

Laboratorio de Especialidades Bioquímicas

Lamadrid 405 (8000) - Bahía Blanca - Tel./Fax. 0291-4510427 - 4517826

info@leblaboratorio.com.ar - administracion@leblaboratorio.com.ar

www.leblaboratorio.com.ar

Paciente: RAMIREZ, NELIDA
Solicitado por: Dr. KOWALYSZY

Protocolo: 94284
Fecha recepción de muestra: 07-01-2020

INFORME DE BIOLOGIA MOLECULAR

Estudio solicitado: Secuenciación completa de los genes *BRCA1* y *BRCA2* por Next Generation Sequencing (NGS) y estudio de grandes rearrreglos de los genes *BRCA1* y *BRCA2* por MLPA

Tipo de muestra: Sangre periférica.

Resultado: No se detectan variantes patogénicas en los genes *BRCA1* y *BRCA2*.

Interpretación:

Con la metodología utilizada, no se detecta variante descrita como patogénica a la fecha en la muestra analizada. Las variantes identificadas han sido benignas o probablemente benignas (Anexo 1).

No se detectan rearrreglos genómicos en los genes *BRCA1*, *BRCA2* y regiones de *CHEK2*. No se detecta la variante 1100delC del gen *CHEK2*.

La ausencia de variantes patogénicas en los genes estudiados no descarta la predisposición genética a la enfermedad. Tampoco excluye la presencia de variantes patogénicas en otros genes potencialmente asociadas con esta patología.

Notas:

- El resultado de este estudio deberá ser siempre interpretado en el contexto de datos clínicos y familiares.
- Puede ser beneficioso para esta persona y sus familiares un asesoramiento genético-clínico para discutir las implicancias directas e indirectas de este resultado.
- Se conoce que los genes designados como *BRCA1* y *BRCA2* están asociados con el cáncer de mama y ovario hereditarios. Las variantes patogénicas en *BRCA1* se asocian a un alto riesgo de carcinoma de mama y ovario (60-85%). Jama:26, 997; 1997. Las variantes patogénicas en *BRCA2* se asocian a un incremento de riesgo de contraer cáncer de mama y menor riesgo de carcinoma de ovario.
- Este test detecta las mutaciones patogénicas como así también las variantes no patogénicas y las de significado incierto.
- Este resultado no descarta la presencia de alguna mutación en otra región no analizada de los genes *BRCA1* y *BRCA2* o en otros genes que no han sido estudiados.
- La proporción de variantes patogénicas debido a grandes rearrreglos genómicos es de aproximadamente 10% tanto para *BRCA1* como para *BRCA2*

Laboratorio de Especialidades Bioquímicas

Lamadrid 405 (8000) - Bahía Blanca - Tel./Fax. 0291-4510427 - 4517826

info@leblaboratorio.com.ar - administracion@leblaboratorio.com.ar

www.leblaboratorio.com.ar

Paciente: RAMIREZ, NELIDA
Solicitado por: Dr. KOWALYSZY

Protocolo: 94284
Fecha recepción de muestra: 07-01-2020

Cáncer de mama y ovario hereditario asociado a genes BRCA1 y BRCA2

El síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario asociado a los genes BRCA1 y BRCA2 (HBOC) se caracteriza por un mayor riesgo de cáncer de mama femenino y masculino, cáncer de ovario (incluye cáncer de las trompas de Falopio y del peritoneal primario) y, en menor medida, otros como cáncer de próstata, cáncer de páncreas y melanoma, principalmente en individuos con una variante patogénica en el gen BRCA2. Los riesgos exactos de contraer cáncer difieren ligeramente dependiendo de si el HBOC es causado por una variante patogénica en BRCA1 o BRCA2.

Una vez que se ha identificado una variante patogénica en la línea germinal BRCA1 o BRCA2 que predispone al cáncer en una familia, es posible identificar a aquellos miembros de la familia que también portan la variante patogénica familiar, y, por lo tanto, necesitan una mayor vigilancia e intervención temprana cuando se identifica un cáncer. Las variantes patogénicas en la línea germinal en BRCA1 y BRCA2 se heredan de manera autosómica dominante. La gran mayoría de los individuos con una variante patogénica en BRCA1 o BRCA2 la han heredado de uno de sus padres. Sin embargo, debido a la penetrancia incompleta, puede variar la edad del desarrollo del cáncer, la reducción del riesgo de cáncer resultante de la cirugía profiláctica o la muerte prematura; no todas las personas con una variante patogénica en BRCA1 o BRCA2 tienen un progenitor afectado con cáncer.

Los familiares de primer grado de un individuo con una variante patogénica en la línea germinal BRCA1 o BRCA2 tienen una probabilidad del 50% de ser portadores. La descendencia de un individuo portador tiene un 50% de probabilidad de heredar la variante. Para estos casos se sugiere seguimiento y evaluación en el contexto clínico/familiar. Las pruebas prenatales son posibles para embarazos con mayor riesgo si se conoce la variante familiar que predispone al cáncer; sin embargo, las solicitudes de diagnóstico prenatal de enfermedades de aparición en adultos son poco frecuentes y requieren un asesoramiento genético cuidadoso.

Para más información: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1247/>

Metodología NGS:

Extracción y purificación del ADN genómico a partir de la muestra remitida utilizando DNeasy® Blood & Tissue Kit de Qiagen®. Amplificación de las regiones de interés mediante un Community Panel para BRCA1 y BRCA2 constituido por un pool de primers con tecnología Ampliseq™ diseñado y validado por expertos en el área para amplificar los exones y bordes exón-intrón de los genes BRCA1 y BRCA2. La utilización de este pool de primers permite amplificar un 100% de la secuencia codificante de los genes BRCA1 y BRCA2 y regiones intrónicas flanqueantes. Secuenciación de las regiones amplificadas mediante Post-Light™ Ion Semiconductor Sequencing (Next Generation Sequencing), en la plataforma Personal Genome Machine® System. La cobertura mínima admitida es de 30X por amplicón secuenciado. Identificación de variantes con respecto al genoma humano de referencia hg19 (Assembly GRCh37) utilizando el software Variant Caller de Ion Torrent y software SophiaGenetics. Se utiliza el Software Ingenuity Variant Analysis™ para anotar las variantes encontradas y para el filtrado e interpretación de la significancia clínica de las mismas. Búsqueda de las variantes detectadas en bases de datos internacionales, entre ellas HGMD, BIC, LOVD 3.0, UMD y bibliografía disponible para determinar su significancia clínica. Las variantes se clasifican de acuerdo con las guías del Colegio Americano de Genética Médica y Genómica (ACMG). Las categorías de clasificación son: patogénicas, probablemente patogénicas, variantes de significado incierto, variantes probablemente benignas y benignas. Variantes de significado incierto, variantes probablemente benignas y variantes benignas se reportan en observaciones, solo en caso que sean exónicas o intrónicas cercanas al exón (distancia menor o igual a 13 pares de bases). Sobre las regiones amplificadas el análisis permite detectar los cambios nucleotídicos simples, así como INS/DEL de hasta aproximadamente 15 pb. Confirmación por secuenciación Sanger en caso de encontrarse una variante patogénica.

Metodología MLPA:

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) utilizando los kits: P002 para BRCA1 y P045 para BRCA2/CHEK2 de MRC-Holland®. Análisis por secuenciador automático de los fragmentos obtenidos. Estudio de los rearrreglos genómicos, duplicaciones y deleciones, en las regiones 5'UTR y codificante del gen BRCA1, todos los exones de BRCA2, región promotora y exón 10 del gen CHEK2. El análisis se realiza empleando el software Coffalyser (información del mismo en Coffalyser.Net). En el mismo ensayo es posible evaluar la presencia de la mutación 1100delC del gen CHEK2. En caso de detectarse un gran rearrreglo se realiza confirmación utilizando los kits P087C1 para BRCA1 o P077A3 para BRCA2 según corresponda.

Secuencias de referencia BRCA1: NM_007294.3 y BRCA2: NM_000059.3

En caso de un resultado positivo por NGS (presencia de mutación patogénica) no se realizará análisis de grandes rearrreglos.

El porcentaje de variantes detectadas utilizando las dos técnicas es mayor al 98%.

Limitaciones técnicas:

Diferentes situaciones pueden resultar en errores en la detección de variantes genéticas, entre ellas: muestras contaminadas previo al arribo a nuestro laboratorio, presencia de mosaicismos, presencia de variantes genéticas que producen "allelic drop-outs", estudios realizados sobre ADN extraído a partir de tejidos incluidos en parafina, presencia de pseudogenes (regiones con homología), identificación incorrecta de variantes en zonas de homopolímeros o con alto contenido de GC.

Comentarios:

-Es altamente recomendado que la interpretación de este informe se realice con el asesoramiento de un médico familiarizado con el fenotipo del paciente y las causas genéticas que lo producen. Los resultados de este estudio son complementarios y deben ser interpretados en el contexto clínico de cada paciente.

-La ausencia de variantes patogénicas en los genes estudiados no descarta la predisposición genética a la enfermedad. Tampoco excluye la presencia de variantes patogénicas en otros genes potencialmente asociados a esta patología.

Laboratorio de Especialidades Bioquímicas

Lamadrid 405 (8000) - Bahía Blanca - Tel./Fax. 0291-4510427 - 4517826

info@leblaboratorio.com.ar - administracion@leblaboratorio.com.ar

www.leblaboratorio.com.ar

Paciente: RAMIREZ, NELIDA
Solicitado por: Dr. KOWALYSZY

Protocolo: 94284
Fecha recepción de muestra: 07-01-2020

Bibliografía y/o bases de datos consultadas:

<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>

<http://www.omim.org/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>

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

<http://research.nhgri.nih.gov/bic>

Anexo 1:

Cromosoma	Posición genómica	Región	Gen	Variante en el Transcrito	Variante en la proteína	Efecto	Clasificación	Zigosis
13	32890572	Región 5' UTR	BRCA2	c.-26G>A	-	-	Benigna	Heterocigota
13	32906729	Exónica	BRCA2	c.1114A>C	p.(Asn372His)	Cambio de sentido	Benigna	Heterocigota
13	32911888	Exónica	BRCA2	c.3396A>G	p.(Lys1132Lys)	Sinónima	Benigna	Heterocigota
13	32929232	Exónica	BRCA2	c.7242A>G	p.(Ser2414Ser)	Sinónima	Benigna	Heterocigota



Dra. EVANGELINA AGRIELLO
BIOQUÍMICA
M.P. 4306