPANEL), encontraron una frecuencia de mutaciones en *BRCA1/2* del 28% y 15% para CaOv y CaMa respectivamente (Villarreal-Garza et al., 2015). Posteriormente el mismo grupo de investigación analizó una cohorte de 190 pacientes mexicanas jóvenes (50 años o menos) con CaMa triple negativo, encontró un alto porcentaje de pacientes positivas para mutaciones en *BRCA1/2* (23%) (Villarreal-Garza et al., 2015).

VII. METODOLOGÍA

Obtención de muestras

Previo consentimiento informado, 126 pacientes con CaMa fueron reclutadas en el Hospital Oncológico de Guadalajara. De cada paciente se obtuvieron 6 mL de sangre periférica. Y 46 pacientes con CaOv se reclutaron en el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN), de las cuales se obtuvo muestra de tumor y 6 mL de sangre periférica.

Los criterios de inclusión y exclusión para el grupo de pacientes con CaOv fueron:

Criterios de inclusión:

- Mayor de 18 años.
- Diagnóstico de cáncer de ovario.
- Información clínica completa en el expediente electrónico.

Criterios de exclusión:

- Pacientes que no reciben tratamiento convencional con cirugía y quimioterapia.

Procesamiento de muestras, cuantificación e integridad del DNA

El DNA fue extraído de leucocitos de sangre periférica utilizando el kit QIAamp DNA Blood Mini kit (Qiagen Cat. No. 51106).

Posteriormente se determinó la concentración del DNA por espectrofotometría (Epoch). Para determinar de manera más exacta la concentración del DNA, la

cuantificación se realizó mediante RNase P Detection Reagent (FAM) (Thermo Fisher Scientific, REF 4316831), finalmente, se verificó su integridad por electroforesis en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio.

Secuenciación en el PGM de Ion Torrent

Los genes *BRCA1/2* fueron amplificados a partir de 25 ng de DNA utilizando el Ion Ampliseq BRCA 1 and 2 panel (Thermo Fisher Scientific), este panel consta de 167 pares de *primers* en 3 *pools* que cubren el 100% de ambos genes (Tabla 8). Se amplificaron las tres librerías para cada muestra y se marcaron con *barcoded* del kit Ion Xpress Barcode Adapters 1-16 o 17-32 (Thermo Fisher Scientific, REF 4471250), fueron purificadas con AMPure XP reagent y cuantificadas con el kit Ion Library Taqman Quantitation Kit (Thermo Fisher Scientific, REF 4468802). Las librerías fueron mezcladas en concentraciones equimolares para realizar una PCR en emulsión con Hi-Q OT2 Reagent Kit (Thermo Fisher Scientific, REF A27743) en el equipo Ion One Touch 2. El enriquecimiento de las ISPs se realizó en el equipo Ion One Touch ES. Las ISPs enriquecidas fueron secuenciadas usando chips 314, 316 o 318 con Ion PGM Hi-Q Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, REFA25589) en el equipo Ion Torrent PGM. En la figura 10 se esquematiza el flujo de trabajo utilizado en Ion Torrent.

Tabla 8. Características del panel utilizado para secuenciar *BRCA1* y *BRCA2*.

<i>Ion Ampliseq BRCA 1 y 2 panel</i>	
Blancos	Regiones codificantes de <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> .
Longitud de los amplicones	200pb.
<i>Primers pools</i>	167 pares de <i>primers</i> en 3 <i>pools</i> .
Requerimiento de DNA	30ng.
Cobertura de los amplicones	<ul style="list-style-type: none"> • 100% de los exones de los blancos y los límites exón-intrón. • Redundancia de cobertura de las secuencias, con amplicones superpuestos. • <i>Primers</i> de alta fidelidad.

Análisis de mutaciones

Las secuencias problema fueron alineadas con el genoma de referencia hg19 (GRCh38). Los archivos .bam fueron exportados a la plataforma de Ion Reporter para identificar las mutaciones de cada una de las pacientes.

Con el fin de verificar la importancia clínica de las mutaciones encontradas, se recurrió a su búsqueda en la base de datos BIC y Clinvar.

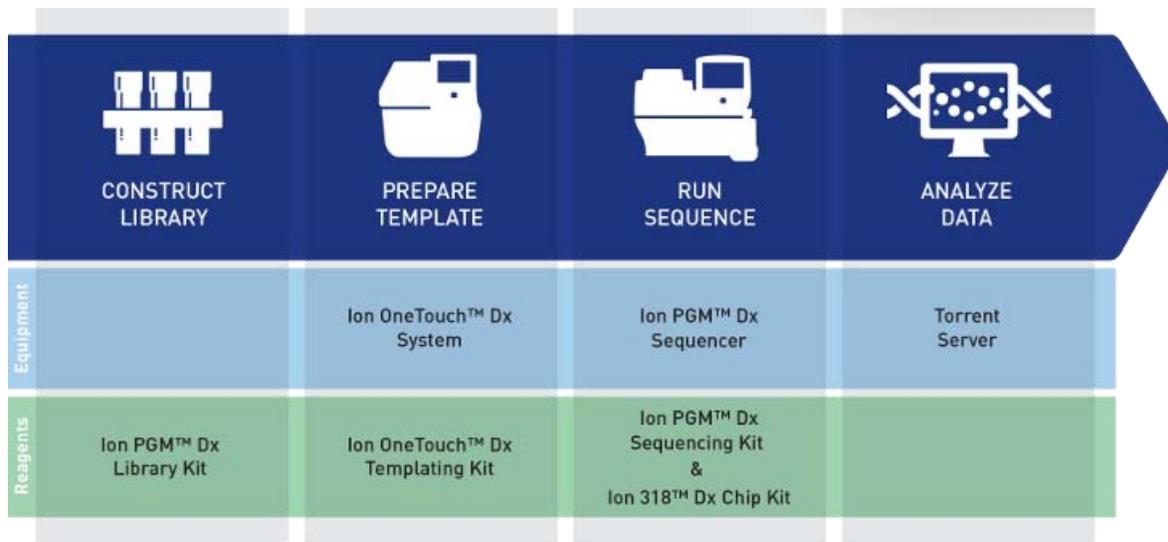


Figura 10. Flujo de trabajo para la secuenciación en Ion Torrent.

VIII. RESULTADOS

La secuenciación de las muestras (126 muestras germinales de pacientes con CaMa y 46 muestras germinales y somáticas de pacientes con CaOv) se llevó a cabo en 10 corridas de secuenciación en el equipo PGM de Ion Torrent.

De manera representativa, en la figura 11, se observan los datos de una de las corridas de secuenciación. Al lado izquierdo se observa el área de cargado del chip, el cual fue de 67%, obteniendo un total de 1.07 G de información; y a la derecha los parámetros que nos indican el porcentaje de lecturas usables, en este caso en particular, del total del cargado, el 67 % fueron lecturas usables (4 914 213), ya que a pesar de obtener un cargado del chip del 67%, existen ISPs que no brindan información, entre ellas, aquellas que no tienen templado, ISPs policlonales (cuando una ISP tiene dos o más amplicones diferentes), y aquellas ISPs que son consideradas de baja calidad o como dímeros de adaptadores.

Y en la figura 12, se observa la distribución del tamaño los fragmentos amplificados, siendo 147 pares de bases el promedio.

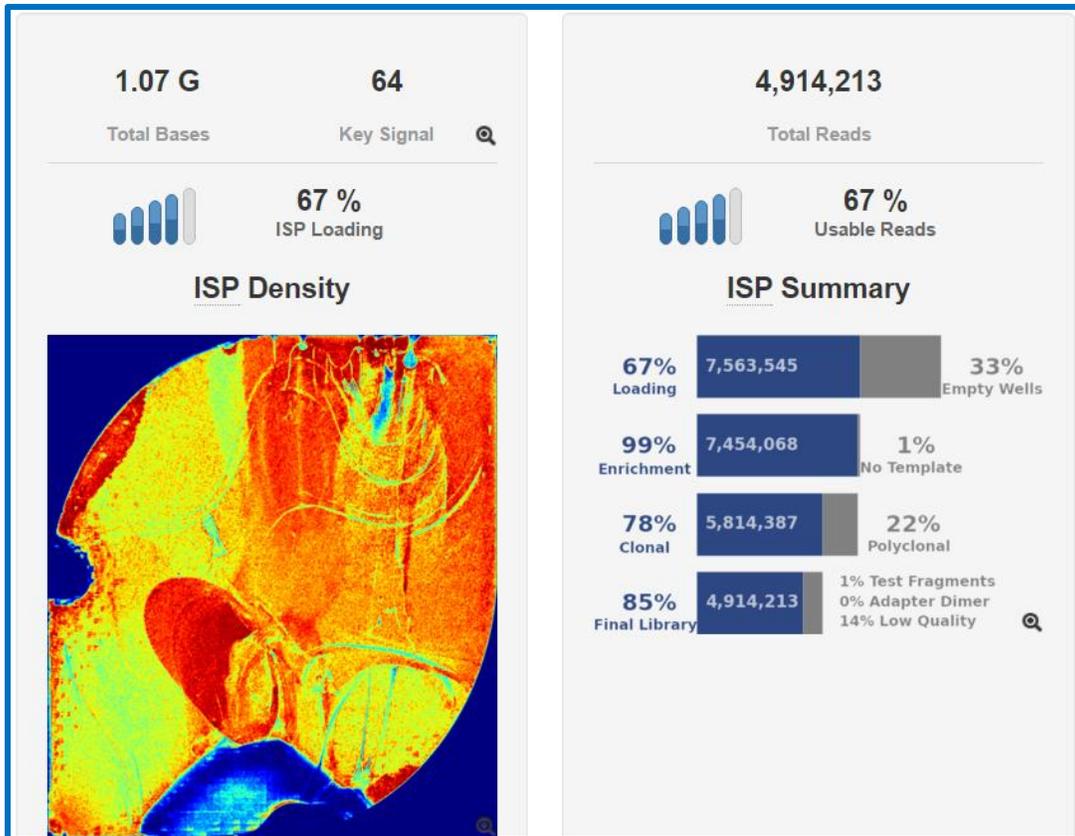


Figura 11. Cargado de chip y porcentaje de lecturas usables.

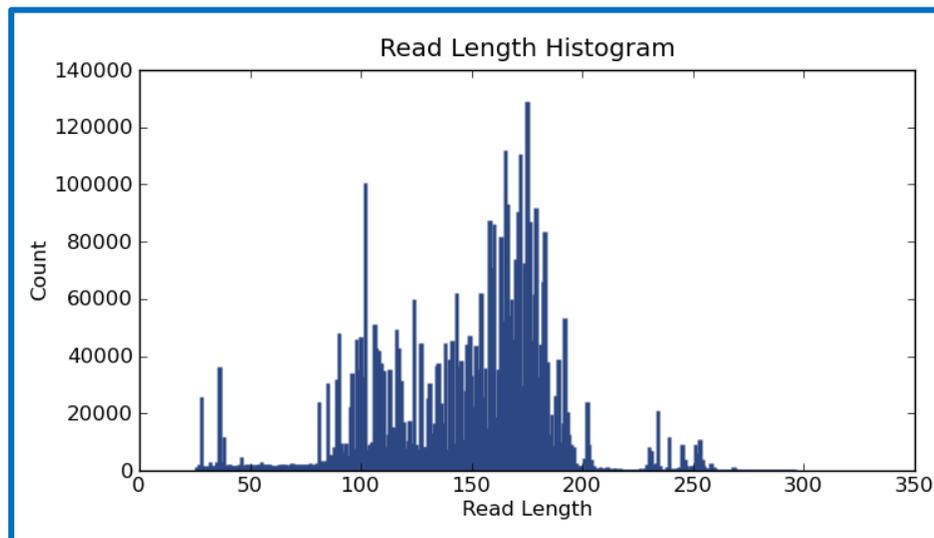


Figura 12. Distribución del tamaño de los fragmentos amplificados para *BRCA1* y *BRCA2*.

Para las muestras germinales se planteó obtener una profundidad promedio de 100x, como se puede observar en la tabla 9, representa 10 muestras germinales de CaMa con la profundidad promedio que se planteó. Y para las muestras somáticas en la tabla 10, se observan valores de cobertura promedio de 1000x obtenidos para diez muestras representativas, la cual nos indica, que para cada muestra somática se obtuvo una profundidad superior a 1000x con una uniformidad mayor al 97%.

Tabla 9. Profundidad promedio y cobertura en muestras germinales de CaMa.

Muestra	Lecturas mapeadas	En el blanco	Profundidad promedio	Uniformidad
M1	21 446	96.57%	131	98.62%
M2	18 714	95.04%	112	97.71%
M3	24 140	97.01%	149	97.93%
M4	18 535	95.9%	111	97.75%
M5	16 768	97.02%	104	98.07%
M6	20 240	95.68%	123	97.69%
M7	16 903	97.57%	105	97.81%
M8	19 512	97.25%	120	98.01%
M9	15 576	96.7%	95	98.02%
M10	19 649	97.89%	121	97.93%

Tabla 10. Profundidad promedio y cobertura de muestras somáticas de CaOv.

Muestra	Lecturas mapeadas	En el blanco	Profundidad promedio	Uniformidad
O1	183 621	97.78%	1 171	98.09%
O2	205 315	97.16%	1 306	98.09%
O3	270 508	98.51%	1 738	98.02%
O4	204 650	98.71%	1 326	98.04%
O5	240 002	98.45%	1 544	97.66%
O6	194 573	98.84%	1 256	97.74%
O7	256 064	98.01%	1 647	98.02%
O8	273 456	97.61%	1 749	98.04%
O9	243 475	96.21%	1 534	97.61%
O10	239 642	97.66%	1 525	97.65%

Mutaciones identificadas en cáncer de mama

De las 126 pacientes con CaMa, 8 (6.34%) fueron positivas para una mutación patogénica, 5 (3.96%) en *BRCA1* y 3 (2.38%) en *BRCA2* (Tabla 11). En *BRCA1* se encontraron 2 deleciones y 2 cambios de un solo nucleótido (SNP), y en *BRCA2* se encontró una deleción y un SNP.

En la figura 13, se puede observar una gráfica en la que se agrupan a las pacientes dependiendo el número de variantes totales encontradas en ambos genes, siendo más común presentar entre 16 y 20 variantes.

Tabla 11. Mutaciones patogénicas en cáncer de mama.

Gen	Secuencia	Impacto en proteína	dbSNP	Importancia clínica	Frecuencia
BRCA1	c.1504_1508del TAAA	p.Leu502fs	rs62625304	Patogénica	1
	c.1960A>T	p.Lys654Ter	rs80357355	Patogénica	1
	c.3598C>T	p.Gln1200Ter	rs62625307	Patogénica	2
	c.4065_4068del TCAA	p.Asn1355fs	rs397509134	Patogénica	1
BRCA2	c.1813delA	p.Ile605fs	rs80359306	Patogénica	2
	c.8219T>G	p.Leu2740Ter	rs80359070	Patogénica	1

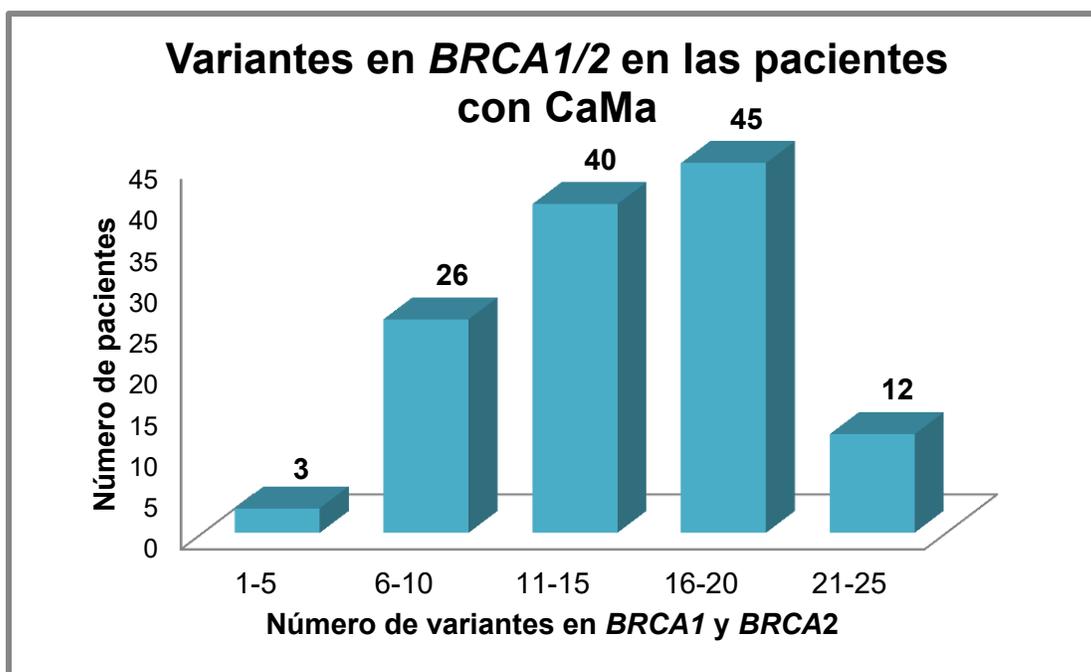


Figura 13. Variantes totales en *BRCA1* y *BRCA2* encontradas en las pacientes con CaMa.

En cuanto al efecto de las mutaciones, las más frecuentes fueron los codones de paro en *BRCA1* (37%), seguido por corrimiento del marco de lectura en ambos genes (25%). (Figura 13).

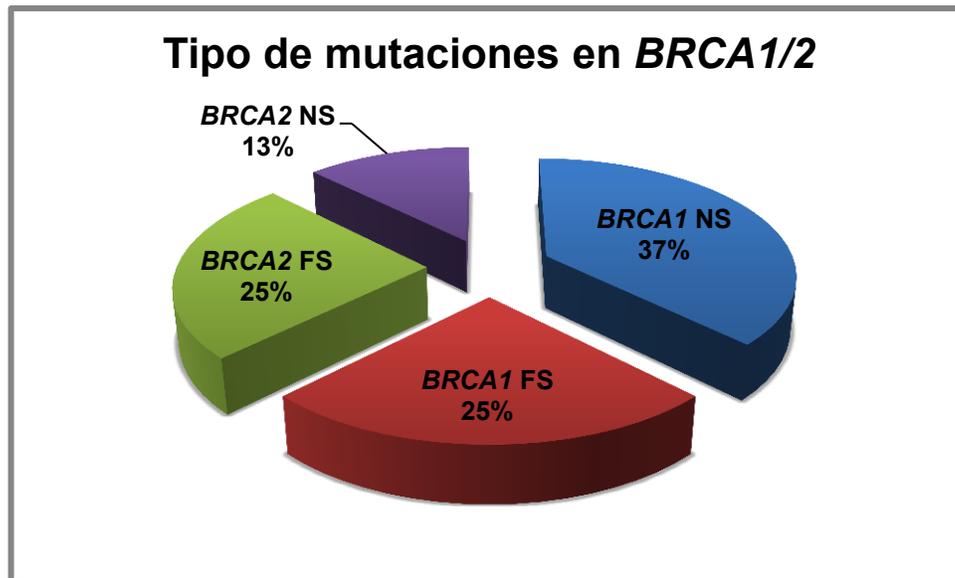


Figura 14. Tipo de mutaciones más encontradas en cáncer de mama.

Características clínicas de las pacientes con cáncer de ovario

En total se recolectaron 46 muestras germinales y somáticas de pacientes con CaOv en el INCAN. La edad promedio de las pacientes con CaOv al diagnóstico fue de 51 años (rango 23-80). En cuanto a su histología, los más frecuentes fueron el seroso papilar de alto grado, de células claras y endometriode. Y finalmente se observa el porcentaje para cada uno de los estadios clínicos (Tabla 12).

Tabla 12. Características clínicas de 46 pacientes con CaOv del INCAN.

	n= 46	%
Edad		
Media	51	
Mínima	23	
Máxima	80	
Histología		
SPAG	10	21.7
SPBG	5	10.8
Mucinoso	2	4.3
Células claras	7	15.2
Endometriode	9	19.5
Limítrofe	5	10.8
Células de la granulosa	2	4.3
Benigno	5	10.8
SD	1	2.1
Estadio FIGO		
I	19	46.3
II	5	12.1
III	13	31.
IV	2	4.8
SD	2	4.8

SPGA, seroso papilar de alto grado; SPBG, seroso papilar de bajo grado; SD, sin datos.

Mutaciones identificadas en cáncer de ovario

En cáncer de ovario, de las 46 pacientes analizadas en 4 de ellas (8.51%) se identificaron mutaciones patogénicas, todas en *BRCA1*. Dos de ellas fueron mutaciones de corrimiento de marco de lectura, y las otras dos fueron cambio de un solo aminoácido (Tabla 13). Todas las mutaciones fueron identificadas en línea germinal, de tal manera que en esta cohorte no se identificaron mutaciones somáticas.

Tabla 13. Mutaciones patogénicas en cáncer de ovario.

Gen	Secuencia	Impacto en proteína	dbSNP	Importancia clínica	Frecuencia
<i>BRCA1</i>	c.3648_3649insA	p.Ser1217fs	rs273900712	Patogénica	2
	c.5186C>A	p.Ala1729Glu	rs28897696	Patogénica	2

IX. DISCUSIÓN

En México se han realizado algunos estudios relevantes para detectar mutaciones en los genes *BRCA1/2*. Sin embargo este es de los pocos trabajos en el que se utiliza la plataforma de Ion Torrent, con un kit que permite abarcar prácticamente el 100% de la región codificante de los genes *BRCA1* y *BRCA2*.

Además es de destacar, la profundidad promedio de 100X alcanzada para muestras germinales, ya que para este tipo de muestras usualmente con una profundidad mínima de 30X es suficiente (Asan et al., 2011). A diferencia de las profundidades requeridas para identificar de manera confiable variantes somáticas, debido a la heterogeneidad del tejido. Puede requerirse una profundidad promedio de 1000X para identificar variantes en tejidos de bajo porcentaje de celularidad tumoral (Jennings et al., 2017); en este estudio para las muestras somáticas de ovario se obtuvieron profundidad promedio de entre 1000-18000X, valores superiores a los sugeridos (Alioto et al., 2015; Griffith et al., 2015).

Tanto el CaMa, como el CaOv, son neoplasias que tienen un componente genético. La frecuencia de mutaciones encontrada en este protocolo se encuentra dentro de los parámetros reportados en otros estudios, de un total de 126 pacientes con CaMa el 6.34% porta una mutación patogénica o deletérea en alguno de los genes BRCA, En este estudio no se tuvo acceso a las características clínicas de las pacientes con CaMa, algo que nos hubiera permitido corroborar que en pacientes con CaMa triple negativo, la frecuencia de

mutaciones es más alto que en otros subtipos moleculares, como se ha reportado en diversos estudios, entre ellos lo publicado por Villareal-Galarza y colaboradores, quienes reportaron un 23% de pacientes positivas para mutaciones en *BRCA1/2* en grupo de pacientes mexicanas con estas características (C. Villarreal-Garza et al., 2015). Otros estudios internacionales reportan hasta un 30.8% de las pacientes con mutación en alguno de estos genes (Greenup et al., 2013).

En la cohorte de 46 pacientes con CaOv, el 8.69% fue positivo una mutación germinal en *BRCA1*. Este estudio también pretendía identificar mutaciones a nivel somático, sin embargo ninguna paciente mostró adquisición de este tipo de mutaciones. Uno de los primeros análisis a gran escala de las variantes en exoma tanto a nivel germinal como somático en cáncer de ovario epitelial, es el reportado por Kanchi y colaboradores (Kanchi et al., 2014), quienes encontraron una frecuencia del 7.46% y 5.83% de mutaciones germinales en *BRCA1* y *BRCA2* respectivamente, mientras que a nivel somático fue del 4.9% y 2.56%, mostrando que ambos genes son los más comúnmente mutados en esta neoplasia.

La principal limitante para este estudio es la identificación de deleciones o inserciones de grandes regiones, ya que al tener estos genes un alto porcentaje de secuencias Alu en su secuencia, son susceptibles a este tipo de mutaciones (principalmente *BRCA1*). Por ejemplo Weitzel (Weitzel, Lagos, Blazer, & Nelson, 2005) identificó una deleción del exón 9 al 12 de *BRCA1*, considerada como una mutación con efecto fundador en la población de origen hispano, y que se encuentra en aproximadamente en el 10% de esta población; este tipo de

mutación es imposible detectar con el tipo de secuenciación utilizada en este protocolo. En el estudio de Villareal-Galarza, se reporta una alta prevalencia de esta mutación en pacientes de la Ciudad de México con un 29% y 35% de todas las mutaciones de *BRCA1* y *BRCA2* respectivamente.

Aunque para el CaMa se han hecho grandes esfuerzos por detectar esta enfermedad en etapas tempranas, desafortunadamente para el CaOv epitelial la mayor parte de los casos se diagnostica en etapas avanzadas; a pesar de un abordaje multidisciplinario inicial exitoso con cirugía citorreductora óptima y adyuvancia basada en platino, no se ha logrado obtener los resultados esperados, ya que el índice de recurrencia sigue siendo alto, aproximadamente del 70% a los tres años de seguimiento (Bukowski, Ozols, & Markman, 2007)

La importancia de detectar mutaciones en los genes *BRCA1/2* recae en tres puntos básicamente, prevención, diagnóstico y tratamiento. Por una parte, aquellos familiares de pacientes que ya han sido identificados como portadores de alguna mutación patogénica, tienen la posibilidad de realizarse la prueba molecular para dicha mutación y tomar alguna decisión preventiva.

En cuanto a diagnóstico, en estudios recientes, se ha demostrado que mutaciones germinales deletéreas en *BRCA1/2* en pacientes con CaOv o CaMa, están asociadas a una mayor tasa de supervivencia global en portadores (48%) con respecto a no-portadores (36%); es decir, la presencia funcional de ambos genes en la célula tumoral le permite sobrevivir a la terapia convencional (Bolton et al., 2012).

Las mujeres con mutaciones en línea germinal del gen *BRCA1*, *BRCA2* o ambos, tienen un riesgo incrementado de presentar CaMa y CaOv, lo cual está estrechamente relacionado con defectos en la reparación de daño al DNA. Sin embargo, los defectos en la reparación del DNA por recombinación homóloga, puede surgir a partir de otros mecanismos, resultando en un fenotipo *BRCA-like*. Por esta razón se ha introducido el concepto *BRCAness* para describir el fenotipo compartido entre los tumores esporádicos y los tumores familiares con mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. La principal característica del fenotipo *BRCAness*, es una elevada inestabilidad genómica y deficiente actividad de la vía de recombinación homóloga.

Un análisis computacional muestra que el fenotipo *BRCAness* puede ser causado por diferentes mecanismos genómicos, que incluye, mutaciones somáticas, metilación aberrante, deleción y desregulación de la expresión de genes involucrados en la reparación del DNA (Wang et al., 2017)

Particularmente, cerca del 50% de las pacientes con carcinoma seroso de alto grado tiene células tumorales deficientes en la recombinación homóloga como resultado de una mutación germinal o somática, inactivación epigenética de *BRCA1* o defectos en la vía de recombinación homóloga. Esto da base al uso de los inhibidores de PARP-1, ya que está bien descrito un mecanismo conocido como letalidad sintética, el cual nos indica que si a las células se les inhiben vías de señalización con una función similar o sobrelapada, las células mueren por apoptosis, en este caso, las vías afectadas son recombinación homóloga cuando

se porta una mutación en los genes *BRCA1/2* y por otra parte PARP-1 mediante su inhibición farmacológica (Ledermann et al., 2016).

En resumen, los tres estudios randomizados fase III (NOVA, SOLO2, ARIEL3) confirman que la inhibición de PARP es altamente eficiente en el mantenimiento de las pacientes con CaOv sensibles al platino, y sugiere que el beneficio es mayor en las poblaciones con mutaciones en *BRCA1/2* (Mirza et al., 2018). De igual manera en el estudio randomizado fase III OlympiAD en pacientes con CaMa metastásico HER- y con mutaciones germinales en *BRCA1/2* se demostró que el Olaparib (uno de los inhibidores de PARP mayormente estudiados) mejora la sobrevida libre de progresión (Griguolo, Dieci, Guarneri, & Conte, 2018).

Interesantemente, los inhibidores de PARP no son tóxicos para las células normales. Las líneas celulares que son homocigotas para mutaciones de pérdida de la función de *BRCA1/2*, son altamente sensibles a los inhibidores de PARP, comparadas con células heterocigotas para dichas mutaciones y células con fenotipo silvestre para *BRCA1/2*.

X. CONCLUSIONES

En este estudio se encontró un porcentaje del 6.34% de pacientes positivas para mutaciones en *BRCA1/2* en CaMa, en una cohorte de 126 pacientes.

En este grupo de pacientes con CaMa *BRCA1* fue el gen más frecuentemente mutado con un 3.96%, mientras que el porcentaje para *BRCA2* fue de 2.38%.

En CaOv únicamente se encontraron mutaciones en *BRCA1*, el porcentaje de pacientes con mutaciones germinales en *BRCA1* fue de 8.69%.

En esta cohorte de pacientes con CaOv, no se identificaron mutaciones somáticas.

XI. REFERENCIAS

- Abeliovich, D., Kaduri, L., Lerer, I., Weinberg, N., Amir, G., Sagi, M., ... Peretz, T. (1997). The founder mutations 185delAG and 5382insC in BRCA1 and 6174delT in BRCA2 appear in 60% of ovarian cancer and 30% of early-onset breast cancer patients among Ashkenazi women. *American Journal of Human Genetics*, 60(3), 505–514.
- Alioto, T. S., Buchhalter, I., Derdak, S., Hutter, B., Eldridge, M. D., Hovig, E., ... Gut, I. G. (2015). A comprehensive assessment of somatic mutation detection in cancer using whole-genome sequencing. *Nature Communications*, 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms10001>
- Arce, C., Bargalló, E., Villaseñor, Y., Gamboa, C., Lara, F., Pérez, V., ... Salinas, C. A. (2011). Cáncer de Mama. *Cancerología*, 6(11), 77–86.
- Asan, Xu, Y., Jiang, H., Tyler-Smith, C., Xue, Y., Jiang, T., ... Zhang, X. (2011). Comprehensive comparison of three commercial human whole-exome capture platforms. *Genome Biology*, 12(9). <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-9-r95>
- Buermans, H. P. J., & den Dunnen, J. T. (2014). Next generation sequencing technology: Advances and applications. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1842(10), 1932–1941. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.06.015>
- Bukowski, R. M., Ozols, R. F., & Markman, M. (2007). The Management of Recurrent Ovarian Cancer. *Seminars in Oncology*, 34(SUPPL. 2), S1–S15.

<https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2007.03.012>

Cárdenas Sánchez, J., Bargalló Rocha, E., Erazo Valle, A., Poitevin Chacón, A., Valero Castillo, V., & Pérez Sánchez, V. (2015). *Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Gaceta Mexicana de Oncología* (Vol. 14). Retrieved from www.smeo.org.mx%5Cnwww.elsevier.es

Chapman, M. S., & Verma, I. M. (1996). Transcriptional activation by BRCA1. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/382678a0>

Chávarri-Guerra, Y., Villarreal-Garza, C., Liedke, P. E. R., Knaul, F., Mohar, A., Finkelstein, D. M., & Goss, P. E. (2012). Breast cancer in Mexico: A growing challenge to health and the health system. *The Lancet Oncology*, 13(8), e335–e343. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70246-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70246-2)

Claus, E. B., Schildkraut, J. M., Thompson, W. D., & Risch, N. J. (1996). The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. *Cancer*, 77(11), 2318–2324. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19960601\)77:11<2318::AID-CNCR21>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19960601)77:11<2318::AID-CNCR21>3.0.CO;2-Z)

Coates, A. S., Winer, E. P., Goldhirsch, A., Gelber, R. D., Gnant, M., Piccart-Gebhart, M., ... Senn, H.-J. (2015). Tailoring therapies - improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, 26(8), 1533–1546. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv221>

David Cortez, Yi Wang, Jun Qin, S. J. E. (1999). Requirement of ATM-Dependent Phosphorylation of Brcal in the DNA Damage Response to Double-Strand Breaks. *Science*, 286(November 1999), 1162–1166.

<https://doi.org/10.1126/science.286.5442.1162>

Elston CW, E. I. (2002). Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 41: 154-61, 151–153.

Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5), E359–E386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>

Gallardo Rincón, D., Montalvo Esquivel, G., González Enciso, A., Cantú de León, D. F., Isla Ortíz, D., Muñoz González, D. E., ... Alberto Coronel Martínez Ángel Herrera Gómez, J. (2011). Cáncer Epitelial de Ovario. *Cancerología*, 6, 53–60. Retrieved from <http://incan-mexico.org/revistainvestiga/elementos/documentosPortada/1327324457.pdf>

Goldhirsch, A., Winer, E. P., Coates, A. S., Gelber, R. D., Piccart-Gebhart, M., Thürlimann, B., ... Wood, W. C. (2013). Personalizing the treatment of women with early breast cancer: Highlights of the st gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast Cancer 2013. *Annals of Oncology*, 24(9), 2206–2223. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt303>

Goldhirsch, A., Wood, W. C., Coates, A. S., Gelber, R. D., Thürlimann, B., & Senn,

- H. J. (2011). Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: Highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011. *Annals of Oncology*, 22(8), 1736–1747. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr304>
- Greenup, R., Buchanan, A., Lorizio, W., Rhoads, K., Chan, S., Leedom, T., ... Shelley Hwang, E. (2013). Prevalence of BRCA mutations among women with triple-negative breast cancer (TNBC) in a genetic counseling cohort. *Annals of Surgical Oncology*, 20(10), 3254–3258. <https://doi.org/10.1245/s10434-013-3205-1>
- Griffith, M., Miller, C. A., Griffith, O. L., Krysiak, K., Skidmore, Z. L., Ramu, A., ... Wilson, R. K. (2015). Optimizing Cancer Genome Sequencing and Analysis. *Cell Systems*, 1(3), 210–223. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2015.08.015>
- Griguolo, G., Dieci, M. V., Guarneri, V., & Conte, P. (2018). Olaparib for the treatment of breast cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 0(0), 14737140.2018.1458613. <https://doi.org/10.1080/14737140.2018.1458613>
- Gudmundsson, J., Johannesdottir, G., & Arason, A. (1996). Frequent Occurrence of BRCA2 Linkage. *Science*, 217, 749–756.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. <https://doi.org/10.1007/s00262-010-0968-0>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

Hunn, J., & Rodriguez, G. C. (2012). Ovarian Cancer : Etiology , Risk Factors , and Epidemiology, *55*(1), 3–23.

Imigo, F., Mansilla, E., Delama, I., Poblete, M. T., & Fonfach, C. (2011). Clasificación molecular del cáncer de mama, 67–74.

Isabelle Romieu, I., Amadou, A., & Chajes, V. (2017). The role of diet, physical activity, body fatness, and breastfeeding in breast cancer in young women: Epidemiological evidence. *Revista de Investigacion Clinica*, *69*(4), 193–203. <https://doi.org/10.24875/RIC.17002263>

Jelovac, D., & Armstrong, D. K. (2011). Recent progress in the diagnosis and treatment of ovarian cancer. *CA Cancer J Clin*, *61*(3), 183–203. <https://doi.org/10.3322/caac.20113>. Available

Jennings, L. J., Arcila, M. E., Corless, C., Kamel-Reid, S., Lubin, I. M., Pfeifer, J., ... Nikiforova, M. N. (2017). Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing–Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *Journal of Molecular Diagnostics*, *19*(3), 341–365. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.01.011>

Kaku, T., Ogawa, S., Kawano, Y., Ohishi, Y., Kobayashi, H., Hirakawa, T., & Nakano, H. (2003). Histological classification of ovarian cancer. *Medical Electron Microscopy*, *36*(1), 9–17. <https://doi.org/10.1007/s007950300002>

Kanchi, K. L., Johnson, K. J., Lu, C., McLellan, M. D., Leiserson, M. D. M., Wendl,

- M. C., ... Ding, L. (2014). Integrated analysis of germline and somatic variants in ovarian cancer. *Nature Communications*, 5, 1–14.
<https://doi.org/10.1038/ncomms4156>
- Kohn, A. B., Moroz, T. P., Barnes, J. P., Netherton, M., & Moroz, L. L. (2013). *Biological Aging* (Vol. 1048). <https://doi.org/10.1007/978-1-62703-556-9>
- Ledermann, J. A., Drew, Y., & Kristeleit, R. S. (2016). Homologous recombination deficiency and ovarian cancer. *European Journal of Cancer*, 60, 49–58.
<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.03.005>
- López-Graniel, C., González Encizo, A., Cantú de León, D., Chang, I., & Padilla Longoria, R. (2007). Cirugía Citoreductora Primaria para Cáncer de Ovario en México. *Cancerología, Sup 1*, s37–s40.
- Mallery, D. L., Vandenberg, C. J., & Hiom, K. (2002). Activation of the E3 ligase function of the BRCA1/BARD1 complex by polyubiquitin chains. *EMBO Journal*, 21(24), 6755–6762. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf691>
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W. E., Attiya, S., Bader, J. S., Bemben, L. A., ... Rothberg, J. M. (2005). Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437(7057), 376–380.
<https://doi.org/10.1038/nature03959>
- Metzker, M. L. (2010). Sequencing technologies the next generation. *Nature Reviews Genetics*, 11(1), 31–46. <https://doi.org/10.1038/nrg2626>
- Miki, Y., Swensen, J., Shattuck-eidens, D., Futreal, P. A., Tavtigian, S., Liu, Q., ...

- Skolnick, M. H. (1994). Candidate Ovarian and Breast Susceptibility Gene for the Cancer. *Science*, 266(May), 5–11.
- Mirza, M. R., Pignata, S., & Ledermann, J. A. (2018). Latest clinical evidence and further development of PARP inhibitors in ovarian cancer, (May).
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdy174/4994787>
- Monteiro, a N., August, A., & Hanafusa, H. (1996). Evidence for a transcriptional activation function of BRCA1 C-terminal region. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 13595–13599.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13595>
- Ornelas-Aguirre, J. M., & Perez, L. M. D. la A. (2013). Clasificación Molecular del Cáncer de Mama: Relación con las características clinicopatológicas y el grado histológico en mujeres del noroeste de México. *Cirugia Y Cirujanos*, 81(64), 496–507.
- Perou, C. M., Sùrlie, T., Eisen, M. B., Rijn, M. Van De, Jeffrey, S. S., Rees, C. A., ... Grant, S. (2000). Perou2000Nature, 533(May), 747–752.
<https://doi.org/10.1038/35021093>
- Raja, F. A., Chopra, N., & Ledermann, J. A. (2012). Optimal first-line treatment in ovarian cancer. *Annals of Oncology*, 23(SUPPL. 10).
<https://doi.org/10.1093/annonc/mds315>
- Risch, H. A., McLaughlin, J. R., Cole, D. E. C., Rosen, B., Bradley, L., Kwan, E., ... Narod, S. A. (2001). Prevalence and Penetrance of Germline BRCA1 and

BRCA2 Mutations in a Population Series of 649 Women with Ovarian Cancer.

The American Journal of Human Genetics, 68(3), 700–710.

<https://doi.org/10.1086/318787>

Roy, R., Chun, J., & Powell, S. N. (2012). BRCA1 and BRCA2: Different roles in a common pathway of genome protection. *Nature Reviews Cancer*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrc3181>

Ruiz-Flores, P., Sinilnikova, O. M., Badzioch, M., Calderon-Garcidueñas, A. L., Chopin, S., Fabrice, O., ... Barrera-Saldaña, H. A. (2002). BRCA1 and BRCA2 mutation analysis of early-onset and familial breast cancer cases in Mexico. *Human Mutation*, 20(6), 474–475. <https://doi.org/10.1002/humu.9084>

Rusk, N. (2011). Torrents of sequence. *Nature Methods*, 8(1), 44.

<https://doi.org/10.1038/nmeth.f.330>

Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>

Scully, R., Chen, J., Ochs, R. L., Keegan, K., Hoekstra, M., Feunteun, J., & Livingston, D. M. (1997). Dynamic changes of BRCA1 subnuclear location and phosphorylation state are initiated by DNA damage. *Cell*, 90(3), 425–435.

[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80503-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80503-6)

Scully, R., Chen, J., Plug, A., Xiao, Y., Weaver, D., Feunteun, J., ... Livingston, D. M. (1997). Association of BRCA1 with Rad51 in mitotic and meiotic cells. *Cell*,

88(2), 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81847-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81847-4)

Sharan, S. K., Morimatsu, M., Albrecht, U., Lim, D.-S., Regel, E., Dinh, C., ...

Bradley, A. (1997). Embryonic lethality and radiation hypersensitivity mediated by Rad51 in mice lacking Brca2. *Nature*, 386(6627), 804–810.

<https://doi.org/10.1038/386804a0>

Shih, I.-M., & Kurman, R. J. (2004). Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *The American Journal of Pathology*, 164(5), 1511–1518. <https://doi.org/D - NLM:>

PMC1615664 EDAT- 2004/04/28 05:00 MHDA- 2004/06/05 05:00 CRDT- 2004/04/28 05:00 AID - S0002-9440(10)63708-X [pii] PST - ppublish

Sledge, G. W. (2014). Past , Present , and Future Challenges in Breast Cancer Treatment, 32(19), 15–19. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.55.4139>

Sledge, G. W., Mamounas, E. P., Health, F., Hortobagyi, G. N., & Burstein, H. J. (2017). Past , Present , and Future Challenges in Breast Cancer Treatment, 32(19), 15–19. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.55.4139>

Smith, T. M., Lee, M. K., Szabo, C. I., Jerome, N., Mceuen, M., Taylor, M., ... King, M.-C. (1996). Complete Genomic Sequence and Analysis of 117 kb of Human DNA Containing the Gene BRCA1. *Genome Research*, 6, 1029–1049. <https://doi.org/10.1101/gr.6.11.1029>

Thompson, D., & Easton, D. (2004). The genetic epidemiology of breast cancer genes. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 9(3), 221–236.

<https://doi.org/10.1023/B:JOMG.0000048770.90334.3b>

Thorlacius, S., Olafsdottir, G., Tryggvadottir, L., Neuhausen, S., Jonasson, J. G., Tavtigian, S. V., ... Eyfjörd, J. E. (1996). A single BRCA2 mutation in male and female breast cancer families from Iceland with varied cancer phenotypes. *Nature Genetics*, *13*(1), 117–119. <https://doi.org/10.1038/ng0596-117>

Torres-Mejia, G., Royer, R., Llacuachaqui, M., Akbari, M. R., Giuliano, A. R., Martinez-Matsushita, L., ... Narod, S. A. (2015). Recurrent BRCA1 and BRCA2 Mutations in Mexican Women with Breast Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, *24*(3), 498–505. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-13-0980>

Underhill, C., Toulmonde, M., & Bonnefoi, H. (2011). A review of PARP inhibitors: from bench to bedside. *Annals of Oncology*, *22*(2), 268–279. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq322>

Vaca-Paniagua, F., Alvarez-Gomez, R. M., Fragoso-Ontiveros, V., Vidal-Millan, S., Herrera, L. A., Cantú, D., ... Pérez-Plasencia, C. (2012). Full-Exon pyrosequencing screening of BRCA germline mutations in Mexican women with inherited breast and ovarian cancer. *PLoS ONE*, *7*(5), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037432>

Villarreal-Garza, C., Aguila, C., Magallanes-Hoyos, M. C., Mohar, A., Bargallo, E., Meneses, A., ... Barrios, C. (2013). Breast Cancer in Young Women in Latin America: An Unmet, Growing Burden. *The Oncologist*, *18*(12), 1298–1306. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2013-0321>

Villarreal-Garza, C., Alvarez-Gómez, R. M., Pérez-Plasencia, C., Herrera, L. A., Herzog, J., Castillo, D., ... Weitzel, J. N. (2015). Significant clinical impact of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Mexico. *Cancer*, *121*(3), 372–378. <https://doi.org/10.1002/cncr.29058>

Villarreal-Garza, C., Platas, A., Bargalló-Rocha, J. E., Lasa, F., Reynoso, N., Águila-Mancera, C., ... Mohar-Betancourt, A. (2015). Cáncer de mama en mujeres jóvenes. Experiencia en el Instituto Nacional de Cancerología. *Revista Mexicana De Mastología*, *5*(1), 12–17. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmexmastol/ma-2015/ma151c.pdf>

Villarreal-Garza, C., Weitzel, J. N., Llacuachaqui, M., Sifuentes, E., Magallanes-Hoyos, M. C., Gallardo, L., ... Narod, S. A. (2015). The prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations among young Mexican women with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, *150*(2), 389–394. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3312-8>

Vogelstein, B., & Kinzler, K. W. (2004). Cancer genes and the pathways they control. *Nature Medicine*, *10*(8), 789–799. <https://doi.org/10.1038/nm1087>

Walsh, C. S. (2015). Two decades beyond BRCA1/2: Homologous recombination, hereditary cancer risk and a target for ovarian cancer therapy? *Gynecologic Oncology*, *137*(2), 343–350. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.02.017>

Wang, Y., Ung, M. H., Cantor, S., & Cheng, C. (2017). Computational Investigation of Homologous Recombination DNA Repair Deficiency in Sporadic Breast Cancer. *Scientific Reports*, (September), 1–15.

<https://doi.org/10.1038/s41598-017-16138-2>

Weigelt, B., & Reis-Filho, J. S. (2009). Histological and molecular types of breast cancer: is there a unifying taxonomy? *Nature Reviews Clinical Oncology*, 6(12), 718–730. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.166>

Weitzel, J. N., Lagos, V., Blazer, K. R., & Nelson, R. (2005). Prevalence of BRCA Mutations and Founder Effect in High-Risk Hispanic Families Prevalence of BRCA Mutations and Founder Effect in High-Risk Hispanic Families, 14(July), 1666–1671.

Weitzel, J. N., Lagos, V. I., Herzog, J. S., Judkins, T., Hendrickson, B., Ho, J. S., ... Scholl, T. (2007). Evidence for common ancestral origin of a recurring BRCA1 genomic rearrangement identified in high-risk hispanic families. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 16(8), 1615–1620. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0198>

Wong, A. K. C., Pero, R., Ormonde, P. A., Tavtigian, S. V., & Bartel, P. L. (1997). RAD51 interacts with the evolutionarily conserved BRC motifs in the human breast cancer susceptibility gene *brca2*. *Journal of Biological Chemistry*, 272(51), 31941–31944. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.51.31941>

Wooster, R., Bignell, G., Lancaster, J., Swift, S., Seal, S., Mangion, J., ... Stratton, M. R. (1995). Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*, 378(6559), 789–792. <https://doi.org/10.1038/378789a0>