



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

“EFECTO DE LA ANCESTRÍA EN EL PERFIL CLÍNICO Y MUTACIONAL DE
MUJERES CON CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestro en Ciencias

PRESENTA:

María Fernanda Carrillo Lozada

TUTOR PRINCIPAL:

Dra. María Teresa Tusié Luna

[Instituto de Investigaciones Biomédicas](#)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Dra. María Gonsebatt Bonaparte

[Instituto de Investigaciones Biomédicas](#)

Dr. David Cantú de León

[Instituto Nacional de Cancerología](#)

Ciudad de México. Febrero, 2024



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.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca nacional (No.782618) que me permitió realizar mis estudios de posgrado. A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Programa de Maestría en Ciencias Bioquímicas.

A los colaboradores clínicos en las distintas instituciones participantes, de manera especial a las Dras. Cynthia Villarreal, Dione Aguilar, Lenny Gallardo y la Dra. Raquel Gerson.

A los Doctores María Eugenia Gonsebatt y David Cantú de León por formar parte de mi comité tutor y orientarme en este ejercicio de investigación desde sus perspectivas profesionales.

A la Dra. María Teresa Tusié Luna por aceptarme en su grupo de trabajo, por la confianza para realizar este proyecto y el apoyo moral durante el camino. A la Dra. Hortensia Moreno por todo su tiempo y paciencia, para realizar los análisis estadísticos.

A los miembros del jurado de examen, por sus grandes aportes en la escritura de este trabajo.

A mi familia.

ÍNDICE

Contenido

AGRADECIMIENTOS	2
ÍNDICE	3
1. ÍNDICE DE FIGURAS	4
2. ABREVIATURAS	5
3. RESUMEN	6
4. INTRODUCCIÓN	7
4.1 INCIDENCIA DEL CÁNCER DE MAMA	7
5. ANTECEDENTES	9
5.1 CÁNCER DE MAMA	9
5.2 SÍNDROME DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO	16
5.3 ESTUDIOS GENÉTICOS EN ANCESTRÍAS MESTIZAS DE LATINOAMÉRICA	20
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
7. HIPÓTESIS	26
8. OBJETIVO GENERAL	26
8.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
9. METODOLOGÍA	27
9.1 ANÁLISIS DE MUTACIONES GENÉTICAS	27
9.2 ANÁLISIS DE MARCADORES DE ANCESTRÍA	28
9.3 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN	28
10. RESULTADOS	29
10.1 PRESENCIA DE MUTACIONES EN LOS GENES DE SÍNDROME HEREDITARIO DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO	31
10.2 DESCRIPCIÓN DE LA ANCESTRÍA NATIVO AMERICANA EN LA MUESTRA	32
10.3 INFORMACIÓN ADICIONAL REFERENTE A LOS TUMORES Y SUBTIPOS DE CÁNCER PRESENTES	33
11. DISCUSIÓN	43
12. LIMITACIONES	45
13. REFERENCIAS	46
13. ANEXOS	50

1. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia y mortalidad de 2015-2019 en Estados Unidos, comparación por grupos étnicos. (SEER, 2022)	8
Tabla 1. Factores que aumentan el riesgo relativo del cáncer de mama invasivo en mujeres.	9
Tabla 2. Participación de <i>BRCA1/2</i> en funciones celulares, así como el dominio que participa y quienes forman parte de la unión para llevar a cabo la actividad (Roy et al., 2012).	15
Tabla 3. Síndromes relacionados con cáncer hereditario por mutaciones en línea germinal de diversos genes	17
Tabla 4. Mutaciones fundadoras genéticas en países de América Latina.	19
Tabla 5. Distribuciones poblacionales de estudios genómicos presentes en la última versión de gnomAD v3.	20
Tabla 6. Costos de secuenciación de búsqueda en los genes principales de SHCMO vs Panel multigen en EUA 2017.	21
Tabla 7. Características generales de los pacientes.	28
Tabla 8. Mutaciones presentes en la muestra	30
Tabla 9. Descripción de la ancestría nativo americana	31
Tabla 10. Información clínica de los pacientes con cáncer	32
Figura 2. Comparación de edad de diagnóstico entre hospitales.	33
Figura 3. Comparación del % de ancestría nativo americana entre hospitales.	34
Figura 4. Comparación edad de diagnóstico entre pacientes con una mutación positiva germinal en genes del Síndrome de Cáncer Hereditario de Mama y Ovario vs negativa.	35
Figura 5. Comparación % de ancestría nativo- americana entre pacientes con una mutación positiva germinal en genes del Síndrome de Cáncer Hereditario de Mama y Ovario vs negativa.	35
Figura 6. Comparación edad de diagnóstico entre pacientes con una mutación positiva germinal en genes del SHCMO de categoría alta penetrancia (<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> y <i>TP53</i>) vs genes de baja penetrancia (<i>PALB2</i> , <i>CHEK2</i> , <i>ATM</i> , <i>MUTYH</i>).	36
Figura 7. Comparación % ancestría nativo-americana entre pacientes con una mutación positiva germinal en genes del SHCMO de categoría alta penetrancia (<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> y <i>TP53</i>) vs genes de baja penetrancia (<i>PALB2</i> , <i>CHEK2</i> , <i>ATM</i> , <i>MUTYH</i>).	37
Figura 8. Grupo 50% Nativo Americano, comparación de la edad diagnóstico en positivos en mutaciones de genes SHCMO vs negativos	37
Figura 9. Grupo 50% Nativo Americano, comparación de la edad diagnóstico en pacientes portadores de mutaciones en genes alta penetrancia (<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> y <i>TP53</i>) vs genes de baja penetrancia (<i>PALB2</i> , <i>CHEK2</i> , <i>ATM</i> , <i>MUTYH</i>).	38
Figura 10. Grupo de pacientes con ancestría Europea mayor al 50%, comparación de edad de diagnóstico entre individuos positivos y negativos para la presencia de mutaciones	39

Figura 11. Grupo de pacientes con ancestría Europea mayor al 50%, comparación de edad de diagnóstico entre individuos positivos en genes de penetrancia alta (<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> y <i>TP53</i>) vs genes de baja penetrancia (<i>PALB2</i> , <i>CHEK2</i> , <i>ATM</i> , <i>MUTYH</i>).	39
Figura 12. Comparación del porcentaje de ancestría nativo-americana entre los pacientes con el subtipo de cáncer de mama conocido.	40
Figura 13. Comparación del porcentaje de ancestría nativo-americana entre los pacientes con subtipo Triple Negativo vs otros subtipos tumorales.	40

2. ABREVIATURAS

- GLOBOCAN: Observatorio Global de Cáncer
- INCAN: Instituto Nacional de Cancerología
- SEER EXPLORER: Surveillance, Epidemiology and End Results, E.U.A.
- NIH: National Cancer Institute, E.U.A.
- In situ: En el lugar, en el sitio
- De novo: Cambio en la secuencia del ADN observada por primera vez
- Locus: Posición fija en un cromosoma que determina la posición de un gen o marcador
- Ca. De mama: Cáncer de mama
- K.Da: Kilodalton
- *BRCA1*: Gen cáncer de seno 1
- *BRCA2*: Gen cáncer de seno 2
- RH: Receptor hormonal
- RE: Receptor a estrógenos
- RP: Receptor a progesterona
- HER2: Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano
- ADN: Ácido desoxirribonucleico
- TN: Subtipo de cáncer triple negativo
- CDKS: Cinasas dependientes de ciclina
- Homocigosidad: Posesión de 2 alelos idénticos en una posición determinada
- G1-S: La transición es una etapa del ciclo celular en el límite entre la fase G1, en la que crece la célula, y la fase S, durante la cual se replica el ADN
- pRb: Proteína de la retinoblastoma
- HR: Reparación homologa
- a.a: Aminoácido
- SHCMO: Síndrome Hereditario de Cáncer de Mama y Ovario
- FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos en EUA
- PARP: Inhibidor de la poli-(ADP-ribosa)-polimerasa
- gnomAD: Genome aggregation database
- ExAC: Consorcio de agregación de exomas
- Hispanel: Panel de mutación hispana
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- CNVs: Variación en el número de copias

- VUS: Variante de significado incierto (VUS en inglés)
- SigmaT2D: Slim Initiative in Genomic Medicine for the Americas (SIGMA): Diabetes in Mexico Study (DMS)
- SNPs: Variante de un solo nucleótido
- Indels: Inserción o deleción
- SamTools: Conjunto de utilidades para interactuar y postprocesar alineaciones cortas de lectura de secuencias de ADN en los formatos SAM (Sequence Alignment/Map), BAM (Binary Alignment/Map) y CRAM, escritas por Heng Li
- BWA: Paquete de software para mapear secuencias poco divergentes basado en un índice de Burrows-Wheeler contra un gran genoma de referencia, como el genoma humano
- VarScan: Llamador de mutaciones independiente de la plataforma para datos de resecuenciación del genoma completo, del exoma y específicos generados en Illumina, SOLiD, Life/PGM, Roche/454 e instrumentos similares
- Admixture: Programa para estimar la ascendencia de una manera basada en modelos a partir de grandes conjuntos de datos de genotipos SNP autosómicos, donde los individuos no están relacionados (por ejemplo, los individuos en un estudio de asociación de casos y controles)

3. RESUMEN

El cáncer de mama es una de las principales enfermedades que afectan a las mujeres a nivel global. Con una estimación de más de 29.4 millones de nuevos casos para 2040, donde aproximadamente 4.9 millones podrían fallecer por esta causa (Arnold et al., 2022). En Latinoamérica y específicamente en México, se ha reportado una diferencia de casi una década en la aparición de la enfermedad, lo cual pudiera atribuirse a factores genéticos, de estilo de vida o medioambientales. Los mestizos mexicanos somos el resultado de dos principales ancestrías; Europea y Nativa-Americana con proporciones similares (cerca al 45% cada una) y una proporción menor, cercana al 5% de ancestría africana. Estudios previos han demostrado que la ancestría nativa-americana se puede relacionar con el estrato socio-económico y el nivel educativo, por lo tanto, captura de manera indirecta determinantes medio ambientales y de estilo de vida, que pueden modificar el curso de la enfermedad (e.g. acceso al sistema de salud). El objetivo general de este estudio fue detectar diferencias entre la ancestría nativo-americana y el Síndrome Hereditario de Cáncer de Mama y Ovario. Se compone de una muestra de mujeres con cáncer de mama captadas de 3 distintas instituciones en México con criterios de Síndrome Hereditario de Cáncer de Mama y Ovario (SHCMO) que cuentan con la caracterización sobre la presencia de mutaciones en distintos genes asociados a SHCMO, con el fin de identificar posibles diferencias en la edad de diagnóstico, el subtipo de cáncer y el perfil de mutaciones, de acuerdo al porcentaje de ancestría.

Nuestros resultados sugieren que la ancestría Nativa-Americana se relaciona con una menor edad de inicio de la enfermedad, así como a la presencia de formas más severas de cáncer de mama (e.g. subtipo triple negativo) en mujeres mexicanas con criterios de (SHCMO).

4. INTRODUCCIÓN

4.1 INCIDENCIA DEL CÁNCER DE MAMA

De acuerdo con GLOBOCAN 2020 se registraron a nivel global 2.3 millones de casos nuevos de cáncer de mama y 684,996 defunciones. En 110 países representó la principal causa de muerte en mujeres, esto significa que 1 de 6 mujeres con diagnóstico de cáncer, fallecerá por neoplasia maligna de mama. Se observan diferencias claras entre los continentes al comparar las características de la enfermedad, estas se atribuyen a los estilos de vida derivados del desarrollo económico, el acceso a la salud y a las diferencias genéticas (Sung et al., 2021).

Canadá, E.U.A. y Europa del Norte tienen una incidencia de cáncer de mama del 89.4-86.4 por cada 100,000 mujeres. Sin embargo, la mortalidad se encuentra en 12.5-13.7. Por su parte, Centroamérica (México, Guatemala y Belice) tienen una incidencia del 39.5 y una mortalidad del 10.4. De forma comparativa marca una diferencia de casi la mitad de la incidencia, pero una mortalidad similar (Sung et al., 2021). De acuerdo con las proyecciones para el 2040, el incremento de casos de cáncer será de un 47% debido a los cambios sociodemográficos tales como el crecimiento poblacional y el envejecimiento. Se estima un incremento de 18.1 millones de casos nuevos en 2018 a 29.4 millones para 2040 (Sung et al., 2021).

México corresponde a uno de los 110 países donde el cáncer de mama representa la principal causa de muerte en mujeres, para 2020 las defunciones de mujeres por tumores malignos en mama fueron de 7,925 con una tasa de incidencia de 18.55 por cada 100,000 mujeres de 20 años o más (INEGI, 2022). De acuerdo con los registros nacionales de 2021, los rangos de edad entre 50-59 y 40-49 atrapan el 45.46% de mujeres que sufren cáncer de mama. Lo que este porcentaje refleja es que casi la mitad de mujeres en México, enferman antes de los 59 años. Una de las características más notorias en nuestro país, es que las investigaciones y registros de diferentes centros de tratamiento publican que la edad promedio de diagnóstico se ubica en los 50 años. Este dato llama la atención ya que, en comparación con otros países, existe una diferencia de aproximadamente 10 años en la edad de aparición de la enfermedad. El cáncer de mama joven (antes de los 60 años), es un importante problema de salud pública debido a la incidencia, mortalidad, tipo de cáncer, afectaciones en fertilidad, desarrollo psicológico, entre otros. Esto promueve una disminución en la edad productiva en las mujeres mexicanas y de otros países de Latinoamérica.

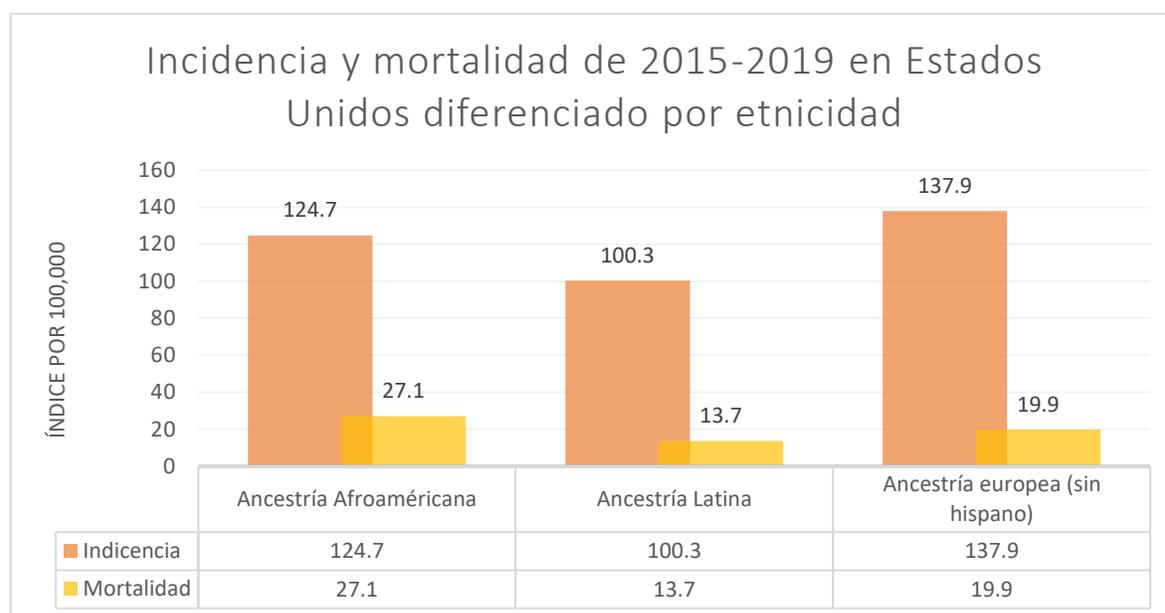
De acuerdo con un estudio realizado en el Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México (INCAN, CdMx) en 2021 (Villareal-Garza, 2014), el 17% de las pacientes corresponden a una edad de diagnóstico de 40 años o menores. En otros países del continente esta proporción se encuentra en un 7% (EUA y Canadá). Las causas de este fenómeno incluyen:

- 1) Diferencias en las pirámides poblacionales.
- 2) Diferentes estilos de vida y factores de riesgo.
- 3) Alteraciones genéticas germinales que condicionan síndromes hereditarios.

De acuerdo con la información del SEER Explorer (por sus siglas en inglés: Surveillance, Epidemiology and End Results Program, NIH), la edad promedio de diagnóstico en EUA se encuentre en 63 años,

y el porcentaje de diagnósticos en mujeres menores de 54 años es únicamente el 30%. Además, de los habitantes de diferentes etnias se ha documentado una menor prevalencia de casos en la población hispano/latina y afroamericana, pero también una mayor tasa de mortalidad. Hendrick et al, publicó una revisión de SEER 9, 18 y 21 donde unos de los principales hallazgos es que el cáncer invasivo se presenta en una edad más temprana en la minoría latina. (Yaffe, 2021) En la figura 1 se muestran las comparaciones de incidencia donde se observa que de 2015 a 2019 la etnicidad europea tiene una incidencia de 137.9 por 100,000 mujeres, comparada con la afroamericana de 124.7 y una menor en hispanos con 100.3, en los índices de mortalidad los afroamericanos tienen la mayor incidencia con 27.1 vs la población europea con 19.9 (SEER, 2022).

Figura 1. Incidencia y mortalidad de 2015-2019 en Estados Unidos, comparación por grupos étnicos. (SEER, 2022)



Se han llevado a cabo diversos estudios respecto a distintas características en la presentación de la enfermedad entre poblaciones. El estudio de Justo, N, *et al.* 2013 describe que en América Latina el rango de supervivencia se encuentra por debajo del 70%, comparado con países de Europa que alcanzan un 85%. También describe que en México el 40%-50% de los diagnósticos son en un estadio tardío o con metástasis, en comparación con el norte de Europa que es del 10%. Otra característica que confirma el estudio de Justo es que la edad de diagnóstico es en promedio 10 años menor en América Latina y que es de vital importancia agregarlos en los programas de salud pública ya que las proyecciones esperan que para el 2030 la incidencia de casos sea el doble de lo que se reporta actualmente. Se ha comprobado que el subtipo triple negativo o “basal” es el subtipo con el peor pronóstico (Justo et al., 2013 & Lara-Medina et al., 2011). En 2011 concluyó que la prevalencia de este subtipo en la ancestría latinoamericana (específicamente de México) tiene una incidencia del 23.1%, en contraste, la prevalencia en EUA de mujeres con ancestría europea tienen una prevalencia del 10%-13%. También concluye una diferencia de 11 años en la edad de diagnóstico en concordancia con el estudio de Justo, N *et al.* 2013. Las conclusiones de Cuevas & Capurso García,

2006 llegan a resultados muy similares con respecto a la edad de inicio. (Cuevas & Capurso García, 2006)

Tomando en cuenta un estudio de EUA en 2016 la incidencia de mujeres con una edad de diagnóstico menor de 40 años, fue del 6%. La descripción de las pacientes que se incluyen en esta categoría corresponde a pacientes con ancestría distinta a la europea: premenopáusicas, con mayor nivel educativo, con un estadio más avanzado y tumores triple negativos, luminal B o *HER2+* (Partridge *et al.*, 2016).

Conforme a las conclusiones de los autores previamente citados se puede aseverar que en México:

1. La edad de diagnóstico se presenta en promedio 10 años antes.
2. 30% de las pacientes son mujeres con una edad de diagnóstico por debajo de los 40 años.
3. Predominan los subtipos agresivos, los grados tumorales avanzados y pueden estar relacionados con características genéticas y/o con factores de riesgo socioambientales.
4. Los estudios comparativos con América del Norte y Europa demuestran que hay una diferencia de 10 años en la aparición de la enfermedad, en estos países los registros genéticos son extensos a diferencia de los países en Latinoamérica.
5. El acceso a la salud, los factores socioeconómicos y las estrategias de prevención son deficientes para la ancestría latina/hispana, es importante considerar un factor clave en la disparidad. Sin embargo, existen estudios correlacionados donde aún con el mismo acceso a la salud existen diferencias en la presencia de la enfermedad. (Miller *et al.*, 2021)

5. ANTECEDENTES

5.1 CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama representa un conjunto de enfermedades, “cáncer” de un origen genético donde la descripción común habla de una serie de eventos de transformación (genética y epigenética) en una o varias células que se encuentra en el tejido mamario, formando un tumor que crece y se disemina. Algunos síntomas después de la formación del tumor que puede ser indoloro por un tiempo prolongado, son: dolor de seno o pesadez, cambios persistentes como hinchazón, enrojecimiento en la piel, descargas espontáneas (especialmente con sangre) y descamación o retracción del pezón (American Cancer Society, 2019). La forma de detección es a través de la exploración física, el ultrasonido y la mastografía. Cuando se sospecha que un tumor es maligno, es necesario hacer un análisis microscópico del tejido.

En el cáncer de mama existen diferentes factores que aumentan el riesgo relativo (compara el riesgo absoluto de enfermedad entre las personas con un factor de riesgo particular al riesgo entre personas sin ese factor de riesgo). A continuación, se resume en la Tabla 1 los factores de riesgo conocidos para el cáncer de mama (American Cancer Society, 2019):

Tabla 1. Factores que aumentan el riesgo relativo del cáncer de mama invasivo en mujeres.

Tabla 1. Factores que aumentan el riesgo relativo de cáncer de mama	
Riesgo relativo	Factor
>4.0	<ul style="list-style-type: none"> ● Edad mayor a 65 años ● Variantes genéticas patogénicas ej (BRCA1, BRCA2, PALB2, TP53) ● Hiperplasia atípica ● Carcinoma lobular <i>in situ</i>
2.1-4.0	<ul style="list-style-type: none"> ● Carcinoma ductal <i>in situ</i> ● Altos niveles hormonales endógenos ● Senos monográficamente densos ● Dos o más familiares con ca. de mama
1.1-2.0	<ul style="list-style-type: none"> ● Consumo de alcohol ● Menarquía temprana (<11 años) ● Sobrepeso ● Altos niveles endógenos de estrógeno o testosterona (premenopausia) ● Primer embarazo edad >30 años ● Menopausia tardía (≥ 55 años) ● No amamantar ● No embarazos de termino ● Obesidad (postmenopausia) ● Un familiar de primer grado con ca. de mama ● Historia familiar de cáncer de ovario o endometrio ● Inactividad física/sedentarismo ● Enfermedad de senos proliferativa, sin atipia ● Uso reciente y de largo tiempo de terapia hormonal para la menopausia con estrógenos y progestina ● Uso reciente de anticonceptivos hormonales ● Aumento de peso en la adultez

Los factores de riesgo de cáncer mamario se pueden dividir en dos grupos: factores genéticos y no genéticos. La identificación precisa del papel de los genes en la aparición del cáncer mamario se dificulta por dos razones: primero, transcurre un largo tiempo entre el momento en que se originan las alteraciones genéticas (germinales o somáticas) y la presentación del cáncer; y segundo, la influencia que ejercen los factores relacionados con la reproducción, el estilo de vida y la presencia de agentes ambientales que pueden cambiar con el tiempo (Miguel-Soca et al., 2016).

Dentro de la enfermedad se ha demostrado que existen diferentes subtipos de tumores que tienen factores de riesgo, características histopatológicas y respuesta a las terapias distintos. Los

marcadores inmunohistoquímicos junto con las variables clínico patológicas como son: tamaño del tumor, el grado tumoral, la afectación ganglionar, el tipo histológico y los márgenes quirúrgicos han sido utilizados para evaluar el pronóstico y la selección del tratamiento (Polyak, 2007).

Por su parte, se han definido 4 subtipos moleculares dependiendo del perfil de expresión genética de los receptores hormonales (RH), a estrógeno (RE), a progesterona (RP), *HER2* (la hormona de crecimiento) y el grado de proliferación (American Cancer Society, 2019), que son internacionalmente aceptados para distinguir el subtipo tumoral:

- Tipo basal o triple negativo (RH-/*HER2*-): RE-, RP- y *HER2*-, asociado a un mal pronóstico, debido a la falta de respuesta al tratamiento.
- Luminal A (RH+/*HER2*-): responden a la terapia hormonal, es el tipo más común y tiende a un crecimiento lento y poco agresivo.
- Luminal B (RH+/*HER2*+): tienden a ser tumores de mayor tamaño y con pronóstico más desfavorable respecto a los del tipo Luminal A, son altamente positivos para la proteína Ki67 como indicador de división celular o positivos en *HER2*.
- *HER2*+ enriquecido (RH-/*HER2*+): Para este subtipo, existen terapias específicas contra *HER2* .

Las diferencias moleculares de cada uno dan como resultado, pronósticos clínicos diferentes asociados a respuestas al tratamiento. Esto independientemente del grupo étnico. Se sabe que los tumores de tipo basal son de pronóstico más adverso, suelen ser muy agresivos y refractarios al tratamiento. El de mejor pronóstico es el tipo luminal A. Se sabe que el subtipo tumoral depende de la célula de origen del tumor, así como eventos genéticos y epigenéticos que dan como resultado esta heterogeneidad (Polyak, 2007). En México, el tipo más común es el subtipo luminal A (65%), seguido del triple negativo (14%-16%), el subtipo luminal B (12%) y un (9%) del *HER2*+ (Arceo-Martínez et al., 2021).

El modelo sobre el origen de un tumor (tumorigénesis), propone una secuencia de multi pasos donde células “normales” del epitelio del seno evolucionan a través de la hiperplasia (aumento de células), a un carcinoma *in situ* (grupo de células “anormales” que se ubican en el lugar de origen) y posteriormente evoluciona a un cáncer invasivo, que puede propagarse vía linfática o mediante el sistema vascular y dar origen a metástasis. Este modelo propone, además que las células cancerígenas presenten mutaciones en 4 de los 6 genes de regulación cromosómica y además cada paso tiene mutaciones secuenciales en los genes de regulación. (Kenemans et al., 2004)

De acuerdo con Hanahan & Weinberg (2022) existen 8 pasos o “hallmarks” que constituyen los principios del “modelo” de origen y progresión del cáncer y la actividad fisiológica. Un tumor es un tejido complejo compuesto de múltiples tipos de células. Los 8 distintivos para que exista una neoplasia y prolifere son:

- 1) Señalización proliferativa sostenida
- 2) Evasión de los supresores de crecimiento
- 3) Activar la invasión y la metástasis
- 4) Permitir la inmortalidad replicativa
- 5) Inducir la angiogénesis
- 6) Evasión de apoptosis

- 7) Reprogramación celular del metabolismo
- 8) Evitar la destrucción inmune

Además, en 2022, Hanahan publicó que hay 3 nuevas funciones que considera complementarias al modelo como son: “el desbloqueo de la plasticidad fenotípica”, “la reprogramación epigenética no-mutacional”, “la microbiota polimórfica” y las “células senescentes”. Para que esto ocurra es necesario que existan mutaciones en dos principales familias de genes: los proto-oncogenes y los genes supresores de tumores. Los proto-oncogenes, dirigen la producción de proteínas clave en la proliferación y la diferenciación celular como las ciclinas, los factores de crecimiento y los receptores. Cuando éstos mutan se transforman en oncogenes, los cuales incrementan la actividad de forma masiva de desencadenantes de la división descontrolada. La segunda familia está integrada por los genes supresores de tumores que en el organismo sano controlan la proliferación celular. Estos, por tanto, son reguladores negativos de crecimiento y cuando se encuentran inactivos a causa de mutaciones, las células dejan de crecer normalmente y adquieren propiedades proliferativas anormales, característica particular de las células tumorales. Algunas de las funciones que tienen son: factores inhibidores del crecimiento celular, receptor de factores inhibidores o de hormonas que frenan el crecimiento celular, proteínas citoplasmáticas que intervienen en los sistemas de transducción de señales, factores de transcripción y proteínas que frenan el ciclo celular o producen apoptosis (Branda et al., 2014).

Existen diferencias importantes entre estas dos familias, los oncogenes (familia I) generan una alteración en el ciclo celular por activación de proteínas reguladores, mientras que los genes supresores de tumores (familia II) por falta de actividad. Los oncogenes tienen un patrón de expresión dominante (esto quiere decir que solo es necesaria una mutación en uno de los alelos) mientras que los genes supresores tienen un patrón recesivo, es decir, son necesarias mutaciones en ambos alelos o mutación de uno con pérdida o reducción de la homocigosidad del segundo. Las mutaciones en los oncogenes se originan en el tejido somático en cualquier célula, no son cambios heredables, mientras que las mutaciones en los genes supresores pueden estar en células germinales (siendo hereditaria la mutación) o bien, en células somáticas (Branda et al., 2014).

Respecto al tipo de alteraciones relacionadas al proceso neoplásico, existen al menos dos tipos: cromosómicas (anomalías en el número, tales como las trisomías y las monosomías, anomalías estructurales como translocaciones, supresiones e inserciones) y génicas (mutaciones puntuales como transiciones y transversiones, inserciones y deleciones). Cuando se habla de que las mutaciones están presentes en línea germinal o somática se refiere al tipo de células. La presencia de mutaciones en línea germinal se refiere a que están en los gametos (esperma u óvulo), estas mutaciones se encuentran en todas células y se heredan al siguiente linaje. Las mutaciones en células somáticas se originan por mutaciones *de novo* y no se heredan a los hijos.

A continuación, se enumeran algunos de los principales oncogenes que participan en el ca. de mama (familia I)(Osborne et al., 2004):

- **HER-2:** (receptor del crecimiento epidérmico humano tipo 2, conocido como HER-2/neu o erbB-2) el gen se localiza en el *locus* 17q y codifica para una proteína receptora del factor de crecimiento tirosina cinasa transmembranal de 185-kDa. La activación del receptor de crecimiento da como resultado una cascada de transducción de señales que participan en las rutas de MAP cinasa y (P13K)/Akt, que se traducen en actividades de proliferación,

angiogénesis, interacciones célula-célula alteradas, motilidad celular aumentada, metástasis y resistencia a la apoptosis. Se ha documentado que la amplificación y sobreexpresión del gen *HER-2* en el cáncer de mama, está relacionado con un comportamiento más agresivo y ha sido muy útil para la clasificación de subtipos debido a que en tumores benignos pocas veces se encuentra amplificado. Su expresión varía por subtipo histológico y se encuentra expresado en tumores de origen ductal. El gen *HER-2* es amplificado y sobre expresado en el 20-30% de los cánceres invasivos, está asociado con un riesgo mayor de recurrencia, mayor resistencia a terapia hormonal, así como a una mayor sensibilidad a algunos tratamientos oncológicos.

- **EGFR:** también llamados la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico, incluyen EGFR (también conocido como ErbB1 y HER1), HER2, ErbB3 (conocido como HER3), ErbB4 (conocido como HER4). Sintetizan una glicoproteína transmembranal que contiene un dominio de ligación extracelular y un receptor de tirosina cinasa intracelular. La mayor ruta de activación por estos receptores es la PI3 cinasa, Ras-Raf-MAPK, JNK, entre otras; donde generan la actividad de inducir la proliferación celular, la adhesión, motilidad y protegen en contra de la apoptosis. La sobreexpresión de EGFR en el ca. de mama, está relacionado con tumores de gran tamaño, poca diferenciación y un resultado clínico adverso. Aunque la sobreexpresión se puede encontrar en todos los subtipos de cáncer es más frecuente en el tipo triple negativo que es especialmente agresivo (Masuda et al., 2012).
- **mTOR:** blanco de rapamicina en mamíferos, es una cinasa que estimula a las cinasas citoplasmáticas en el ciclo celular. La rapamicina y sus análogos inhiben la fosforilación de mTOR, bloqueando la activación de la cinasa S6 y la proteína de unión 4E-1. Esto reduce la traducción de las proteínas clave para la regulación del ciclo celular como (c-Myc y la ciclina D1).
- **Ciclinas y moduladores del ciclo celular:** el ciclo celular y la proliferación son procesos que están altamente regulados, las ciclinas-dependiente de cinasas (CDKs, por sus siglas en inglés) son un grupo de proteínas localizadas de forma estratégica en varias fases del ciclo celular. Cuando están activas, las CDKs promueven la fosforilación de otras proteínas específicamente de la proteína de la retinoblastoma (pRb), que es el principal punto de regulación de las células para pasar del modo inactivo, al punto G0 del ciclo celular y mitosis. Las CDKs están reguladas positivamente por las ciclinas y negativamente por los inhibidores dependientes de ciclinas-cinasas (CKIs). Un ejemplo de esto es la ciclina D1 y ciclina E cuya expresión oscila dependiendo del ciclo celular y juegan un papel importante en la progresión de la célula de la fase G1 a la S. El gen que codifica para la ciclina D1 está localizado en 11q13 y se encuentra sobre expresado en los tumores invasivos en el 40%-50% de los casos y amplificado en el 10%-20%. Cuando la ciclina D1 se acopla con CDK, la proteína supresora de tumores pRb es fosforilada, liberando el factor transcripcional E2F que induce la activación de las proteínas requeridas para la síntesis de ADN. Un nivel alto de expresión de ciclinas este asociado con un aumento de la proliferación celular. El gen que codifica para la ciclina E está localizado en el cromosoma 19q12 y raramente esta amplificado en ca. de mama. Sin embargo, la sobreexpresión y alteración de la degradación de la ruta tiene como resultado la acumulación de isoformas de bajo peso molecular que aparecen en un 20-30% de tumores de mama.

- **Oncogen c-MYC:** está localizado en el cromosoma 8q24, participa en el crecimiento celular, proliferación, metabolismo, la diferenciación y la apoptosis. Codifica para una fosfoproteína nuclear. Ya que es un potente activador de la tumorigénesis su desregulación se encuentra en distintos tipos de tumores. MYC controla la transición de G1-S en el ciclo celular, activando la ciclina E/Cdk2, inhibiendo p21. Esta actividad es el mecanismo más importante en el ciclo celular que da como resultado la progresión a ca. de mama. Esta amplificado y sobre expresado en 15%-25% de los tumores de mama y en algunas veces asociado con un pronóstico peor y con particularidades clínica (Xu et al., 2010).

También se describen los genes supresores de tumores más importantes en el ca. de mama (familia II) (Miguel-Soca et al., n.d.):

- **BRCA1:** el gen se encuentra en el *locus* 17q21 y codifica para una proteína de 1,863 aminoácidos de localización nuclear. Se identificó en 1990 y se conoció como *BRCA1* (Breast cancer gene 1) en 1994 por Miki *et al.* Este gen tiene un papel fundamental en la tumorigénesis del tejido mamario. Juega un papel en la transcripción, reparación del ADN específicamente en el mecanismo de recombinación homóloga (HR) y la ubiquitinación (mecanismo de degradación de proteínas).

El gen de *BRCA1* contiene 24 exones (22 codificantes y 2 no-codificantes). Cuenta con dominios importantes pero los más destacados son el dominio “amino-terminal ring finger” de 20-68 a.a., donde interactúa con otra proteína codificada por otro importante gen supresor de tumores *BARD1* y también ese dominio tiene la función de unirse a varias proteínas del ciclo como son: ciclinas (D1, A, B1), ciclinas dependientes de cinasas (CDC2, CDK2, CDK4) y miembros de la familia de los factores de transcripción como son E2F. Uno de los hallazgos es que si se altera la función *BRCA1* pierde la actividad de bloquear el receptor de estrógeno alfa y de modular la reparación del ADN, la quimiosensibilidad y la apoptosis. El otro motivo importante es el dominio “carboxil-terminal acidificado” que actúa como un dominio de activación transcripcional. Este segmento de aminoácidos regula la respuesta al daño del ADN.

Dentro del rol de reparación del ADN, *BRCA1* está involucrado en: 1) la transcripción acoplada a la reparación del daño del ADN y 2) Reparación homóloga-directa.

Tiene una estrecha relación con el gen p53 debido a que el dominio de unión de ADN de p53 que se une al N-terminal localizado 224-500 a.a. de *BRCA1*. También hay un segundo dominio de unión en el C-terminal del dominio *BRCT* de *BRCA1*. La interacción de *BRCA1:p53* resulta en el aumento de la actividad de p53 y también estabiliza a la proteína, aumentando con ellos su actividad como supresor de tumores (Rosen et al., 2003).

- **BRCA2:** fue identificado en 1996 por Wooster *et al.* y Tavtigian *et al.* Este gen se localiza en el cromosoma 13q12 y codifica para una proteína de 3,418 a.a. Participa en la reparación del ADN, específicamente en la recombinación homóloga, que es el mecanismo más importante de reparación ya que se encarga de las rupturas de doble cadena. Comparándolo con *BRCA1*, *BRCA2* tiene menos funciones, la principal se centra en la recombinación homóloga (RH). Contiene un dominio de unión del ADN, que se une con hebras de una sola cadena, 8 dominios repetidos de *BRC* y un dominio de unión con *RAD51D*. La proteína es mayor que *BRCA1* y se ha estudiado en modelos homólogos.

Aquellos individuos con mutaciones en *BRCA2* tienen un mayor riesgo de presentar otros tumores tales como melanoma, tumores de vesícula, conducto biliar, próstata y estómago (Roy et al., 2012). En la tabla 2 se resumen las funciones de *BRCA1/2*, sus dominios y la participación que tienen con otros genes.

Tabla 2. Participación de *BRCA1/2* en funciones celulares, así como el dominio que participa y quienes forman parte de la unión para llevar a cabo la actividad (Roy et al., 2012).

Función	Dominio	Unión directa	Unión indirecta
<i>BRCA1</i>			
Reclutamiento a sitios de ADN dañados	BRCT	Abraxas	RAP80
Resección del extremo de ADN	BRCT y anillo	CtIP	Complejo MRN
Punto de revisión G2/M	BRCT	Abraxas	RAP80
	BRCT	CtIP	Complejo MRN
	SCD (S1423 y S1524 fosforilación)	ATM	Complejo MRN
Punto de revisión fase-S	SCD (S1387 fosforilación)	ATM	Complejo MRN
Reparación durante la replicación del ADN	BRCT	BRIP1	TOPBP1
Recombinación Homóloga (RH)	Hélice superenrollada y fosforilación de S988	PALB2	BRCA2
<i>BRCA2</i>			
Recombinación Homóloga (RH)	BRC	RAD51	
	DBD	DSS1	
	N-terminal	PALB2	BRCA1
	C-terminal	RAD51	CDK2

- **TP53:** El gen ubicado en el *loci* 17p13.1 codifica a una proteína de 4 dominios y 393 aminoácidos cuya principal función es actuar como factor de transcripción. Consta de 11 exones y los exones codificantes son 2-11, en los exones: 1, 4, 5, 7 y 8 donde las mutaciones son más frecuentes. *TP53* es un gen supresor de tumores involucrado en la detención del crecimiento o división celular, la apoptosis y la reparación del ADN. La pérdida de función de *TP53* desregula estos procesos. Las mutaciones de *TP53* se encuentran en la mitad de los cánceres en seres humanos (mutaciones somáticas) y alrededor del 20%-30% de los cánceres primarios de mama. El síndrome de Li-Fraumeni se encuentra asociado con

múltiples mutaciones en la línea germinal. Mutaciones en *TP53* se encuentran en leucemia en niños y en adultos con cáncer de cerebro y sarcoma de tejido suave, entre otros (Martin et al., 2003).

- ***PTEN***: El gen codifica para una fosfatasa que sirve como un regulador negativo de Akt. *PTEN* es un importante interruptor de la carcinogénesis debido a su actividad fosfatasa del fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K). No se conoce del todo la función de *PTEN*, aunque su disfunción limita su actividad de frenar el ciclo celular y la apoptosis, lo que origina una supervivencia celular “anormal”. La enfermedad de Cowden es un síndrome genético causado por mutaciones germinales en *PTEN* que se asocia con cáncer intestinal, lesiones cutáneas y cáncer de tiroides.
- ***CHEK2***: El gen codifica para la proteína “cinasa del punto de control del ciclo celular” una serina treonina cinasa que es activada por la proteína *ATM* en respuesta al daño del ADN. Regula la división celular al prevenir que las células entren a mitosis o arresta el ciclo celular en la fase G1 en respuesta del daño del ADN. Su expresión anormal está implicada en la formación de tumores.
- ***PALB2***: La proteína se une directamente a *BRCA1* y *BRCA2*. El dominio N-terminal de la hélice super enrollada de *PALB2* interactúa con el dominio de *BRCA1*, y el dominio C terminal de *PALB2* interactúa con el N-terminal de *BRCA2*. Esta unión es indispensable en la activación de algunas de las rutas donde participan *BRCA1* y *BRCA2* (Roy et al., 2012).
- ***ATM***: Es un gen supresor de tumores cuyo producto, una cinasa de treonina/serina, tiene un papel central en el mantenimiento de la integridad del genoma, por su activación en los puntos de control del ciclo celular y en la reparación del ADN. *ATM* también tiene un papel en el ciclo celular, la apoptosis y la senescencia, lo que evita la inestabilidad genómica.
- ***SKT11***: Es un gen que codifica para la proteína cinasa serina/treonina 11, se identifica como un gen supresor tumoral en muchas neoplasias, incluyendo ca. de mama y su baja expresión se relaciona con un peor pronóstico. Las mutaciones germinales de *SKT11* causan el síndrome de Peutz-Jeghers, una enfermedad autosómica dominante rara, caracterizada por múltiples pólipos mucocutáneos de los labios, mucosa bucal y dedos, cuyas lesiones desaparecen durante la pubertad, excepto en la mucosa oral. Los pólipos del tracto gastrointestinal pueden provocar obstrucción intestinal, la mayoría se localizan en el intestino delgado. Estas personas tienen un mayor riesgo de cáncer colorrectal, ca. de mama, intestino delgado y páncreas, estómago y ovario. Las mutaciones de *SKT11* ocurren en alrededor de 70%-80% de los pacientes con el síndrome.

5.2 SÍNDROME DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO

El Síndrome Hereditario de Cáncer de Mama y Ovario (SHCMO) es un síndrome genético con herencia autosómica dominante que afecta a mujeres y hombres incrementando el riesgo de padecer cáncer de ovario (en mujeres) o mama (ambos sexos). Los casos de cáncer hereditario por mutaciones en línea germinal (SHCMO) en genes supresores de tumores, están presentes entre el 10%-15% de los pacientes con cáncer de mama y del 20-25% en cáncer de ovario. En conjunto, mutaciones germinales en los genes *BRCA1* y *BRCA2* están presentes en al menos el 30% de los casos de cáncer hereditario. Sin embargo, este porcentaje es distinto dependiendo del grupo étnico

(Vicente et al., 2022). El portar una mutación en cualquiera de estos genes, incrementa el riesgo relativo >4.0 a lo largo de la vida. Una mutación en *BRCA1* aumenta el riesgo de 46%-87% de ca. de mama y de 39%-63% para cáncer de ovario en individuos de 70 años. Para *BRCA2* el riesgo de padecer ca. de mama es de 38%-84% y 16-27% ca. de ovario a la misma edad.

Por su parte, se ha documentado también que las características clínicas de cánceres asociados con los genes *BRCA* son distintas, por ejemplo, aquellos relacionados con el gen *BRCA1* son de patrón histológico medular, mayor grado, más comunes aquellos que son receptores de estrógeno o progesterona negativos y sin la sobreexpresión de *HER2*. Aquellos relacionados con *BRCA2* son más heterogéneos que los de *BRCA1*, los receptores de hormonas son positivos, pero tumores con mutaciones en estos genes, presentan un alto porcentaje del subtipo del triple negativo (Vicente et al., 2022). En los genes *BRCA1* y *BRCA2* se han identificado más de 2,000 mutaciones diferentes, las más frecuentes son pequeñas inserciones o deleciones del marco de lectura y interrupciones del sitio de empalme, dando como resultado proteínas no funcionales. Aproximadamente la mitad de las mutaciones se detectaron en el exón 11 (que constituye el 60% de la región codificante de cada gen). Las mutaciones clínicas más significativas son cambios en el marco de lectura 54.8%, 24.8% de alteraciones sin sentido (non-sense), pérdida de sentido (missense) y sitio de empalme (splicing, en inglés) (Neuhausen et al., 2009).

De acuerdo con la lista de los genes supresores de tumores, las mutaciones en líneas germinales pueden desencadenar diferentes patologías relacionadas con cánceres en diferentes órganos. En la tabla 3 se resumen los diferentes síndromes relacionados.

Tabla 3. Síndromes relacionados con cáncer hereditario por mutaciones en línea germinal de diversos genes

Síndromes que confieren cáncer hereditario	Componentes primarios del tumor	Tipo de herencia	Genes	Riesgo ca. de mama
Cáncer hereditario de mama y ovario	Cáncer de mama, ovario	Dominante	<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i>	<i>BRCA1</i> : 57-65% (para los 70 años) <i>BRCA2</i> : 45-55% (para los 70 años)
	Cáncer de próstata, pancreático, melanoma	Dominante	<i>BRCA2</i> , <i>BRIP1</i>	
	Anemia de Fanconi en portadores bialélicos meduloblastoma	Recesivo	<i>BRCA2</i> , <i>PALB2</i>	<i>PALB2</i> : 44-63% (a los 80 años)
Síndrome de Li-Fraumeni	Cáncer de mama, sarcomas (tejido suave, osteosarcoma), tumores cerebrales, carcinoma de la corteza suprarrenal, cáncer de colon y páncreas	Dominante	<i>TP53</i>	25-79%
Síndrome de Cowden/Síndrome de tumor de hamartoma <i>PTEN</i>	Cáncer de mama, tiroides y endometrial	Dominante	<i>PTEN</i> , <i>KILLIN</i>	<i>PTEN</i> : 25-85%
Síndrome Bannayan-Riley-Ruvalcaba	Cáncer de mama, meningioma, tumor tiroideo de células foliculares	Dominante	<i>PTEN</i>	
Ataxia telangiectasia	Homocigotos: ataxia cerebral progresiva, apraxia oculomotora, infecciones frecuentes, coreoatetosis, telangiectasia de las conjuntivas, inmunodeficiencia y aumento del riesgo de malignidad, en particular leucemia y linfoma. Heterocigotos: cáncer de mama	Recesivo	<i>ATM</i>	17-52%
Cáncer gástrico difuso hereditario	<i>CDH1</i> : cáncer gástrico difuso, cáncer de mama lobular y cáncer de colon <i>CHEK2</i> (1100delC): cáncer de mama (masculino y femenino), cáncer de próstata, de tiroides, colon y riñón.	Dominante	<i>CHEK2</i> , <i>CDH1</i>	<i>CDH1</i> : 39-52% (a los 80 años)
Síndrome Peutz-Jegher	Poliposis gastrointestinal (hamartomas), pigmentación mucocutánea y cáncer de mama	Dominante	<i>STK11</i>	32-54%

Específicamente para el síndrome hereditario de cáncer de mama, se denominan “genes de alta penetrancia” aquellos que condicionan un alto riesgo de enfermedad. Entre ellos se encuentran los genes: *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*, *SKT11*, *CDH1* y *MMR*. Aquellos genes que al estar mutados se asocian con riesgos menores se los denomina genes de penetrancia “intermedia o baja” e incluyen a *CHEK2*, *ATM*, *PALB2*, *FANCN*, *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D*, *BARD1*, *MRE11*.

Para que se desarrolló el cáncer es importante, además del componente genético germinal, un segundo componente (ambiental, genético somático o de estilo de vida). Este modelo de “dos golpes o *two hits*” fue desarrollado por Knudson en 1971 al estudiar casos de retinoblastoma familiar, no familiar y explica la aparición de tumores hereditarios y esporádicos. Esta teoría señala que una persona con una mutación germinal en el gen supresor de retinoblastoma requiere un segundo “hit” en la célula somática de la retina, para desarrollar la enfermedad y aquellos con cáncer esporádico requieren de los dos golpes en la célula somática para que se desarrolle el tumor (Chernoff, 2021).

De ahí la importancia de la identificación de mutaciones germinales en los principales genes asociados con el síndrome hereditario en las pacientes con ca. de mama que cumplan con ciertos criterios.

La mayoría de las pruebas genéticas se restringen todavía a los genes *BRCA1* y *BRCA2*, ya que fueron los primeros identificados en las formas hereditarias de cáncer y que corresponden a genes de alta penetrancia. En concordancia con las guías internacionales está indicada la búsqueda de mutaciones en estos genes en pacientes con un diagnóstico temprano (menor de 50 años), con una historia familiar de múltiples casos de cáncer y aquellos que presentan un subtipo triple negativo. Lo anterior con la idea de promover medidas de disminución de riesgo en aquellos pacientes portadores de una mutación. Entre estas medidas está la mastectomía bilateral con una reducción del riesgo de ca. de mama del 95%. Más recientemente, las guías se han actualizado tomando en cuenta el impacto de esta medida en mujeres en edad reproductiva. De esta forma, los requisitos para acceder a una prueba genética consideran también rangos de edad, que no necesariamente exista historia familiar o bien, la búsqueda de mutaciones en otros genes como *TP53* en mujeres menores de 30 años (Chavarri-Guerra *et al.*, 2019).

Cabe señalar que el costo de las pruebas genéticas es todavía elevado, sobre todo si se realiza la secuenciación completa de los genes, incluyendo la región codificante, la región promotora y uniones intrón-exón, para la búsqueda mutaciones mediante secuenciación masiva dirigida. Sin embargo, es muy importante promover esta prueba genética en mujeres que cumplan con los criterios antes mencionados, ya que pueden presentar recurrencia. Además, estas pacientes podrían ser elegibles a tratamientos como los inhibidores de poly(ADP-ribosa) polimerasa (PARP, por sus siglas en inglés). La FDA (U.S. Food and Drug Administration) y por la European Medicines Agency (EMA) han autorizado el uso de 4 inhibidores PARP: olaparib, rucaparib, niraparib y talazoparib. (Vicente *et al.*, 2022). Por último, la identificación de mutaciones permite la búsqueda dirigida de mutaciones en los miembros de la familia en riesgo.

5.3 ESTUDIOS GENÉTICOS EN ANCESTRÍAS MESTIZAS DE LATINOAMÉRICA

La frecuencia de mutaciones en el SHCMO en los genes de referidos anteriormente, puede ser distinta entre grupos étnicos. En la población general se estima que 1 de cada 400-500 personas es portadora de una mutación patogénica en *BRCA1/2*. Sin embargo, existen mutaciones específicas de ciertas poblaciones que son heredadas de un ancestro en común, a este tipo de mutaciones se les conoce como “mutaciones fundadoras”. Uno de los ejemplos más conocidos son pacientes con ancestros judío Ashkenazí, donde la frecuencia de mutacional es de 1 en 40 personas. En esta población existen dos mutaciones fundadoras en el gen *BRCA1* (185delAG y 5382insC) y una en el gen *BRCA2* (6174delT), lo que representa más del 90% de las mutaciones observadas. También se han identificado mutaciones fundadoras en países como Islandia, Canadá, Polonia, Holanda y en poblaciones de Latinoamericana (Vicente *et al.*, 2022), específicamente en Brasil, México y Colombia (Tabla 4).

Tabla 4. Mutaciones fundadoras genéticas en países de América Latina.

País (mutaciones fundadoras)	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>
Latinos en California (EUA)	185delAG IVS5+1G>A S9955x R1443x	
México	Ex9-12del	
Brasil	5382insC	c.156_157insAlu
Colombia	3450del4 A1708E	3034del4

Actualmente el principal reservorio de datos de secuencias humanas es el Genome Aggregation Database (gnomAD) administrado por el Broad Institute (<https://gnomad.broadinstitute.org/>) compuesto de diversos reservorios como el proyecto 1000 genomes (2008) o Exome Aggregation Consortium (ExAC). Sin embargo, estos reservorios de datos tienen mayoritariamente información de población europea. En la tabla 5 se muestran las distribuciones de poblaciones presentes en gnomAD v3, en su última versión que se encuentra disponible en línea con la característica de ser de acceso libre.

Tabla 5. Distribuciones poblacionales de estudios genómicos presentes en la última versión de gnomAD v3.

Población que representan (Bases de datos estudios genómicos)	No. Total de individuos
Europeo (no finlandés)	34,029

Africano/Afroamericano	20,744
Latino/americano mestizo	7,647
Europeo (finlandés)	5,316
Asiático del Este	2,604
Asiático del Sur	2,419
Judío Ashkenazi	1,736
Medio oriente	158
Otro	1,047

Es importante señalar que a pesar de que la mayoría de los individuos donde se cuenta con información genómica detallada son de origen europeo, las poblaciones mestizas son importantes en los estudios poblacionales ya que surgen de una mezcla de razas. La población mestiza mexicana tiene una composición étnica con proporciones similares de ancestría nativo-americana y europea, así como una proporción baja (menor al 5%) de africana. Estas proporciones son distintas en cada país de Latinoamérica, gracias a las dinámicas de mestizaje que sufrieron las diferentes regiones.

En el síndrome de cáncer de mama y ovario de acuerdo con los datos de ExAC específicamente para los genes *BRCA1/2* se registra que la frecuencia en europeos es la mayor con 0.82 (0.36 *BRCA1*/0.46 *BRCA2*), seguida de latinos con 0.47 (0.07/0.40), Asia del sur con 0.41 (0.24/0.16), africanos con 0.35 (0.09/0.26). También se encontró que *BRCA2* es el gen más frecuente mutado en poblaciones de Latinoamérica (Maxwell et al., 2016). Desde 2005 han surgido diversos estudios para identificar la frecuencia de mutaciones en estos genes, en cada grupo poblacional y si a través de las mutaciones fundadoras se pueden generar paneles de identificación específicos que ayuden a abatir los costos de la secuenciación genética para ciertas poblaciones.

A través de estos estudios se ha caracterizado e identificado que las mujeres latinas y africanas que padecen ca. de mama tienen una edad de diagnóstico más temprana (entre 45.2-44.7 años) y que generalmente presentan tipos más agresivos como el triple negativo, así como una frecuencia mutacional para los genes *BRCA*, mayor a la europea. Hall M et al. 2009 documentó la frecuencia mutacional de *BRCA1/2* en las mujeres africanas y latinas (15.6%/14.8%) vs europeas (12.1%) (Hall et al., 2009). John et al. 2007 evaluó únicamente la frecuencia para mutaciones patogénicas en *BRCA* donde la población Ashkenazi presentó la más alta (8.3%), seguido de los latinos (3.5%), europeos (no hispanos), 2.2%, Afroamericanos (1.3%) y asiáticos americanos (0.5) (John et al., 2007). También se encontró que en particular para el gen *BRCA1*, los tipos de mutación cambian, por ejemplo, en los hispanos el 71% son cambios en el marco de lectura (Bayraktar et al., 2015). Estos mismos autores identificaron que para la población latinoamericana, la frecuencia mutacional en *BRCA1/2* para individuos con historia familiar fue del 16.6% y 8.7% para aquellos con ca. de ovario. Estos estudios concluyen que la frecuencia por arriba del 15% en pacientes que tienen una o más de las características para SHCMO es mayor que lo esperado para la población latina. En conclusión, individuos sin fenotipo, tienen una frecuencia mutacional de variantes patogénicas del 0.3%-0.5% y si tienen historia familiar o ca. de mama u ovario, la frecuencia de mutaciones en estos genes aumenta por arriba del 15%.

Sin embargo, todavía es limitado el acceso a la atención y el manejo del riesgo genético debido a los altos costos de secuenciación, estas prácticas han comenzado ya desde hace varios años en países desarrollados como EUA y UE. En Latinoamérica el acceso como servicio de salud es poco frecuente y aún es una práctica muy poco común. De acuerdo con las guías internacionales, la revisión de mutaciones es de preferencia mejor realizarlas con un multi panel de búsqueda de mutaciones en todos los genes relacionados con el síndrome SHCMO, para tener un mejor diseño y acompañamiento en el modelo de riesgo de la enfermedad. En la siguiente tabla se resumen los costos de las principales empresas de análisis genético en EUA. (Tipo de cambio de dólar a peso mexicano \$20.00 mxn) (Foote *et al.*, 2017).

Tabla 6. Costos de secuenciación de búsqueda en los genes principales de SHCMO vs Panel multigen en EUA 2017.

Tipo de prueba	Empresa Ambrys	Empresa Myriad	Empresa Quest	Empresa Invitae
<i>BRCA1/2</i> (\$ mxn)	10,000	80,800	10,240	30,000
Panel multigenes (\$ mxn)	78,000	120,800	67,640	30,000

Los estudios de investigación sobre el componente étnico en poblaciones de Latinoamérica comenzaron en hispanos residentes en EUA. El grupo de investigación del Dr. Weitzel en City of Hope, en Duarte California, es un referente para la comunidad hispana en EUA. Los hispanos corresponden al 15% de la población y esta proporción continua en aumento, por ello la importancia. En 2013 el grupo del Dr. Weitzel analizó 746 pacientes y encontró 189 con mutaciones (25% de frecuencia en los genes *BRCA*), estos cumplían con las guías para SHCMO. La muestra incluyó todos los denominados hispanos (mexicanos, españoles, de américa del sur, caribe y centro américa). Además, en este estudio más del 80% tenía ascendencia mexicana. Entre los hallazgos se destacan 189 mutaciones (124 mutaciones en *BRCA1*, 65 en *BRCA2*), 53% de todas fueron identificadas en individuos con ascendencia mexicana. El tipo de mutaciones presentes en el gen *BRCA1* fue necesario agregar una prueba de PCR para identificar mutaciones de reordenamiento largo que el 62% son de las mutaciones en *BRCA1* y no se identificaron con el panel de mutaciones específicas. Además 9 mutaciones fueron las más recurrentes y se identificó la mutación en *BRCA1ex9-12del*, mutación única y fundadora en México. Esta mutación se generó aparentemente hace 1,480 años durante la colonización española. Por lo que se concluye que a la población mexicana-americana debe ser tratada con las mismas guías que la etnicidad judía Ashkenazi debido a la alta frecuencia de mutaciones que presenta (Weitzel *et al.*, 2013).

Por su parte, Fejerman *et al.* En 2011, encontró una asociación entre el porcentaje de ancestría europea y un aumento en el riesgo a ca. de mama. En un grupo de mujeres latinas con cáncer de mama que residían en la bahía de San Francisco, CA. Un segundo estudio realizado por el mismo grupo, tuvo el objetivo de analizar si esta asociación se debía al componente genético, se incluyó una muestra de 1,881 (846 casos y 1,035 controles) mujeres mexicanas residentes de las ciudades de Ciudad de México, Monterrey y Veracruz con criterios de inclusión de SHCMO. También se calculó el componente de ancestría europea, nativo-americana y africana con un panel de 106 SNPs bi-alelicos de Affymetrix 100 K. Este estudio concluyó que en la muestra se observa un aumento de riesgo de cáncer de mama en aquellas mujeres mexicanas con un mayor porcentaje de ancestría

Europea (Fejerman et al., 2010). Estos autores proponen realizar estudios adicionales en América Latina que permitan explorar el efecto de la ancestría en diversos ambientes y poblaciones.

En otro estudio, Herzog 2021 estudió 17,627 pacientes hispanos en el sur de Estados Unidos, donde la frecuencia mutacional se ha calculado hasta en un 25% para los genes *BRCA*, la edad promedio de diagnóstico fue de 40.3 años, el 84% con un tumor de mama. La muestra incluyó individuos pertenecen a los siguientes países de Latinoamérica: 40% Perú, 40% México y 13.8% Colombia, Brasil y Puerto Rico. De acuerdo con los resultados se encontraron mutaciones en 236/1,627 (14.5%). Brasil con una participación del 25.7%, México 17.4% y Perú 12.6%. Las mutaciones más frecuentes se encontraron en el gen *BRCA1* con 79 vs *BRCA2* con 15. Para la metodología de secuenciación se buscaron rutas alternas para aminorar costos, el HISPANEL (creado con la finalidad de una búsqueda de mutaciones en pacientes latinoamericanos tuvo una sensibilidad del 50%, para mutaciones fundadoras y específicas). La metodología utilizada fue el sequenom mass array, ion Torrent semiconductor sequencing y PCR para CNVs (Herzog et al., 2021).

De los estudios en EUA se concluye que la frecuencia mutacional en latinos en EUA con características de SHCMO es cercana al 25%, que las mujeres con ca. de mama tienen una edad promedio de diagnóstico menor de 45 años y que el HISPANEL (creado con la necesidad de aminorar los costos en Latinoamérica y proveer una herramienta con las principales mutaciones más frecuentes en latinos para el SCHMO) tiene una sensibilidad del 50%.

En México, en el Laboratorio de Genómica del Cáncer en el Instituto Nacional de Medicina Genómica Ciudad de México (INMEGEN, Cdmx) encontró una frecuencia de mutaciones muy similar a la reportada en ExAC, en población abierta, es decir, sin tomar en cuenta los antecedentes de pacientes con el fenotipo de cáncer. La frecuencia combinada para *BRCA1/BRCA2* fue de 0.376% (1 de cada 265 mexicanos porta una mutación), *BRCA1* de 0.10% (1/996) y *BRCA2* 0.276% (1/265). Estas frecuencias fueron identificadas con la información de 3,985 individuos sin historia familiar o algún antecedente de cáncer. Proviene de los datos generados como parte de la iniciativa SIGMA “The Slim Initiative in Genomic Medicine for the Americas” y del “Mexican Genome Diversity Project” (MGDP) (Fernández-Lopez et al., 2019). También se identificó que para mujeres con ca. de mama sin selección por historia familiar, la frecuencia de mutaciones es de 15% y para aquellas con ca. de ovario o ca. de mama de subtipo triple negativo, mutaciones en gen *BRCA1* se encuentran en el 28% de los casos. (Fernández-Lopez et al., 2019).

De acuerdo con el recién creado Latin American Consortium for HBOC (LACAM) donde estudió una cohorte de 222 pacientes de Argentina, México, Guatemala y Colombia, la frecuencia mutacional es de 17% (38/222) para los cuatro países (Oliver et al., 2019). De acuerdo a los estudios previos, en poblaciones mezcladas, resulta necesario la disección de cada uno de los componentes ancestrales para evaluar la contribución de cada uno de ellos en la presentación clínica. Por ejemplo, (Fernandes et al., 2016) evaluaron a 6,000 pacientes de Brasil, observando que aquellos que viven en la parte norte del país tienen una mayor frecuencia en subtipos TN (donde se encuentra una población con mayor ancestría africana) (Fernandes et al., 2016). En México, no se ha estudiado aún la contribución de componente de ancestría, particularmente europea y nativo-americana (los componentes mayoritarios), en relación con las características clínicas e histológicas del cáncer de mama.

Otro estudio que da soporte a lo concluido por el Dr. Weitzel es el estudio de (Gallardo-Alvarado et al., 2019) donde se realizó una búsqueda de mutaciones a una cohorte de 394 mujeres menores de 45 años con criterios de ca. de mama hereditario. Estos autores identificaron 65 pacientes con mutaciones en *BRCA* positivas y 32 con VUS en *BRCA*. De las *BRCA* negativas se seleccionaron 78 para una búsqueda de mutaciones del gen *TP53* identificando 5 mutaciones y 1 VUS, lo que representa el 6.4% (5/78), con la media de edad de diagnóstico de 32 años. Dentro del estudio señalan que en las mujeres mexicanas con ca. de mama la prevalencia es del 15% para mutaciones en *BRCA1/2*, de estas, el 30% de las mutaciones ocurren por la mutación fundadora (*BRCA1* ex9-12del). Respecto a la frecuencia de mutaciones en *TP53*, este estudio es el segundo reportado en la literatura con una contribución tan alta, después de lo reportado en el Sur de Brasil donde la mutación fundadora *TP53* (R337H) corresponde al 12% del cáncer de mama joven. (Gallardo-Alvarado et al., 2019).

Adicionalmente, Urban et al., 2018 reportó los hallazgos en mujeres mexicanas donde realizó la búsqueda de mutaciones no solo en los genes *BRCA*. Se evaluó una muestra de 327 pacientes con características de SHCMO con un panel de 143 genes y metodología de secuenciación de Gene Read Qiagen. Los pacientes provenían de 4 hospitales: Instituto de Salud del Estado de México, Instituto Estatal de Cancerología de Guerrero, Centro de Investigación Biomédica de Torreón Coahuila y Hospital de Oncología del CMN Siglo XXI Ciudad de México. La edad diagnóstico media fue de 41 años y esta fue la única variable que tuvo correlación significativa con la presencia de mutaciones. Entre los resultados encontraron un 7.3% de mutaciones en los genes *BRCA* (27/327) y 8.5% en genes diferentes a *BRCA* (28/327). Entre ellos, *ATM*, *CHEK2*, *PTEN*, *MLH1* y *SDHB*. De aquellos con *BRCA*, las proporciones fueron (*BRCA1* 5% (15/300) y *BRCA2* 2% (6/300)). La mutación fundadora de *BRCA1* ex9-12 representó un 29% de las mutaciones en este gen, por lo que recomiendan de primera instancia una prueba rápida para descartar esta mutación. Como conclusión estos autores señalan que se requieren estudios prospectivos que involucren la exposición de mujeres latinas con ca. de mama y SCHMO a factores ambientales y consideren además analizar la ancestría y distintos factores de riesgo ambientales. Este estudio nos permite vislumbrar que al hacer una búsqueda de mutaciones en mujeres mexicanas únicamente de los genes *BRCA1/2*, hay aproximadamente un 50% de mutaciones en otros genes que no serán identificados. (Urban et al., 2018)

Los paneles comerciales de diversas compañías para SHCMO contemplan en general 25 genes (myRisk, Myriad) que incluyen la secuenciación completa y análisis de rearrreglos largos de los genes *BRCA1*, *BRCA2*, *APC*, *ATM*, *BARD1*, *BMP1A*, *BRIP1*, *CDH1*, *CDK4*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *SMAD4*, *STK11* y *TP53*. Además del análisis de este tipo de paneles es indispensable la consultoría genética pre y post prueba genética.

De acuerdo con el estudio de Cock-Rada et al., 2018, existen diversas publicaciones que presentan diferentes frecuencias de mutaciones de *BRCA1/2*, para mujeres hispanas con ca. de mama y ovario. Lo anterior puede explicarse por diferencias en los criterios de selección, las técnicas utilizadas para analizar los genes (secuenciación completa de genes y estudios de rearrreglos largos vs paneles de mutación y análisis de *BRCA1/2* incompletos), así como también las diferencias en el componente étnico de las poblaciones estudiadas. La mayoría de estos estudios se han llevado a cabo en hispanos que residen en EUA.

La implementación de la evaluación de riesgo del cáncer a través del análisis de las pruebas en los genes *BRCA* en México permitirían a los pacientes acceder a la estimación de riesgo individual de padecer cáncer hereditario, beneficiándose de la reducción del riesgo de un cáncer primario o bien, la posibilidad de acceder a terapia dirigida. También tiene el potencial de reducir la carga de cáncer a través de la prevención y exámenes de detección para los miembros de la familia, lo que permitiría una mejor asignación de recursos limitados para la detección oportuna del cáncer de mama/ovario en mujeres, previniendo ahorro en el gasto público y privado de los tratamientos oncológicos, alineándose a políticas de salud emergentes en México.

Actualmente existe un programa piloto para implementar programas de capacitación para la evaluación de riesgo del cáncer en las principales ciudades de México, a través del conocimiento clínico y la experiencia del consorcio de “The Clinical Cancer Genomics Intensive Course and Community of Practice”. Otro esfuerzo que tiene el propósito de abatir los costos de los análisis de los genes *BRCA* en el país es el HISPANEL, un panel de 115 mutaciones patogénicas que identifica las variantes recurrentes con un costo de \$20 dólares por caso (\$450 mxn aprox). Aquellas mujeres que resultan negativas para el HISPANEL se les lleva a cabo una secuenciación total de los genes *BRCA1/2*. Por su parte, mediante el programa piloto de GRACIA se pretende alcanzar una mayor cobertura en la evaluación de riesgo, en distintas ciudades de México.

El estudio de Weitzel 2019 analizaron una cohorte de 1,054 pacientes autodenominados hispanos, previamente tamizados y negativos en mutaciones *BRCA*. Se encontró una frecuencia mutacional de 4.6% (49/1054) donde los genes con mayor número de mutaciones fueron: *CHEK2*=20, *PALB2*=18, *ATM*=5, *TP53*:3, *BRIPI*= 2, *CDH1*=1. Este análisis se llevó a cabo con pacientes de: City of Hope (COH) Clinical Cancer Genomics Communityt Research Network, Universidad de California (San Francisco) Clinical Genetics and Prevention Program y la Universidad del Sur de California (USC). La edad de diagnóstico fue de 47 años vs 42 años en mutaciones en genes *BRCA*. Respecto a los genes *CHEK2* 14/20 variantes que se detectaron, corresponde a la variante c.707T>C:p.L236P que de acuerdo con lo reportado en ExAc esta variante únicamente se ha encontrado en población latina, en *PALB2* 9/18 las variantes patogénicas corresponden a la variante c.2167-2168del:P.M725fj, que se habían encontrado con anterioridad en población latina con una ancestría italiana. Weitzel concluyó que posiblemente existan mutaciones fundadoras en los genes *CHEK2* y *PALB2* en la población nativa americana (se hicieron pruebas de ancestría con un panel de AIMs) similar a la identificada en *BRCA1* ex9-12 específica de mexicanos. (Weitzel *et al.*, 2019) Los mismos autores señalan que es necesario que las minorías étnicas/raciales estén representadas para definir el riesgo en estas poblaciones y tener un esquema de prevención y atención que incluyan el acceso a paneles genéticos que incluyan las mutaciones fundadoras, de tal forma que se abatan los costos, además de intensificar las recomendaciones médicas como son las imágenes de resonancia magnética desde los 30-35 años y las revisiones para cáncer de colon. Para EUA el 30% de su población es hispana/latina y se tiene definido que 1/20 mujeres va a padecer ca de mama si son de origen hispano, que comparado con otras etnias será posiblemente tardío y no curable (Weitzel *et al.*, 2019).

Respecto a si existen diferencias en el tipo de mutaciones patogénicas de acuerdo a la edad de presentación (Chavarri-Guerra *et al.*, 2019) apunta que las mutaciones en los genes de baja penetrancia como *CHEK2* y *PALB2* tienen una mayor frecuencia en mujeres de edades más avanzadas. Esto en el sentido biológico y fenotipo de la enfermedad se puede explicar debido a que

los genes de penetrancia media y baja tienen un menor riesgo de desarrollo y pueden promover la aparición de la enfermedad en una edad más avanzada. Sin embargo, en el estudio de mujeres en EUA y 5 sitios de Latinoamérica *BRCA2*, fue el gen más frecuente mutado en mujeres que presentaron ca. de mama después de los 65 años.

En términos de ancestría se les llama “Hispanos/Latinos” a aquellos habitantes de Latinoamérica y personas con ancestros nativos americanos. Esta población actualmente es una mezcla genética con la contribución de las poblaciones nativas americanas, europea y africana. Estos eventos históricos han generado que la ancestría en Latinoamérica, tenga un patrón diferente por región y que sea rica y muy heterogénea (Bryc et al., 2010).

Considerando la heterogeneidad genética del cáncer de mama, en este estudio nos propusimos evaluar en primera instancia, la contribución del componente de ancestría nativo-americana y europea en el perfil clínico y mutacional de mujeres con formas hereditarias de cáncer de mama. Para llevar a cabo este análisis utilizamos un panel de 32 marcadores informativos de ancestría (AIMs, por sus siglas en inglés), desarrollado y validado previamente (Huerta-Chagoya *et al*, 2019). Los AIMs son marcadores cuya frecuencia alélica difiere entre las poblaciones ancestrales. Este panel fue creado para corregir la estratificación de poblaciones mestizas, pero también permite generar una estimación global de las dos ancestrías de mayor contribución en la población mexicana (nativo-americana y europea). La construcción de este panel proviene de datos de genoma completo a partir de una muestra de 1,953 mexicanos del consorcio SIGMA T2D. Con este panel se evaluaron individuos de 4 regiones del país, calculando su proporción de ancestría nativo-americana, como ejemplo, en la región norte se estimó 50.5%, en la región del centro 63.3%, en la región de la Ciudad de México 59.6% y en la región sur 64.6%.

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando que la población mestiza mexicana tiene una contribución étnica tanto de población europea como nativa-americana en proporciones similares (cerca al 50%), este estudio plantea estudiar el papel de la ancestría nativa americana en la presentación clínica del cáncer de mama en mujeres mexicanas con criterios para el síndrome hereditario de cáncer de mama y ovario (SHCMO), incluyendo características clínicas como la edad de diagnóstico, el subtipo tumoral y el perfil mutacional.

7. HIPÓTESIS

Un mayor porcentaje de ancestría nativo americana se asocia a una mayor frecuencia de mutaciones en genes de alta penetrancia, a una edad de aparición más temprana y a formas clínicas más severas, incluyendo la presencia del subtipo tumoral triple negativo, en mujeres mexicanas con criterios de SHCMO.

8. OBJETIVO GENERAL

- Estimar si la ancestría nativo americana tiene un efecto en la presencia del Síndrome Hereditario de Cáncer de Mama y Ovario (SHCMO) en mujeres mexicanas de 3 instituciones.

8.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar el componente de ancestría nativa-americana global de cada paciente a través de la tipificación de un panel validado de 32 marcadores informativos de ancestría (AIMs).
- Determinar la posible asociación del componente nativo-americano con el perfil mutacional asociado al Síndrome Hereditario de Cáncer de Mama y Ovario (SHCMO), así como con el perfil clínico que incluye la edad de diagnóstico y el subtipo tumoral.

9. MÉTODOLOGÍA

9.1 ANÁLISIS DE MUTACIONES GENÉTICAS

La muestra del estudio se compone de tres grupos de pacientes provenientes de diferentes instituciones de salud de México:

- 1) Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) en donde se captó y analizó un grupo de 90 pacientes no relacionados con ca. de mama, para la identificación de mutaciones en los genes *BRCA1*, *BRCA2* y *TP53*.
- 2) Centro de Cáncer ABC, donde se reclutó una muestra de 55 pacientes no relacionados y se cuenta con datos sobre la presencia de mutaciones 23 distintos genes, incluyendo *BRCA1*, *BRCA2* y *TP53*.
- 3) Hospital San José (Tec Salud) se reclutaron 95 pacientes no relacionados con búsqueda de mutaciones en los genes relacionados al síndrome de predisposición al cáncer hereditario (SHCMO).

Los pacientes de las instituciones cumplen uno o varios de los requisitos para detectar síndrome hereditario de predisposición al cáncer, como son:

- Edad de diagnóstico inusual para el tipo de cáncer que presenta (pacientes jóvenes)
- Más de una neoplasia primaria en el mismo paciente
- Tumores extremadamente raros
- Cáncer de mama triple negativo
- Cáncer de ovario epitelial
- Poliposis adenomatosa familiar
- Historia familiar sugerente de síndrome de predisposición a cáncer hereditario

Además, se cuenta con información sobre datos sociodemográficos, clínicos, de tratamiento, evolución, histológicos y sobre la presencia o ausencia de mutaciones en los genes *BRCA1/BRCA2*. El protocolo cuenta con la aprobación de los Comités de Investigación y Ética del Centro de Cáncer ABC, Observatorio (17-10: Programa de Investigación y Asesoramiento Genético en Pacientes con

Cáncer) donde el programa incluye la participación de los tres hospitales. Las pacientes del Instituto Nacional de Cancerología INCAN, se estudiaron con la aprobación de un protocolo evaluado por los Comités de Investigación y Ética del propio Instituto, al igual que del Hospital San José Tec Salud.

Si bien todas las muestras analizadas contaban con los datos derivados de la secuenciación de los genes previamente descritos, se menciona brevemente la metodología de secuenciación masiva dirigida utilizada para evaluar las muestras del INCAN y del Centro de Cáncer del Hospital ABC.

El ADN fue purificado a partir de muestras de sangre total, con el kit de extracción Qiamp de Qiagen y se cuantificaron mediante el uso de un nanodrop. Posteriormente se llevó a cabo una amplificación por PCR (18-19 ciclos). Los fragmentos fueron purificados usando AMPure XP beads (Beckman Coulter, CA). El enriquecimiento de los mismos fue validado usando el 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) y la cuantificación Qubit. La secuenciación del ADN se llevó a cabo con un HiSeq2500 (Illumina, Inc., San Diego, CA) con 2 x 150 pb lecturas usando v3 reagentes según las instrucciones del proveedor. El promedio de lecturas por base se estableció en 2000x. Aproximadamente 20 muestras examinadas en un carril (promedio de Cobertura de 3500x después de la eliminación de lecturas duplicadas). Esta plataforma identifica variaciones de un solo nucleótido (SNV), inserciones/delecciones (indels), variantes del número de copias (CNVs) y rearrreglos genéticos incluyendo *BRCA1ex9-12del*. Todas las mutaciones son validadas con la amplificación de PCR y con la secuenciación Sanger. Cada librería se alineó con los datos genómicos de (hg19/GRCh37) como referencia, el procesamiento y alineamiento se llevó a cabo con el programa BWA y SAMtools (<http://sourceforge.net/projects/samtools/files>), la identificación de mutaciones se llevó con VarScan2 tools <http://sourceforge.net/projects/varscan>.

9.2 ANÁLISIS DE MARCADORES DE ANCESTRÍA

Se llevó a cabo la estimación del porcentaje de ancestría nativo-americana y europea de cada grupo de pacientes a través del genotipado del panel de 32 marcadores (AIMs), publicado por Huerta-Chagoya *et al.* para la estimación de la ancestría global mediante un array diseñado para este propósito. Se utilizó la plataforma Quant Studio 12 k Flex real time PCR system Open Array (Genotyping Platform). Con la información del genotipado de 32 AIMS se llevó a cabo un Análisis de Componentes Principales (PCA) y posteriormente se obtuvo el porcentaje de ancestría nativo americano o europeo con el software ADMIXTURE. En el anexo 1 se encuentra el código de R studio para el cálculo de PCAs.

9.3 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN

Para evaluar la posible asociación del componente nativo-americano o europeo con el perfil mutacional y las características clínicas, las variables continuas fueron tabuladas como medianas con su respectivo rango intercuartílico, las comparaciones entre dos grupos se llevaron a cabo con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney de acuerdo a distribución que presentaban, las de tres grupos con ANOVA no paramétrico (Kruskal-Wallis) y los análisis de datos nominales se llevaron a cabo usando chi-cuadrada o la prueba exacta de Fisher. Las comparaciones entre dos grupos

incluyen: edad de diagnóstico y porcentaje de ancestría nativo americana entre pacientes con mutación positiva en SHCMO vs sin mutación, edad de dx y porcentaje de ancestría en pacientes con mutaciones positivas en genes de alta penetrancia (BRCA1, BRCA2, TP53) vs genes de baja penetrancia (CHEK2, PALB2,...), comparación por grupos más europeo o más nativo americanos y del porcentaje nativo americano en subtipos triple negativo vs otros. Para las comparaciones de tres grupos se evaluó la diferencia entre hospitales para edad de dx y porcentaje nativo americano. Utilizamos el paquete R para los análisis estadísticos y las gráficas.

10. RESULTADOS

El estudio incluyó 235 pacientes, 91.5% (215 casos no relacionados), con diagnóstico de cáncer de mama. Estos pacientes participaron en protocolos de investigación para el estudio genético del Síndrome Hereditario de Cáncer de Mama y Ovario, en las distintas Instituciones participantes: Instituto Nacional de Cancerología (INCAN, Ciudad de México), Centro de Cáncer del Hospital ABC (ABC, Ciudad de México) y el Hospital San José del Tecnológico de Monterrey (Tec Salud, Monterrey), un hospital educativo con acceso público y privado. Los pacientes cumplían con los criterios de selección para búsqueda de mutaciones asociadas al SHCMO. Los protocolos de investigación y los correspondientes consentimientos informados fueron avalados por los Comités de Ética de las Instituciones participantes.

La mediana de edad de diagnóstico fue de 36 años, la mayoría de los pacientes se encuentran entre 31 y 43 años. El conjunto de pacientes más joven se encuentra en el INCAN 84.5%, se encuentra entre 20 a 40 años. El grupo de edades más frecuente es de 30-40 años (43.8%) en términos generales, el 65.6% de la muestra corresponde a pacientes menores de 40. Las edades avanzadas fueron un término que no se eliminó de las características seleccionadas, sin embargo las muestras eran jóvenes.

Tabla 7. Características generales de los pacientes.

1. Hospitales participantes				
	Total	INCAN (Cd. Mx) público	ABC (Cd.Mx) privado	Tec HSJ (Mty) privado
	N=235	N=90	N=50	N=95
	100%	38.29 %	21.27%	40.42%
2. Edad diagnóstico^a				
Mediana	36	32	45	37
Cuartil 1	31	28	37.2	33
Cuartil 3	43	36	55.5	41.5
3. Frecuencias por grupos de edades de diagnóstico			(N) %	
20-30	(51) 21.7	(32) 35.6	(6) 12	(13) 13.7
30-40	(103) 43.8	(44) 48.9	(9) 18	(50) 52.6
40-50	(48) 20.4	(9) 10	(15) 30	(24) 25.3
50-60	(22) 9.4	(5) 5.6	(12) 24	(5) 5.3
60-70	(7) 3.0		(4) 8	(3) 3.2
70-80	(4) 1.7		(4) 8	

a. Edad cuando se diagnostica la enfermedad y para aquellos pacientes sin la enfermedad es la edad de cuando acuden a consulta (pacientes incluidos por historia familiar).

10.1 PRESENCIA DE MUTACIONES EN LOS GENES DE SÍNDROME HEREDITARIO DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO

La muestra presenta una frecuencia mutacional 16.6% (39/235) en mutaciones germinales asociadas al síndrome de predisposición al cáncer hereditario (SHCMO) (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PALB2*, *ATM*, *CHEK2*, *RAD51*), 30 de estas mutaciones se encuentran en un gen de alta penetrancia (*BRCA1*, *BRCA2* ó *TP53*) con una frecuencia mutacional del 12.8% (30/235) y 3.8% en genes de penetrancia intermedia o baja (*ATM*, *CHEK2*, *PALB2*, *MUTYH*). El gen más frecuentemente mutado 18/39 (46.2%) es *BRCA1*, seguido de *BRCA2* 10/39 (25.6%) y *CHEK2*, un gen de baja penetrancia presentó mutaciones en 4 pacientes (10.3%). Un caso especial fue una paciente que presentó mutaciones en 2 genes de penetrancia intermedia-baja (*CHEK2* y *PALB2*). En el inciso 3 se presenta la frecuencia de las Variantes de Significado Incierto (VUS, por sus siglas en inglés), las cuales no son categorizadas como mutaciones germinales patogénicas, ya que no se cuenta con la información suficiente para asignarles un efecto funcional. No obstante, se encontraron 16 VUS y el gen *BRCA2* presentó el mayor número de variantes de significado incierto 5/16 (31.3%).

Tabla 8. Mutaciones presentes en la muestra

1. Frecuencia mutacional	N (%)	
Total mutaciones	39	16.6
Genes alta penetrancia (<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>TP53</i>)	30	12.8
Genes baja penetrancia (<i>ATM</i> , <i>CHEK2</i> , <i>PALB2</i> , <i>MUTYH</i>)	9	3.8
2. Frecuencia por gen mutado	N=39 (100%)	
<i>BRCA1</i>	18	46.2
<i>BRCA2</i>	10	25.6
<i>TP53</i>	2	5.1
<i>ATM</i>	1	2.6
<i>CHEK2</i>	4	10.3

<i>PALB2</i>	2	5.1
<i>MUTYH</i>	1	2.6
<i>PALB2 & CHEK2</i>	1	2.6

3. Frecuencia en Variantes de Significado Incierto

N=16(100%)

<i>VUS BRCA2</i>	5	31.3
<i>VUS DICER 1</i>	3	18.8
<i>VUS TP53</i>	2	12.5
<i>VUS RAD51D</i>	2	12.5
<i>VUS ATM</i>	2	12.5
<i>VUS BRCA1</i>	1	6.3
<i>VUS MRE11A</i>	1	6.3

10.2 DESCRIPCIÓN DE LA ANCESTRÍA NATIVO AMERICANA EN LA MUESTRA

Se obtuvo la proporción de ancestría nativo-americana con una mediana de 49.9% (Tabla 9) para la población total, con un rango intercuartílico (33.4%-63.4%). El hospital con mayor proporción de ancestría nativo-americana es el INCAN donde la mediana es del 60.4% (49.8%-73.8%), seguido del Tec Salud 47.1% (33.3%-57.3%), mientras que ABC, presentó una mediana del 22.3% (8.1%-46.6%), siendo el hospital que cuenta con mayor proporción de ancestría europea. Es importante destacar que en el Hospital ABC, el cuartil 3 presentó 46.6 % de ancestría nativo-americana.

Tabla 9. Descripción de la ancestría nativo americana

1. % de Ancestría Nativo Americana				
	Total	INCAN (Cd. Mx) público	ABC (Cd.Mx) privado	Tec HSJ (Mty) público y privado
Mediana	49.9	60.4	22.3	47.1
Cuartil 1	33.4	49.8	8.1	33.3
Cuartil 3	63.4	73.8	46.6	57.3

10.3 INFORMACIÓN ADICIONAL REFERENTE A LOS TUMORES Y SUBTIPOS DE CÁNCER PRESENTES

Para obtener la información de subtipos moleculares de cáncer se tomaron en cuenta los resultados sobre la presencia de receptores de estrógeno, receptor de progesterona, ki67% y Her2neu. Se obtuvieron los datos de 135 pacientes con información de su historial clínico y en 100 de ellos no fue posible obtener esta información (Tabla 10). El subtipo histológico que predomina es Luminal A (24.2%), seguido del Triple Negativo (19.2%) y el Luminal B (9.36%). De aquellos que tienen un subtipo Triple Negativo, 13 pacientes tienen una mutación positiva en *BRCA1* y 2 pacientes en el gen *BRCA2*. Es decir, de las 18 mutaciones patogénicas presentes, 15 de ellas se identificaron en pacientes con el subtipo TN, lo cual es consistente con observaciones publicadas previamente (Fernández-Lopez et al., 2019b).

Tabla 10. Información clínica de los pacientes con cáncer

1. Subtipos moleculares de tumor^a		N=235 (100%)
Luminal A	57	24.2%
Luminal B	22	9.36%
Triple Negativo	43	19.2%
Her2neu+	13	5.5%
Desconocido	100 ^b	42.5%

2. Ubicación del tumor		N=235
Mama	215	91.48%
Ovario	6	2.55 %
Páncreas	1	0.42%
Colon	3	1.27%
Recto	1	0.42%
Sin tumor, historia familiar	9	3.82%

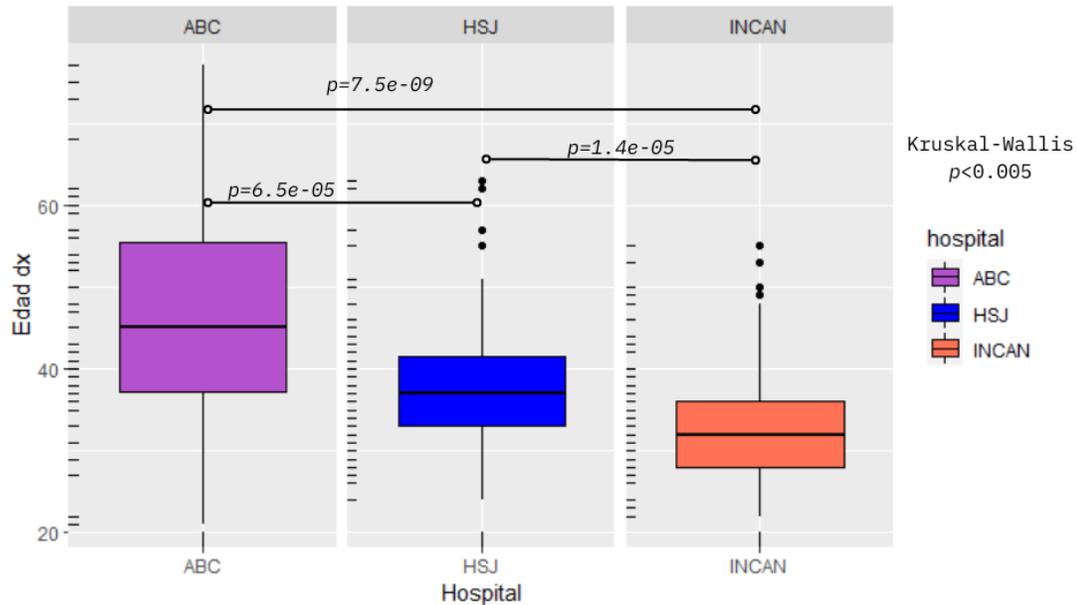
a. Categorías de subtipos moleculares de cáncer a partir de la evaluación inmunohistoquímica de receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP), HER 2, Ki67, citoqueratinas de alto peso molecular 5 y 6 (CK5/6), citoqueratinas de bajo peso molecular 8 y 18 (CK 8/18), y receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

b. No se cuenta con esta información debido al acceso de historiales clínicos.

En la Figura 2 se presenta la comparación de las edades diagnóstico entre hospitales, la edad de diagnóstico menor se presentó en el INCAN con una mediana de 32 años (28-36), seguida del hospital Tec Salud San José con una mediana de 37 años (33-42) y la institución que incluyó

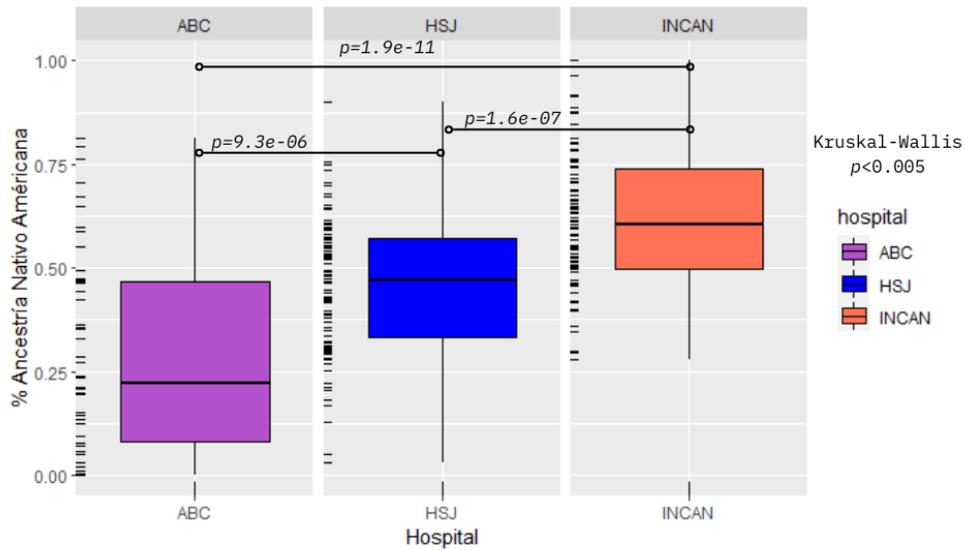
pacientes con una edad de diagnóstico más avanzada, fue el Centro de Cáncer ABC, con una mediana de 45 años (37-56.2). Se realizó un Anova no paramétrico (Kruskal-Wallis) con un p -valor=1.09e-10 y 2 grados de libertad. Tomando en consideración una diferencia significativa ($p < 0.05$), existe una diferencia estadística entre las medianas comparadas.

Figura 2. Comparación de edad de diagnóstico entre hospitales.



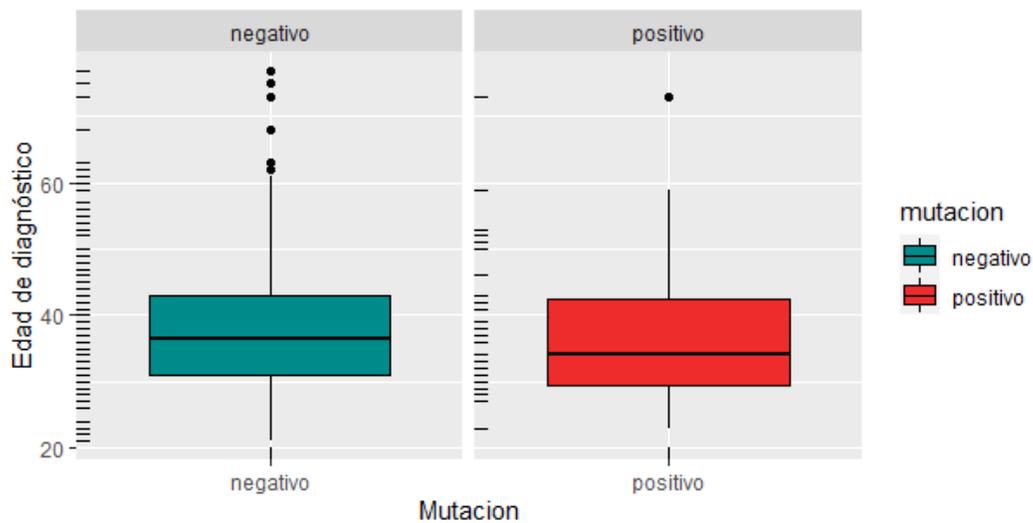
Comparando el porcentaje de ancestría nativo-americana entre los hospitales (Figura 3) se puede observar que el hospital con menor ancestría nativo- americana es el Centro de Cáncer ABC, con una mediana de 22.3% (7.6%-46.8), seguido del Hospital San José Tec Salud con una mediana de 47.1% (32.7%-57.3%) y el hospital con una mayor proporción de ancestría nativo-americana es el INCAN con 60.4% (49.6%-74.3%). Se realizó un Anova no paramétrico con un p -valor= 3.401e-14, Kruskal-Wallis chi-cuadrada=62.1 y 2 grados de libertad. Tomando en consideración una diferencia significativa ($p < 0.05$), existe una diferencia estadística entre las medias comparadas.

Figura 3. Comparación del % de ancestría nativo americana entre hospitales.



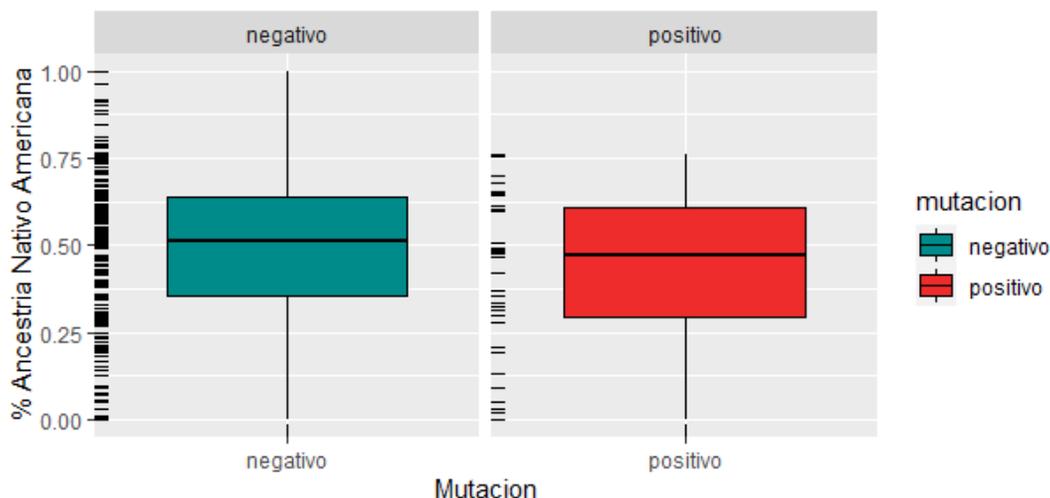
En la Figura 4, se llevó a cabo una comparación de medianas para la edad diagnóstica en aquellos pacientes que presentaban una mutación germinal en los genes (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *CHEK2*, *ATM*, *PALB2*, *MUTYH*) vs aquellos que no presentaban una mutación en estos genes, o bien tenían una variante de significado incierto (VUS). En esta figura se puede observar que aquellos con una mutación positiva presentan una edad de diagnóstico menor, de 34 años (29-43) y aquellos negativos tienen una edad de 36.5 (31-43). Esta comparación de medianas no es estadísticamente significativa ($p\text{-valor}=0.56$).

Figura 4. Comparación edad de diagnóstico entre pacientes con una mutación positiva germinal en genes del Síndrome de Cáncer Hereditario de Mama y Ovario vs negativa.



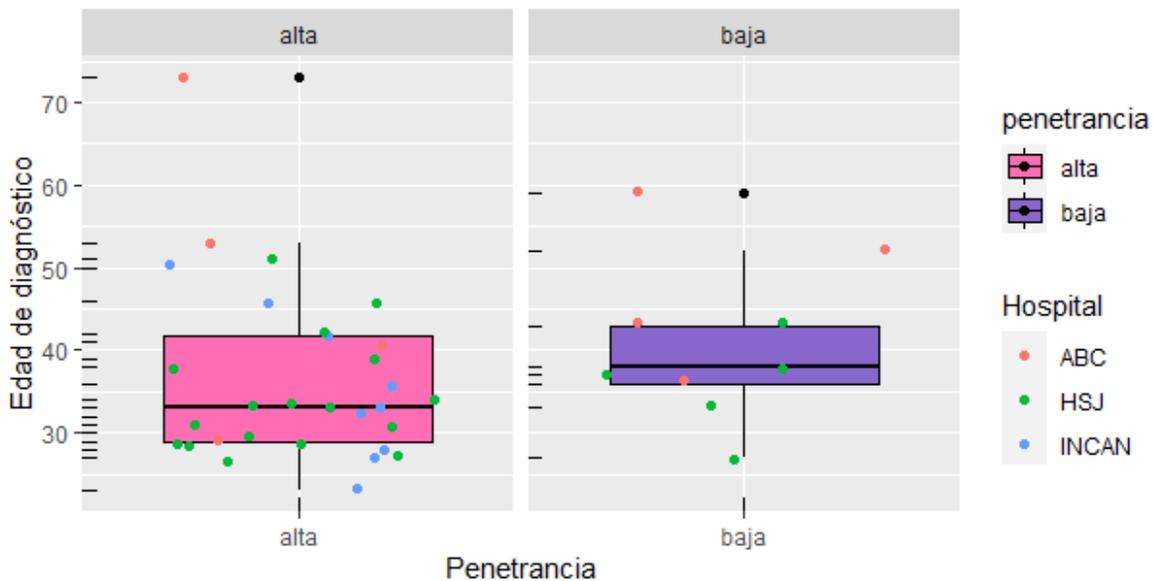
De igual forma en la Figura 5 se compararon ambos grupos en términos del porcentaje de ancestría nativo-americana, el grupo positivo tiene una mediana de 47.1% (28.2%-62.2%) a diferencia de los negativos con 51.3% (35.3%-63.9%). Se realizó la misma comparación de medianas, obteniendo un p -valor=0.12 (marginal, no significativo).

Figura 5. Comparación % de ancestría nativo- americana entre pacientes con una mutación positiva germinal en genes del Síndrome de Cáncer Hereditario de Mama y Ovario vs negativa.



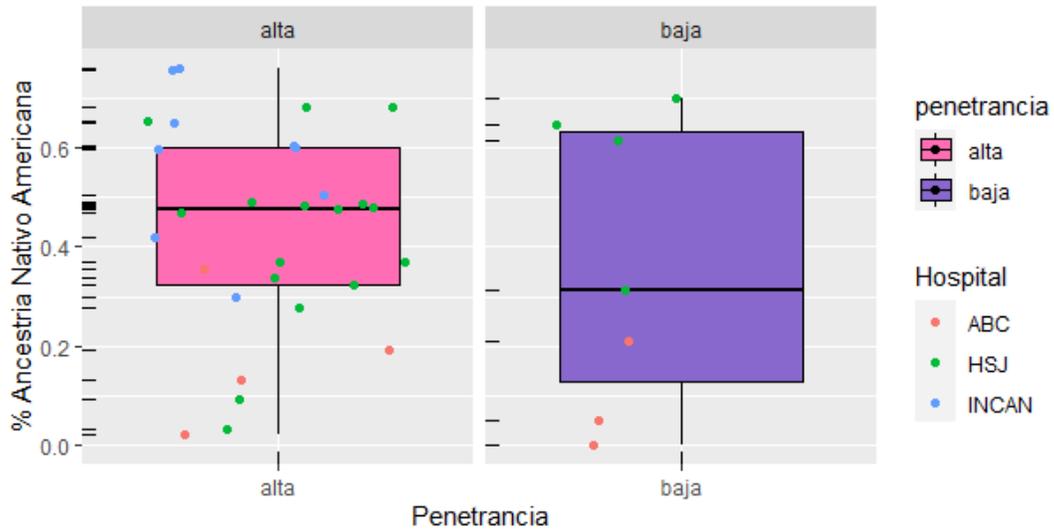
En la Figura 6 se muestra una comparación de edad de dx en pacientes que tienen una mutación positiva en los genes de alta penetrancia (*BRCA1*, *BRCA2* y *TP53*) y los de baja penetrancia (*PALB2*, *CHEK2*, *ATM*, *MUTYH*). Como se observa, los de alta penetrancia (rosa) tienen una mediana de edad de diagnóstico de 33 años (29-42) y los de penetrancia baja (morado) de 38 años (34.5-47.5). Con los puntos de colores se puede observar que los pacientes más jóvenes corresponden al hospital INCAN (azul) y al hospital Tec Salud San José (verde). Esta comparación tiene un p -valor=0.1464 (marginal, no significativa). A partir de los datos obtenidos, nos propusimos analizar la relación de la ancestría con la presencia de mutaciones en genes de baja penetrancia (*PALB2*, *CHEK2*, *ATM*, *MUTYH*), lo cual se relaciona a edades más tardías de diagnóstico y es mayor en % ancestría nativo americana menor (más europeos).

Figura 6. Comparación edad de diagnóstico entre pacientes con una mutación positiva germinal en genes del SHCMO de categoría alta penetrancia (BRCA1, BRCA2 y TP53) vs genes de baja penetrancia (PALB2, CHEK2, ATM, MUTYH).



En la Figura 7 se muestra la comparación de los mismos grupos, en el porcentaje de ancestría. Se observa que aquellos que pertenecen al grupo de alta penetrancia tienen una proporción de ancestría nativo-americana mayor, la mediana de este grupo es de 47.5% (31.1%-60.2%) a diferencia de aquellos con una mutación en genes de baja penetrancia, 31.2% (5.1%-64.5%). (p -valor=0.58). En esta figura se puede observar que el Centro de cáncer ABC tiene una proporción de ancestría nativo-americana menor (puntos rosas, se concentran en la parte alta de la figura).

Figura 7. Comparación % ancestría nativo-americana entre pacientes con una mutación positiva germinal en genes del SHCMO de categoría alta penetrancia (*BRCA1*, *BRCA2* y *TP53*) vs genes de baja penetrancia (*PALB2*, *CHEK2*, *ATM*, *MUTYH*).



Los análisis presentados en las siguientes figuras contemplan una división por grupos, dependiendo el porcentaje de ancestría, aquellos con un porcentaje >50% (más nativo americanos) vs <50% (más europeos) con el objetivo de observar si existe una diferencia significativa entre las edades de diagnóstico. La Figura 8 muestra el grupo de pacientes con mayor porcentaje de ancestría nativo-americana, comparando los grupos con una mutación germinal positiva contra negativa. Las medianas ambas son de 33 años, y los rangos son muy similares positivo (28-38), negativo (28-38.5), p -valor= 0.72.

Figura 8. Grupo >50% Nativo Americano, comparación de la edad diagnóstico en positivos en mutaciones de genes SHCMO vs negativos

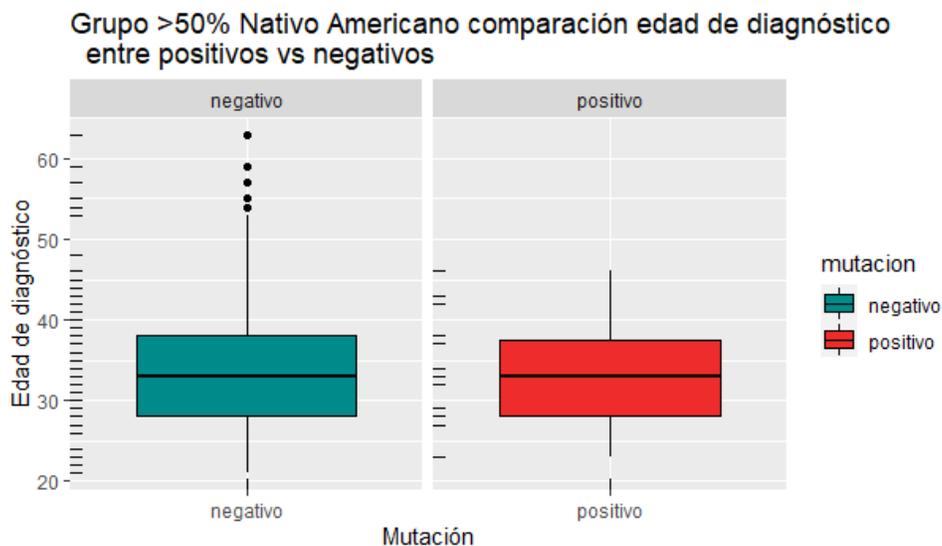
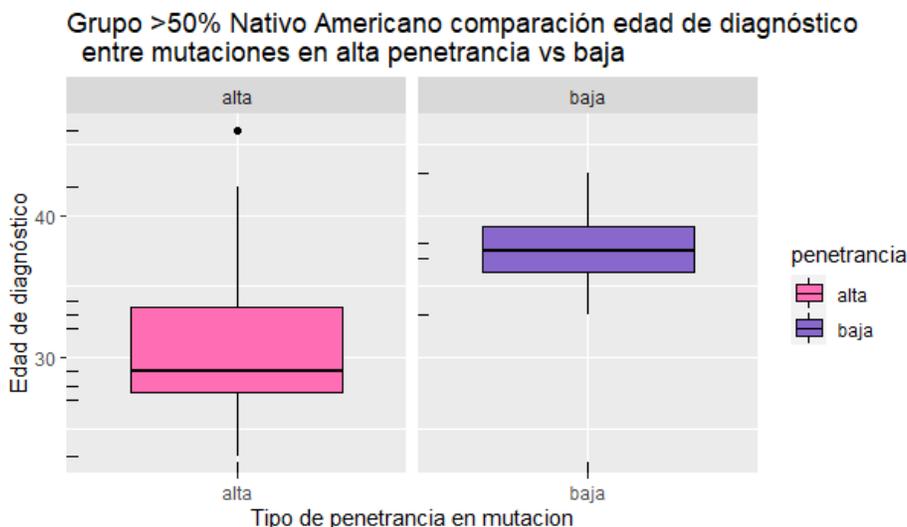


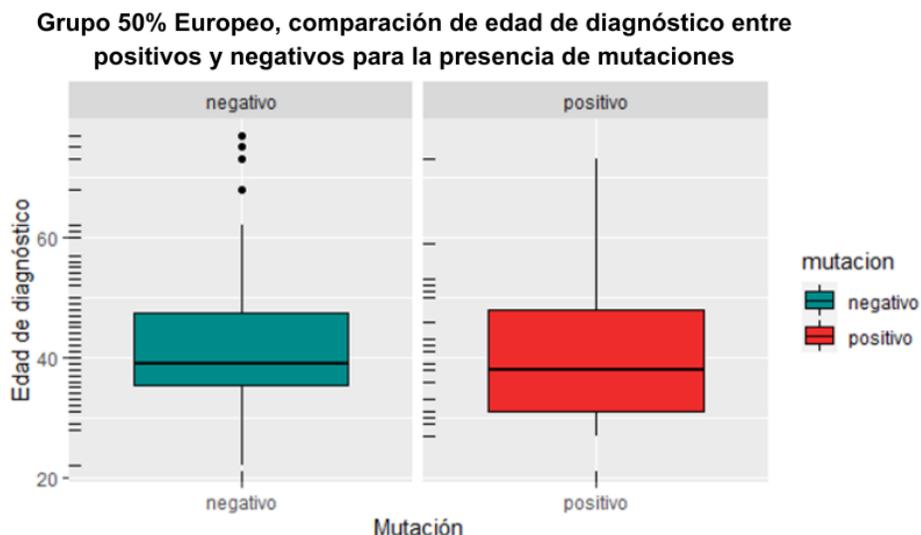
Figura 9. Grupo 50% Nativo Americano, comparación de la edad diagnóstica en pacientes portadores de mutaciones en genes alta penetrancia (*BRCA1*, *BRCA2* y *TP53*) vs genes de baja penetrancia (*PALB2*, *CHEK2*, *ATM*, *MUTYH*).



En la comparación entre pacientes con mayor ancestría nativo-americana negativos y positivos para la presencia de mutaciones, no se encuentra diferencia en la edad de diagnóstico. Sin embargo, al ser analizados de acuerdo a la presencia de mutaciones de alta o baja penetrancia, los pacientes portadores de mutaciones en genes de alta penetrancia tienen una edad de diagnóstico de 29 años (27-34), en comparación con aquéllos que presentan mutaciones en genes de baja penetrancia, donde el diagnóstico ocurre a una edad más avanzada de 37.5 (34-41.8). El $p\text{-valor} = 0.089$, un valor de significancia marginal.

En la Figura 10 se presenta la comparación de la edad de diagnóstico entre pacientes positivos vs negativos para la presencia de mutaciones en el grupo que tiene un mayor % de ancestría europea. Ambas edades son muy similares; positivos 38 años (31-50) y negativos 39 años (35-48) $p\text{-valor} = 0.29$, por lo que no existe una diferencia significativa entre ambos grupos.

Figura 10. Grupo de pacientes con ancestría Europea mayor al 50%, comparación de edad de diagnóstico entre individuos positivos y negativos para la presencia de mutaciones



La comparación de genes de alta vs baja penetrancia también fue considerada para este grupo (figura 11) donde los pacientes que presentan mutaciones en genes de alta penetrancia tienen una mediana de diagnóstico de 37 años (30.8-47) y los de baja penetrancia 43 (31-55.5) y un p -valor=0.47. Llama la atención que en este grupo donde la ancestría es más europea y existen también mutaciones en genes de alta penetrancia es más tardía la aparición de la enfermedad.

Figura 11. Grupo de pacientes con ancestría europea mayor al 50%, comparación de edad de diagnóstico entre individuos positivos en genes de penetrancia alta (*BRCA1*, *BRCA2* y *TP53*) vs genes de baja penetrancia (*PALB2*, *CHEK2*, *ATM*, *MUTYH*).

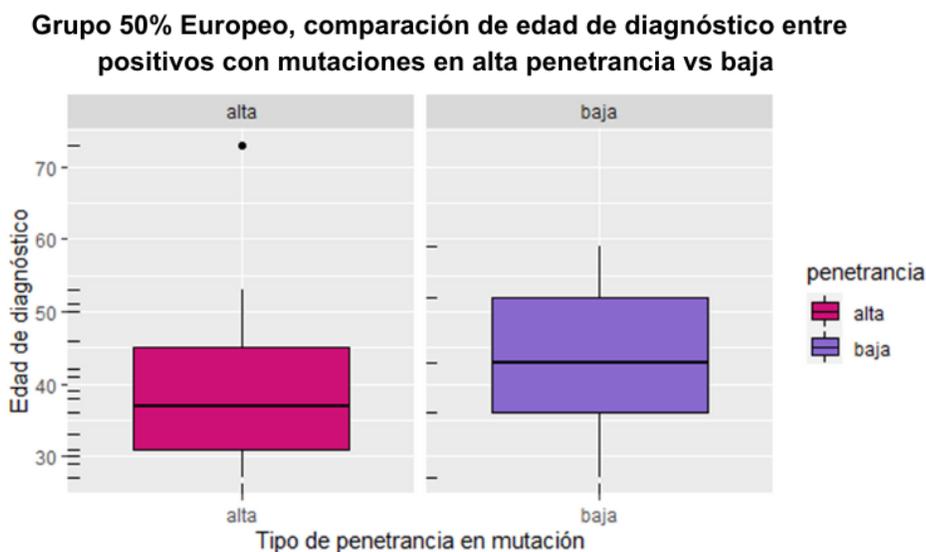
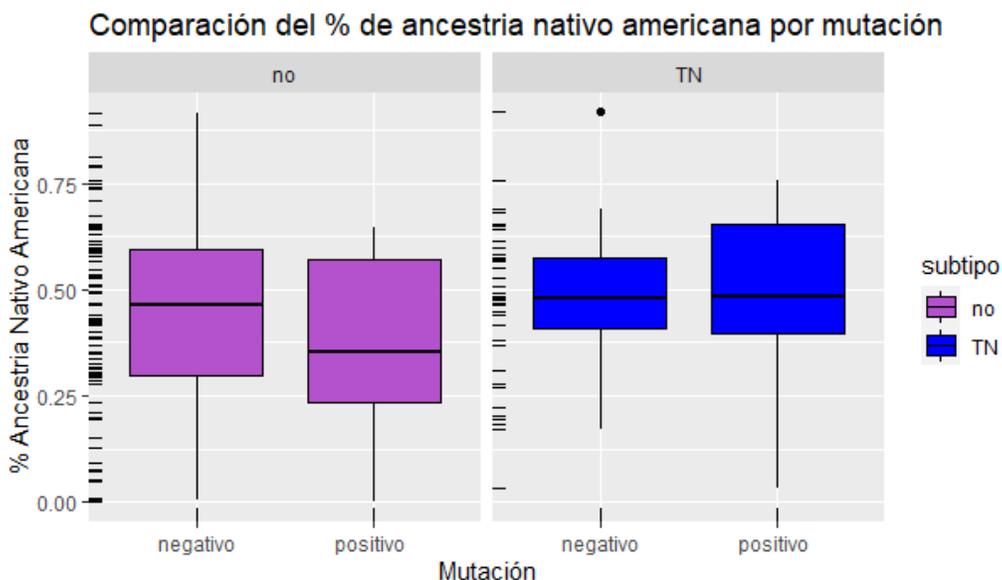
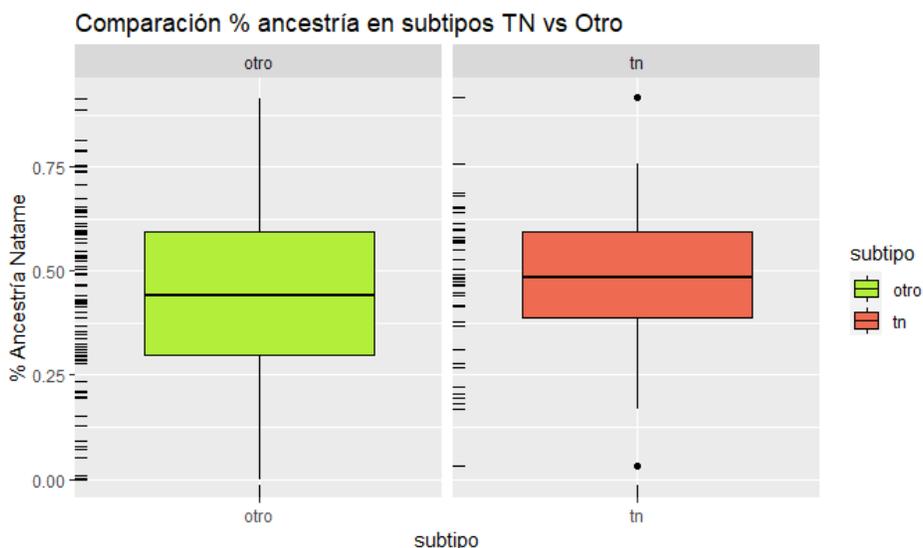


Figura 12. Comparación del porcentaje de ancestría nativo-americana entre los pacientes con el subtipo de cáncer de mama conocido.



En la figura 12 se hace la comparación entre el subtipo tumoral triple negativo vs los otros subtipos, mostrando también diferencias entre pacientes con mutación positiva o negativa. La comparación entre pacientes positivos para mutaciones con subtipo negativo vs los pacientes con otros subtipos tumorales resultó significativa ($p=0.0583$, $W=98$).

Figura 13. Comparación del porcentaje de ancestría nativo-americana entre los pacientes con subtipo Triple Negativo vs otros subtipos tumorales.



En la figura 13 se puede observar la comparación entre la ancestría nativo-americana presente en aquellos con subtipo Triple Negativo vs los que tienen un subtipo diferente. Mann Whitney Wilcoxon $p=0.38$. No hay una diferencia estadística significativa.

11. DISCUSIÓN

En el presente trabajo analizamos la posible contribución del componente nativo-americano en el perfil clínico y mutacional de pacientes mexicanas con cáncer de mama. En este proyecto incluimos información sobre la presencia de mutaciones en los tres principales genes asociados a esta forma familiar de cáncer de mama (*BRCA1*, *BRCA2* y *TP53*). Cabe señalar que para todas las pacientes contamos con información sobre la presencia o ausencia de mutaciones en estos tres genes de alta penetrancia, a través de la búsqueda de posibles mutaciones en estos genes mediante secuenciación masiva dirigida. Es decir, se buscó dirigidamente por medio de secuenciación masiva cualquier tipo de mutación presente en la región codificante, las uniones intrón-exón y la región promotora de estos tres genes. Adicionalmente, se descartó también la presencia de posibles deleciones o inserciones génicas. Esto es particularmente relevante ya que como se mencionó en la sección de antecedentes y resultados, en la población mexicana, es frecuente la mutación fundadora del gen *BRCA1* que comprende la deleción de los exones 9-12 (Weitzel et al., 2013b).

Además, en una submuestra de estas pacientes se cuenta con información sobre la presencia de mutaciones en otros 19 genes, incluyendo genes de penetrancia intermedia y baja. Esto nos permitió analizar posibles diferencias en la edad de inicio y en el subtipo tumoral en pacientes con mayor o menor proporción de ancestría nativo-americana, además de posibles diferencias en el tipo de genes que presentan mutaciones en este grupo de pacientes.

Considerando que la población mexicana actual representa una población con mezcla reciente de dos principales ancestrías: nativo-americana y europea, con proporciones similares (alrededor de 45/45), así como una proporción menor al 5% de ancestría africana, y que la mayoría de los estudios publicados describen las características clínicas y el perfil mutacional de pacientes de población europea, consideramos relevante analizar la influencia del componente nativo-americano en el perfil clínico (*e.g.* edad de inicio y subtipo tumoral) y mutacional, de pacientes mexicanas con criterios de SHCMO. Restringir los criterios de inclusión a este grupo de mujeres, nos permitió analizar un grupo de alto riesgo, generalmente mujeres jóvenes al momento del diagnóstico y que comprenden un grupo más homogéneo, respecto al análisis mujeres con cáncer de mama con formas esporádicas (*e.g.* sin antecedentes familiares de cáncer y/o criterios de SHCMO).

Para este propósito, utilizamos un panel de 32 marcadores informativos de ancestría (AIMs) desarrollado y validó previamente por nuestro grupo de investigación (Huerta-Chagoya *et al*, 2019). Este panel de aplicación para población mexicana, nos permite estimar las proporciones de ancestría nativo-americana y europea globales de cada paciente.

De acuerdo a estudios previos, la ancestría nativo-americana correlaciona positivamente con el nivel socioeconómico así como con el nivel educativo y por lo tanto, captura de manera indirecta, variables socioambientales que pueden modificar el curso clínico de la enfermedad (Estrada et al., 2014).

La muestra de pacientes analizada en este trabajo, proveniente de distintas instituciones (*e.g.* públicas y privadas), incluyó pacientes con un rango amplio de ancestría nativo-americana (49.9 [33.4-63.4]) que presentaron, además, diferencias significativas en la edad de diagnóstico cuando se comparaban las 3 instituciones (*eg.* INCAN dx 32 años, TEC HSJ dx 37 año y Cetro de Cáncer ABC

dx 45 años). Esto nos permitió analizar posibles diferencias en la proporción de ancestría nativa-americana entre pacientes con patrones mutacionales similares.

Entre las observaciones más importantes de nuestro estudio se encuentran las siguientes:

La frecuencia mutacional en nuestro estudio fue de 16.6% (39/235), lo cual es consistente con estudios publicados previamente en población hispana viviendo en Estados Unidos, así como en distintos países en América Latina en mujeres con criterios de SHCMO (Hall et al., 2009; Bayraktar et al., 2015; Fejerman et al., 2010; Fernández-Lopez et al., 2019a; Gallardo-Alvarado et al., 2019; Herzog et al., 2021; Maxwell et al., 2016; Villarreal-Garza et al., 2015; Weitzel et al., 2019). **Por institución, el hospital Tec Salud de Monterrey tiene una mayor frecuencia mutacional con 22.1% (21/95), seguido del Centro de Cáncer ABC Ciudad de México 16% (8/50) y el Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México 10% (9/90).**

El gen *BRCA1* fue el más frecuentemente mutado (18/39) 46.2%, seguido de *BRCA2* (10/39) 25.6%. Este hallazgo es interesante ya que de acuerdo a la base de datos ExAC, el gen más frecuente mutado en distintas poblaciones de Latinoamérica, incluyendo estudios previos en la población mexicana es *BRCA2*. A este respecto, es importante señalar la alta frecuencia de variantes de significado incierto identificadas en el gen *BRCA2*, VUS (5/16) 31.3%. Es posible entonces que algunas de las VUS identificadas sean en efecto, patogénicas. En este sentido, nuestro estudio puede ayudar a establecer su posible patogenicidad estudiando la segregación de las distintas VUS, en las familias donde estas variantes fueron identificadas.

Consistente con resultados previos, el gen *CHEK2* fue el gen con mayor frecuencia de mutaciones después de los genes *BRCA1* y *BRCA2* (Weitzel et al., 2019). La frecuencia en esta muestra es de 10.25% (4/39) para mutaciones el gen *CHEK2* (NM_007194.4(*CHEK2*):c.1283C>T (p.Ser428Phe) y NM_007194.4(*CHEK2*):c.349A>G (p.Arg117Gly).

Comparando con el estudio de Weitzel y Chavarri-Guerra et al. 2019 no se identificó la mutación c.707T>C:p.L236P que en población latina en EUA presentó una frecuencia superior a otras variantes 70% (14/20). En nuestra muestra se encontraron 2 pacientes en el Centro ABC y 2 en Tec Salud respectivamente, con mutaciones distintas a la p.L236P. En el INCAN no se identificaron pacientes con mutaciones en este gen. De acuerdo con Chavarri-Guerra et al., (2019) en población latina, las mutaciones en *CHEK2* generalmente aparecen en edades más avanzadas, sin embargo, en nuestra la mediana de edad en los 4 pacientes fue de 39.5, con pacientes entre 27 a 59 años.

Identificamos también mutaciones en el gen *TP53* en 2 pacientes y en el gen *PALB2* mutaciones en dos pacientes. Los genes *CHEK2* y *PALB2* son considerados genes de penetrancia baja. Un caso particularmente interesante fue una paciente con mutaciones en los genes *CHEK2* (c.470T>C (p.Ile157Thr) catalogado en Clinvar como posiblemente patogénica) y *PALB2* (c.2258G>A (p.Arg753Gln, catalogado en Clinvar también como posiblemente patogénica), representando un caso doble heterocigoto. Esta paciente presentó un primer tumor de ca. de mama a la edad de 43 años, del subtipo luminal A, que de manera interesante tiene un alto porcentaje de ancestría global europea (94%). La paciente refiere además el antecedente de 4 familiares de primer grado con cáncer. En esta familia el estudio de segregación de ambas mutaciones nos permitiría entender aspectos interesantes sobre la penetrancia de cada mutación y el riesgo asociado de cada una de

las mutaciones para presentar distintas neoplasias cuando una o ambas mutaciones están presentes.

Consistente con lo observado en estudios previos, encontramos que los pacientes con mutaciones en genes de penetrancia alta presentan una menor edad de diagnóstico (Fig.6) (Daly et al., 2023).

Cuando analizamos la proporción de ancestría nativa americana en los pacientes con mutaciones en genes de alta o baja penetrancia observamos que aquellos con mutaciones en genes altamente penetrantes tienen un porcentaje de ancestría nativa-americana mayor (Fig.7), 47.5% (31.1%-60.2%) a diferencia de aquellos con una mutación en genes de baja penetrancia, 31.2% (5.1%-64.5%) (p -value=0.58). Aunque el valor de p no fué estadísticamente significativo, esto puede deberse al tamaño de la muestra. Se determinó el número de muestras referidas para comparar las medianas de dos poblaciones, estableciendo un nivel de significancia de ≤ 0.05 y un poder β de 80%. Donde para la comparación de la figura 6 es necesario 100 muestras por grupo comparado y la figura 7, de 77 muestras.

Cuando analizamos a los pacientes con ancestría europea (> 50% ancestría nativa) ($n=18$) observamos que los pacientes con mutaciones en genes penetrantes tienen una edad de diagnóstico mayor que la observada para pacientes con alta ancestría nativo americana portadores de genes de alta penetrancia ($n=10$), mediana de 32.5 años [27.8-36] vs 37 años [30.8-47], comparación $p=0.12$ $W=122.5$. Resulta particularmente interesante que los individuos con mayor ancestría nativo-americana con mutaciones en genes de alta penetrancia, muestran una edad de diagnóstico menor comparados con los individuos con mayor ancestría europea con mutaciones en genes de alta penetrancia (32.5 vs 37 años). Por lo tanto, proponemos que la ancestría nativo-americana pudiera jugar un papel importante en la presencia de la enfermedad a una edad más temprana en mujeres con criterios de SHCMO.

Respecto al subtipo triple negativo, 13 pacientes con mutaciones en el gen *BRCA1* y 2 en *BRCA2* presentaron este subtipo, lo que se traduce en 15/39 pacientes portadores de mutaciones en los genes *BRCA* desarrollan tumores triple negativos (38.4%). Al comparar la proporción de ancestría nativa americana entre pacientes positivos para mutaciones con tumores con subtipo triple negativo vs otros subtipos tumorales, observamos que los pacientes que desarrollan subtipo TN tienen una mayor proporción de ancestría nativo americana ($p=0.0583$, $W=98$). Se determinó el número de muestras referidas para comparar las medianas de dos poblaciones, estableciendo un nivel de significancia de ≤ 0.05 y un poder β de 80%. Requerimos de 95 pacientes triple negativo positivos en mutación vs 95 pacientes con otro tipo tumoral, de igual forma positivos en mutación.

Por último, en la figura 13 se presentan todos los pacientes sin estratificar por la presencia de mutaciones y no se encuentran diferencias significativas ($p=0.38$, $W=1655$). De igual forma se determinó el número de pacientes, donde es necesario 63 de cada grupo para alcanzar la significancia.

12. LIMITACIONES

La limitación más importante del presente trabajo lo constituye el número de pacientes incluidas en el estudio. Considerando que incluimos mujeres que cumplían con los criterios para la búsqueda de mutaciones en los genes asociados al SCHMO y que todas las pacientes contaban con los resultados moleculares sobre la búsqueda de los 3 principales genes de alta penetrancia (*BRCA1*, *BRCA2* y *TP53*), relacionados a la presencia de este síndrome, nuestros resultados muestran tendencias con valores *p* marginales, para distintas observaciones que sin duda, es necesario confirmar con un grupo más extenso de pacientes. Sin embargo haciendo el cálculo de muestra necesaria, en general se necesitan un máximo de 100 pacientes positivos en mutaciones del SCHMO con un subtipo triple negativo vs otro subtipo, para alcanzar significancia en las comparaciones de medianas llevadas a cabo en el presente trabajo, lo que nos permite alcanzar este número con diferentes alianzas nacionales.

A pesar de esta limitación nuestro estudio sugiere que la ancestría nativo-americana juega un papel en la presentación del tumor a una edad más temprana en mujeres con SCHMO y que un mayor porcentaje de ancestría-nativo-americana se relaciona también con un riesgo mayor de presentar tumores más agresivos (*e.g.* subtipo triple negativo). De ahí la importancia de implementar el escrutinio de mutaciones en pacientes mexicanas con criterios de SCHMO así como el estudio familiar en estos casos, con el propósito de identificar portadores en riesgo. Con respecto a la hipótesis encontramos que hay diferencias en la edad de diagnóstico y el subtipo tumoral, con las características de que aquellas mujeres con mayor ancestría nativo americana, presentan la enfermedad en una edad más temprana y subtipos tumorales más severos.

13. REFERENCIAS

- American Cancer Society. (2019). *Breast Cancer Facts & Figures 2019-2020*.
- Arceo-Martínez, M. T., López-Meza, J. E., Ochoa-Zarzosa, A., & Palomera-Sanchez, Z. (2021). Estado actual del cáncer de mama en México: principales tipos y factores de riesgo. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 20(3). <https://doi.org/10.24875/j.gamo.21000134>
- Arnold, M., Morgan, E., Rungay, H., Mafra, A., Singh, D., Laversanne, M., Vignat, J., Gralow, J. R., Cardoso, F., Siesling, S., & Soerjomataram, I. (2022). Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *The Breast*, 66, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2022.08.010>
- Bayraktar, S., Jackson, M., Gutierrez-Barrera, A. M., Liu, D., Meric-Bernstam, F., Brandt, A., Woodson, A., Litton, J., Lu, K. H., Valero, V., & Arun, B. K. (2015). Genotype-phenotype correlations by ethnicity and mutation location in *brca* mutation carriers. *Breast Journal*, 21(3), 260–267. <https://doi.org/10.1111/tbj.12392>

- Branda, N., Aguirre, Ma. V., Todaro, J. S., & Stoyanoff, T. (2014). *Genética del Cáncer: Protooncogenes y Genes Supresores de Tumores* .
- Bryc, K., Velez, C., Karafet, T., Moreno-Estrada, A., Reynolds, A., Auton, A., Hammer, M., Bustamante, C. D., & Ostrer, H. (2010). Genome-wide patterns of population structure and admixture among Hispanic/Latino populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(SUPPL. 2), 8954–8961. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914618107>
- Chavarri-Guerra, Y., Hendricks, C. B., Brown, S., Marcum, C., Hander, M., Segota, Z. E., Hake, C., Sand, S., Slavin, T. P., Hurria, A., Soto-Perez-de-Celis, E., Nehoray, B., Blankstein, K. B., Blazer, K. R., & Weitzel, J. N. (2019). The Burden of Breast Cancer Predisposition Variants Across The Age Spectrum Among 10 000 Patients. *Journal of the American Geriatrics Society*, *67*(5), 884–888. <https://doi.org/10.1111/jgs.15937>
- Chernoff, J. (2021). The two-hit theory hits 50. *Molecular Biology of the Cell*, *32*(22), rt1. <https://doi.org/10.1091/mbc.E21-08-0407>
- Cock-Rada, A. M., Ossa, C. A., Garcia, H. I., & Gomez, L. R. (2018). A multi-gene panel study in hereditary breast and ovarian cancer in Colombia. *Familial Cancer*, *17*(1), 23–30. <https://doi.org/10.1007/s10689-017-0004-z>
- Cuevas, S. A. R., & Capurso García, M. (2006). *medigraphic.com epidemiología del cáncer de mama Artículo de revisión* (Vol. 74). www.revistasmedicasmexicanas.com.mx
- Daly, M. B., Rosenthal, E., Cummings, S., Bernhisel, R., Kidd, J., Hughes, E., Gutin, A., Meek, S., Slavin, T. P., & Kurian, A. W. (2023). The association between age at breast cancer diagnosis and prevalence of pathogenic variants. *Breast Cancer Research and Treatment*. <https://doi.org/10.1007/s10549-023-06946-8>
- Estrada, K., Aukrust, I., Bjørkhaug, L., Burt, N. P., Mercader, J. M., García-Ortiz, H., Huerta-Chagoya, A., Moreno-Macías, H., Walford, G., Flannick, J., Williams, A. L., Gómez-Vázquez, M. J., Fernandez-Lopez, J. C., Martínez-Hernández, A., Jiménez-Morales, S., Centeno-Cruz, F., Mendoza-Caamal, E., Revilla-Monsalve, C., Islas-Andrade, S., ... MacArthur, D. G. (2014). Association of a low-frequency variant in HNF1A with type 2 diabetes in a latino population the SIGMA Type 2 Diabetes Consortium. *JAMA*, *311*(22), 2305–2314. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.6511>
- Fejerman, L., Romieu, I., John, E. M., Lazcano-Ponce, E., Huntsman, S., Beckman, K. B., Pérez-Stable, E. J., Burchard, E. G., Ziv, E., & Torres-Mejía, G. (2010). European ancestry is positively associated with breast cancer risk in Mexican women. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, *19*(4), 1074–1082. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-09-1193>
- Fernandes, G. C., Michelli, R. A. D., Galvão, H. C. R., Paula, A. E., Pereira, R., Andrade, C. E., Felício, P. S., Souza, C. P., Mendes, D. R. P., Volc, S., Berardinelli, G. N., Grasel, R. S., Sabato, C. S., Viana, D. v., Machado, J. C., Costa, J. L., Mauad, E. C., Scapulatempo-Neto, C., Arun, B., ... Palmero, E. I. (2016). Prevalence of *BRCA1/BRCA2* mutations in a Brazilian population sample at-risk for hereditary breast cancer and characterization of its genetic ancestry. *Oncotarget*, *7*(49), 80465–80481. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12610>

- Fernández-Lopez, J. C., Romero-Córdoba, S., Rebollar-Vega, R., Alfaro-Ruiz, L. A., Jiménez-Morales, S., Beltrán-Anaya, F., Arellano-Llamas, R., Cedro-Tanda, A., Rios-Romero, M., Ramirez-Florencio, M., Bautista-Piña, V., Dominguez-Reyes, C., Villegas-Carlos, F., Tenorio-Torres, A., & Hidalgo-Miranda, A. (2019a). Population and breast cancer patients' analysis reveals the diversity of genomic variation of the BRCA genes in the Mexican population. *Human Genomics*, *13*(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40246-018-0188-9>
- Fernández-Lopez, J. C., Romero-Córdoba, S., Rebollar-Vega, R., Alfaro-Ruiz, L. A., Jiménez-Morales, S., Beltrán-Anaya, F., Arellano-Llamas, R., Cedro-Tanda, A., Rios-Romero, M., Ramirez-Florencio, M., Bautista-Piña, V., Dominguez-Reyes, C., Villegas-Carlos, F., Tenorio-Torres, A., & Hidalgo-Miranda, A. (2019b). Population and breast cancer patients' analysis reveals the diversity of genomic variation of the BRCA genes in the Mexican population. *Human Genomics*, *13*(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40246-018-0188-9>
- Foot, J. R., Lopez-Acevedo, M., Buchanan, A. H., Secord, A. A., Lee, P. S., Fountain, C., Myers, E. R., Cohn, D. E., Reed, S. D., & Havrilesky, L. J. (2017). Cost comparison of genetic testing strategies in women with epithelial ovarian cancer. *Journal of Oncology Practice*, *13*(2), e120–e129. <https://doi.org/10.1200/JOP.2016.011866>
- Gallardo-Alvarado, L. N., Tusié-Luna, M. T., Tussíé-Luna, M. I., Díaz-Chávez, J., Segura, Y. X., Bargallo-Rocha, E., Villarreal, C., Herrera-Montalvo, L. A., Herrera-Medina, E. M., & Cantu-De Leon, D. F. (2019). Prevalence of germline mutations in the TP53 gene in patients with early-onset breast cancer in the Mexican population. *BMC Cancer*, *19*(1). <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5312-2>
- Hall, M. J., Reid, J. E., Burbidge, L. A., Pruss, D., Deffenbaugh, A. M., Frye, C., Wenstrup, R. J., Ward, B. E., Scholl, T. A., & Noll, W. W. (2009). BRCA1 and BRCA2 mutations in women of different ethnicities undergoing testing for hereditary breast-ovarian cancer. *Cancer*, *115*(10), 2222–2233. <https://doi.org/10.1002/cncr.24200>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. In *Cell* (Vol. 144, Issue 5, pp. 646–674). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Herzog, J. S., Chavarri-Guerra, Y., Castillo, D., Abugattas, J., Villarreal-Garza, C., Sand, S., Clague-Dehart, J., Alvarez-Gómez, R. M., Wegman-Ostrosky, T., Mohar, A., Mora, P., Del Toro-Valero, A., Daneri-Navarro, A., Rodriguez, Y., Cruz-Correa, M., Ashton-Prolla, P., Alemar, B., Mejia, R., Gallardo, L., ... Weitzel, J. N. (2021). Genetic epidemiology of BRCA1- and BRCA2-associated cancer across Latin America. *Npj Breast Cancer*, *7*(1). <https://doi.org/10.1038/s41523-021-00317-6>
- John, E. M., Miron, A., Gong, G., Phipps, A. I., Felberg, A., Li, F. P., West, D. W., & Whittemore, A. S. (2007). *Prevalence of Pathogenic BRCA1 Mutation Carriers in 5 US Racial/Ethnic Groups*. <http://jama.jamanetwork.com/>
- Justo, N., Wilking, N., Jönsson, B., Luciani, S., & Cazap, E. (2013). A Review of Breast Cancer Care and Outcomes in Latin America. *The Oncologist*, *18*(3), 248–256. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2012-0373>
- Kenemans, P., Verstraeten, R. A., & Verheijen, R. H. M. (2004). Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. *Maturitas*, *49*(1), 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2004.06.005>

- Lara-Medina, F., Pérez-Sánchez, V., Saavedra-Pérez, D., Blake-Cerda, M., Arce, C., Motola-Kuba, D., Villarreal-Garza, C., González-Angulo, A. M., Bargalló, E., Aguilar, J. L., Mohar, A., & Arrieta, Ó. (2011). Triple-negative breast cancer in Hispanic patients: High prevalence, poor prognosis, and association with menopausal status, body mass index, and parity. *Cancer*, *117*(16), 3658–3669. <https://doi.org/10.1002/cncr.25961>
- Martin, A. M., Kanetsky, P. A., Amirimani, B., Colligon, T. A., Athanasiadis, G., Shih, H. A., Gerrero, M. R., Calzone, K., Rebbeck, T. R., & Weber, B. L. (2003). Germline TP53 mutations in breast cancer families with multiple primary cancers: is TP53 a modifier of BRCA1? In *Journal of medical genetics* (Vol. 40, Issue 4). <https://doi.org/10.1136/jmg.40.4.e34>
- Masuda, H., Zhang, D., Bartholomeusz, C., Doihara, H., Hortobagyi, G. N., & Ueno, N. T. (2012). Role of epidermal growth factor receptor in breast cancer. In *Breast Cancer Research and Treatment* (Vol. 136, Issue 2, pp. 331–345). <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2289-9>
- Maxwell, K. N., Domchek, S. M., Nathanson, K. L., & Robson, M. E. (2016). Population frequency of germline BRCA1/2 mutations. In *Journal of Clinical Oncology* (Vol. 34, Issue 34, pp. 4183–4185). American Society of Clinical Oncology. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.67.0554>
- Miguel-Soca, P. E., Argüelles González, I., & Peña González, M. (n.d.). *Factores genéticos en la carcinogénesis mamaria Genetic factors for breast carcinogenesis*. 23–35. http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_
- Neuhausen, S. L., Ozcelik, H., Southey, M. C., John, E. M., Godwin, A. K., Chung, W., Iriondo-Perez, J., Miron, A., Santella, R. M., Whittemore, A., Andrulis, I. L., Buys, S. S., Daly, M. B., Hopper, J. L., Seminara, D., Senie, R. T., & Terry, M. B. (2009). BRCA1 and BRCA2 mutation carriers in the Breast Cancer Family Registry: An open resource for collaborative research. *Breast Cancer Research and Treatment*, *116*(2), 379–386. <https://doi.org/10.1007/s10549-008-0153-8>
- Oliver, J., Quezada Urban, R., Franco Cortés, C. A., Díaz Velásquez, C. E., Montealegre Paez, A. L., Pacheco-Orozco, R. A., Castro Rojas, C., García-Robles, R., López Rivera, J. J., Gaitán Chaparro, S., Gómez, A. M., Suarez Obando, F., Giraldo, G., Maya, M. I., Hurtado-Villa, P., Sanchez, A. I., Serrano, N., Orduz Galvis, A. I., Aruachan, S., ... Vaca Paniagua, F. (2019). Latin American Study of Hereditary Breast and Ovarian Cancer LACAM: A Genomic Epidemiology Approach. *Frontiers in Oncology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01429>
- Osborne, C., Wilson, P., & Tripathy, D. (2004). Oncogenes and Tumor Suppressor Genes in Breast Cancer: Potential Diagnostic and Therapeutic Applications. *The Oncologist*, *9*(4), 361–377. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.9-4-361>
- Polyak, K. (2007). Breast cancer: Origins and evolution. In *Journal of Clinical Investigation* (Vol. 117, Issue 11, pp. 3155–3163). <https://doi.org/10.1172/JCI33295>
- Rosen, E. M., Fan, S., Pestell, R. G., & Goldberg, I. D. (2003). BRCA1 gene in breast cancer. In *Journal of Cellular Physiology* (Vol. 196, Issue 1, pp. 19–41). <https://doi.org/10.1002/jcp.10257>
- Roy, R., Chun, J., & Powell, S. N. (2012). BRCA1 and BRCA2: Different roles in a common pathway of genome protection. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 12, Issue 1, pp. 68–78). <https://doi.org/10.1038/nrc3181>

- SEER. (2022). *Cancer Stat Facts: Female Breast Cancer*.
<https://Seer.Cancer.Gov/Statfacts/Html/Breast.Html>.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *71*(3), 209–249.
<https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Urban, R. Q., Velásquez, C. E. D., Gitler, R., Castillo, M. P. R., Toporek, M. S., Morales, A. F., García, O. M., Esquivel, L. G., Mejía, G. T., Dean, M., Enciso, I. D., López, H. O. D., León, F. R., Jan, V., Barrientos, V. H. G., Flores, P. R., Silva, P. K. E., Cruz, J. H. S., Gregorio, H. M., ... Paniagua, F. V. (2018). Comprehensive analysis of germline variants in mexican patients with hereditary breast and ovarian cancer susceptibility. *Cancers*, *10*(10). <https://doi.org/10.3390/cancers10100361>
- Vicente, R., Alpuim Costa, D., Vitorino, M., Mendes, A. D., Santos, C., & Fontes-Sousa, M. (2022). Mutation Patterns in Portuguese Families with Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome. In *Cancers* (Vol. 14, Issue 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers14194717>
- Villareal-Garza, C. A. C. P. A. L.-G. H. (2014). Cáncer de mama en mujeres jóvenes en México: necesidades y retos clínicos. *Revista de Investigación Clínica*, *66*(6), 547–558.
- Villarreal-Garza, C., Alvarez-Gómez, R. M., Pérez-Plasencia, C., Herrera, L. A., Herzog, J., Castillo, D., Mohar, A., Castro, C., Gallardo, L. N., Gallardo, D., Santibáñez, M., Blazer, K. R., & 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>
- Weitzel, J. N., Clague, J., Martir-Negron, A., Ogaz, R., Herzog, J., Ricker, C., Jungbluth, C., Cina, C., Duncan, P., Unzeitig, G., Saldivar, J. S., Beattie, M., Feldman, N., Sand, S., Port, D., Barragan, D. I., John, E. M., Neuhausen, S. L., & Larson, G. P. (2013a). Prevalence and type of BRCA mutations in Hispanics undergoing genetic cancer risk assessment in the southwestern United States: A report from the clinical cancer genetics community research network. *Journal of Clinical Oncology*, *31*(2), 210–216. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.41.0027>
- Weitzel, J. N., Clague, J., Martir-Negron, A., Ogaz, R., Herzog, J., Ricker, C., Jungbluth, C., Cina, C., Duncan, P., Unzeitig, G., Saldivar, J. S., Beattie, M., Feldman, N., Sand, S., Port, D., Barragan, D. I., John, E. M., Neuhausen, S. L., & Larson, G. P. (2013b). Prevalence and type of BRCA mutations in Hispanics undergoing genetic cancer risk assessment in the southwestern United States: A report from the clinical cancer genetics community research network. *Journal of Clinical Oncology*, *31*(2), 210–216. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.41.0027>
- Weitzel, J. N., Neuhausen, S. L., Adamson, A., Tao, S., Ricker, C., Maoz, A., Rosenblatt, M., Nehoray, B., Sand, S., Steele, L., Unzeitig, G., Feldman, N., Blanco, A. M., Hu, D., Huntsman, S., Castillo, D., Haiman, C., Slavin, T., & Ziv, E. (2019). Pathogenic and likely pathogenic variants in PALB2, CHEK2, and other known breast cancer susceptibility genes among 1054 BRCA-negative Hispanics with breast cancer. *Cancer*, *125*(16), 2829–2836. <https://doi.org/10.1002/cncr.32083>
- Xu, J., Chen, Y., & Olopade, O. I. (2010). MYC and Breast Cancer. *Genes & Cancer*, *1*(6), 629–640.
<https://doi.org/10.1177/1947601910378691>

13. ANEXOS

Anexo 1.

```
### PCA computation using a panel of 32 AIMs (Huerta-Chagoya et al, 2018)
## Adapted from: Jorsboe et al, Bioinformatics, 2017:33(19):3148-3150.
setwd("/Users/horte_27/Dropbox/Ancestria_32_aims")

# Read parental genotypes
parental.aims<-read.table(file="Additional_Parentals_AIMs.txt", header=T)

# Read your genotypes

# You must previously create a dataframe where rows are IIDs and cols are SNPs. In col=POP,
identify your samples (e.g. MEX).

# Genotypes are coded as 0,1,2. Reference allele must be the same of parental file. Headers must
be equal. See example file.

#mymestizos.aims <- read.table(header=TRUE, text='IID POP   rs3843249_G   rs9659240_T
rs3755095_T   rs3827760_A   rs10510511_G   rs12495357_G   rs67929453_A
rs10016699_C   rs4833808_T   rs35407_G      rs12521018_C   rs12529753_T
rs9406333_T   rs1858892_A   rs61097563_C   rs12549875_T   rs10116041_A
rs57432666_G   rs734241_G    rs1533224_A    rs11612312_T   rs1409264_C
rs1243370_T   rs4904274_A   rs1426654_A    rs10794640_G   rs59021505_T
rs11657785_T   rs7259453_T   rs1418029_G    rs9975044_C    rs743832

#           MEX1    MEX    0    1    1    2    2    2    1    2    2
#           2     2     2     2     0     0     2     2     2     2     1     2
#           1     2     0     2     2     2     1     2     2     2     0

#           MEX2    MEX    0    0    1    0    0    0    0    0    0    0
#           0     0     0     0     0     2     0     0     1     0     1     0
#           0     1     2     0     0     0     1     0     1     0     2

mymestizos.aims<-read.table(file="Paloma_esteatois.csv",sep="," , header=TRUE

# Merge genotypes
aims <- rbind(parental.aims, mymestizos.aims)

iid <- aims[c(1:2)]; aims <- aims[c(1,3:34)]
```

```

aims <- setNames(data.frame(t(aims[,-1])), aims[,1])

# Compute PCs
snp<-nrow(aims)
freq <- rowMeans(aims,na.rm=T)/2 #get allele frequency
M <- (aims-freq*2)/sqrt(freq*(1-freq)) #normalize the genotype matrix
M[is.na(M)]<-0
X<-t(M)%*%as.matrix(M) #get the (almost) covariance matrix
X<-X/(sum(diag(X))/(snp-1))
E<-eigen(X)

# Extract the top 2 PCs
# Change the interval in case you want to extract more than the top 2 PCs.
# Now, you can use them as covariates in your association analyses.
E.pcs <- data.frame(E$vector[,1:2]); names(E.pcs) <- c("PC1", "PC2")
E.pcs <- cbind(iid, E.pcs)
write.table(E.pcs, file="myPCs_Paloma_esteatosis_543.txt", sep=" ", quote=F, row.names=F)

# Plot
library(ggplot2)
ggplot(E.pcs, aes(x=PC1, y=PC2, color=POP, shape=POP)) +
  geom_point()+
  scale_color_manual(values=c("#999999", "#E69F00", "#56B4E9")) +
  theme_bw()

```