



**INSTITUTO LATINOAMERICANO DE
CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
NATURALEZA (ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

**IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES GERMINATIVAS EN EL GEN BRCA1 Y
CARACTERIZACIÓN DE FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES
ONCOLÓGICAS CON SOSPECHA DE SÍNDROME DE CÁNCER DE MAMA Y
OVARIO HEREDITARIO**

DULCE MARÍA GONZÁLEZ DURÉ

Foz de Iguaçu
2021

**IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES GERMINATIVAS EN EL GEN BRCA1 Y
CARACTERIZACIÓN DE FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES ONCOLÓGICAS
CON SOSPECHA DE SÍNDROME DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO**

DULCE MARÍA GONZÁLEZ DURÉ

Trabajo de Conclusión de Curso II presentado al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de grado en Biotecnología.


Orientadora: Profa. Dra. Maria Leandra Terencio.
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Claudia Gross.

DULCE MARÍA GONZÁLEZ DURÉ

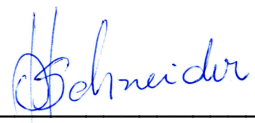
**IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES GERMINATIVAS EN EL GEN BRCA1 Y
CARACTERIZACIÓN DE FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES ONCOLÓGICAS
CON SOSPECHA DE SÍNDROME DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIO**

Trabajo de Conclusión de Curso II presentado al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de grado en Biotecnología.

BANCA EXAMINADORA


Orientadora: Profa. Dra. Maria Leandra Terencio
UNILA


Profa. Dra. Alessandra Pawelec da Silva
UNILA


Prof. Dr. Carlos Henrique Schneider
UNILA

Foz de Iguaçu, 11 de junio de 2021.

TÉRMINO DE SUMISIÓN DE TRABAJOS ACADÉMICOS

Nombre completo de la autora: Dulce María González Duré

Curso: Biotecnología

		Tipo de Documento
<input checked="" type="checkbox"/> graduación	<input type="checkbox"/> artículo	
<input type="checkbox"/> especialización	<input checked="" type="checkbox"/> trabajo de conclusión de curso	
<input type="checkbox"/> maestría	<input type="checkbox"/> monografía	
<input type="checkbox"/> doctorado	<input type="checkbox"/> disertación	
	<input type="checkbox"/> tesis	
	<input type="checkbox"/> CD/DVD – obras audiovisuales	
	<input type="checkbox"/> _____	

Título del trabajo académico: Identificación de Mutaciones Germinativas en el Gen BRCA1 y Caracterización de Factores de Riesgo en Pacientes Oncológicas con Sospecha de Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario

Nombre del orientador(a): Maria Leandra Terencio

Fecha de la Defensa: 11/06/2021

Licencia no-exclusiva de Distribución

El referido autor(a):

a) Declara que el documento entregado es su trabajo original, y que tiene derecho a otorgar los derechos contenidos en esta licencia. Declara también que la entrega del documento no infringe, hasta donde es posible saber, los derechos de cualquier otra persona o entidad.

b) Si el documento entregado contiene material del cual no posee los derechos de autor, declara que obtuvo autorización del titular de los derechos de autor para otorgar a la UNILA – Universidad Federal de la Integración Latinoamericana los derechos requeridos por esta licencia, y que ese material cuyos derechos son de terceros está claramente identificado y reconocido en el texto o contenido del documento entregado.

Si el documento entregado es basado en trabajo financiado o apoyado por otra institución que no la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, declara que cumplió cualquier obligación exigida por el respectivo contrato o acuerdo.

En la calidad de titular de los derechos del contenido mencionado, el autor autoriza a la Biblioteca Latinoamericana – BIUNILA a poner la obra a disposición, gratuitamente y de acuerdo con la licencia pública *Creative Commons Licencia 3.0 Unported*.

Foz de Iguazu, 14 de junio de 2021.



Firma del Responsable

Dedico este trabajo a mis padres, que siempre me apoyaron y creyeron en mí desde el principio de mi carrera.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero darle gracias a Dios por permitirme llegar hasta el final del curso y darme la inteligencia, sabiduría y fuerzas para hacer este trabajo.

A mis padres que me apoyaron y apoyan en todo momento de mi carrera, aunque no entiendan mucho sobre que se trata, pero con la confianza de que esta carrera es el comienzo de una larga trayectoria profesional con la cual pueda ayudar a la humanidad.

A mi orientadora, la Profa. Dra. Maria Leandra Terencio por guiarme, ayudarme en esta trayectoria y en especial por tenerme paciencia durante este trabajo. Como también quisiera agradecerle a mi co-orientadora, la Profa. Dra. Maria Claudia Gross por recibirme con tan buen ánimo en el laboratorio.

A los profesores, Dra. Alessandra Pawelec da Silva y Dr. Carlos Henrique Schneider por aceptar participar de mi banca examinadora.

A mis hermanos y amigos que siempre están ahí para apoyarme, darme fuerzas, aguantándome en mis peores y mejores días.

A cada uno de mis profesores del curso de Biotecnología que me brindaron las mejores enseñanzas durante toda mi carrera, que me incentivaron y motivaron para querer ser una profesional excelente y que hicieron que mi afinidad por la investigación en el área de la biotecnología médica aumente, con deseos de continuar en esto. En especial a mi Prof. Dr. Luis Henrique Garcia, quien fue mi orientador de iniciación científica, que me ayudó a desarrollarme como investigadora, y a partir de la cual tuve experiencias únicas en la participación del gran proyecto de Micropoluentes.

A mis colegas de facultad, en especial a James y Amanda que me ayudaron prácticamente durante toda esta trayectoria y que contribuyeron con mi crecimiento personal y profesional ya sea con su ayuda en las diferentes tareas de la universidad o brindándome su amistad.

Finalmente, quiero agradecer a la UNILA por abrirme las puertas y darme la oportunidad de estudiar en una universidad tan joven pero de excelente calidad, que siendo yo extranjera me acogió de una manera en la que se convirtió como mi segunda casa durante estos 5 años de ir y venir todos los días.

“Los genes son tan predecibles como impredecibles a la vez.”

Dulce González

GONZÁLEZ DURÉ, Dulce María. **Identificación de mutaciones germinativas en el gen BRCA1 y caracterización de factores de riesgo de pacientes oncológicas con sospecha de Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario.** 2021. 70. Trabajo de Conclusión de Curso (Graduación en Biotecnología) – Universidad Federal da Integración Latinoamericana, Foz de Iguaçu, 2021.

RESUMEN

El cáncer de mama es el cáncer más prevalente en mujeres en el mundo, siendo una de las mayores preocupaciones de la salud pública. En el Brasil, excluyendo el cáncer de piel no melanoma, el cáncer de mama también es el que más afecta a las mujeres brasileñas de todas las regiones, siendo la primera causa de muerte por cáncer en la población femenina, excepto en la región Norte del país. En particular, la ciudad de Missal presenta una incidencia elevada de padecimiento por causas oncológicas, siendo el cáncer de mama uno de ellos. Por lo tanto, el objetivo general de este trabajo fue la identificación de mutaciones germinativas, específicamente de grandes deleciones y amplificaciones conocidos también como grandes reordenamientos genómicos, en el gen BRCA1 y la caracterización de factores de riesgo de pacientes oncológicas con sospecha de Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (HBOC), de la ciudad de Missal-PR, a través del uso de la técnica de Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification. De un total de 1.187 mujeres de Missal, 35 de ellas padecían cáncer de mama. De estas 35 mujeres con cáncer de mama, 16 llenaron los criterios de selección de la National Comprehensive Cancer Network para el test genético, siendo consideradas como el subgrupo con cáncer de mama sugestivo de HBOC, mientras que las 19 mujeres restantes fueron consideradas como el subgrupo con cáncer de mama esporádico. De las 16 mujeres, 10 aceptaron participar del test genético. Se obtuvo resultados satisfactorios para 6 de las 10 mujeres, siendo que apenas una de las 6 mujeres presentó deleción en el exón 13 en el gen BRCA1. Esta baja presencia de grandes reordenamientos genómicos en el gen BRCA1 de mujeres con cáncer de mama sugestivo de HBOC, concuerda con otros estudios realizados en diferentes regiones del Brasil, que los grandes reordenamientos genómicos presentan bajo porcentaje en la población femenina brasileña con cáncer de mama. El exón 13 posee en su secuencia sitios de ligación de proteínas importantes involucradas en el control celular y reparación del ADN, por lo que la pérdida de una secuencia grande del exón 13, tiene efectos deletéreos, como comprobado en este estudio, una vez que la mujer con deleción en el exón 13, no presentó ningún factor de riesgo externo como hábito de fumar, consumo de alcohol, exceso de peso, uso anticonceptivos hormonales o terapia de reposición hormonal, sino que presentó una edad de diagnóstico de 39 años e historia familiar de cáncer de mama y de otros tipos de cánceres, sugiriendo por tanto que el cáncer de mama de esta mujer está relacionado a la mutación encontrada en el gen BRCA1, es decir, está directamente relacionado al factor hereditario.

Palabras llaves: HBOC. Gen BRCA1. Grandes reordenamientos genómicos. Exón 13. MLPA.

GONZÁLEZ DURÉ, Dulce María. **Identification of germline mutations in the BRCA1 gene and characterization of risk factors in oncological patients with suspected Hereditary Breast and Ovarian Cancer.** 2021. 70. Trabajo de Conclusión de Curso (Graduación en Biotecnología) – Universidad Federal da Integración Latinoamericana, Foz de Iguazu, 2021.

ABSTRACT

Breast cancer is the most prevalent cancer in women in the world, being one of the major public health concerns. In Brazil, excluding non-melanoma skin cancer, breast cancer is also the one that most affects Brazilian women in all regions, being the leading cause of cancer death in the female population, except in the northern region of the country. In particular, the city of Missal has a high incidence of cancer, breast cancer being one of them. Therefore, the general objective of this work was the identification of germline mutations, specifically of large deletions and amplifications also known as large genomic rearrangements in the BRCA1 gene and characterization of risk factors of oncological patients with suspected Syndrome of Breast Cancer and Hereditary Ovarian (HBOC), of the city of Missal-PR, using the technique of Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification. Of 1,187 women in Missal, 35 had breast cancer. Of these 35 women with breast cancer, 16 met the National Comprehensive Cancer Network selection criteria for genetic testing and were considered as the subgroup with breast cancer suggestive of HBOC, while the remaining 19 women were considered as the subgroup with sporadic breast cancer. Of the 16 women, 10 agreed to participate of the genetic test. Satisfactory results were obtained for 6 of the 10 women, and only one of the 6 women presented deletion in exon 13 in the BRCA1 gene. This low presence of large genomic rearrangements in the BRCA1 gene of women with breast cancer suggestive of HBOC, agrees with other studies conducted in different regions of Brazil, that large genomic rearrangements present a low percentage in the Brazilian female population with breast cancer. The exon 13 has in its sequence sites of ligation of important proteins involved in the cellular control and repair of DNA, therefore the loss of a large sequence of exon 13, has deleterious effects, as verified in this study, once the woman with the deletion in exon 13, did not present any external risk factors as smoking, alcohol consumption, excess weight, use of hormonal contraceptives or hormonal replacement therapy, however, presented a diagnostic age of 39 years and a family history of breast cancer and other types of cancers, suggesting therefore that the breast cancer of this woman is related to the mutation found in the BRCA1 gene, that is to say, it is directly related to the hereditary factor.

Key words: HBOC. BRCA1 gene. Large genomic rearrangements. Exon 13. MLPA.

GONZÁLEZ DURÉ, DULCE MARÍA. **Identificação de mutações germinativas no gene BRCA1 e caracterização de fatores de risco de pacientes oncológicas com suspeita de Síndrome de câncer de mama e ovário hereditário.** 2021. 70. Trabajo de Conclusión de Curso (Graduación en Biotecnología) – Universidad Federal da Integración Latinoamericana, Foz de Iguazu, 2021.

RESUMO

O câncer de mama é o câncer mais prevalente em mulheres no mundo, sendo uma das maiores preocupações da saúde pública. No Brasil, excluindo o câncer de pele não melanoma, o câncer de mama também é o que mais afeta as mulheres brasileiras de todas as regiões, sendo a primeira causa de morte por câncer na população feminina, exceto na região Norte do país. Em particular, a cidade de Missal apresenta uma incidência elevada de padecimento por causas oncológicas, sendo o câncer de mama um deles. Portanto, o objetivo geral deste trabalho foi a identificação de mutações germinativas, especificamente de grandes deleções e ampliações conhecidas também como grandes rearranjos genômicos, no gene BRCA1 e caracterização de fatores de risco de pacientes oncológicas com suspeita de Síndrome de Câncer de Mama e Ovário Hereditário (HBOC), da cidade de Missal-PR, através do uso da técnica de Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification. De um total de 1.187 mulheres de Missal, 35 delas sofriam de câncer de mama. Destas 35 mulheres com câncer de mama, 16 preencheram os critérios de seleção da National Comprehensive Cancer Network para o teste genético, sendo consideradas como o subgrupo com câncer de mama sugestivo de HBOC, enquanto as 19 mulheres restantes foram consideradas como o subgrupo com câncer de mama esporádico. Das 16 mulheres, 10 aceitaram participar do teste genético. Obteve-se resultados satisfatórios para 6 das 10 mulheres, sendo que apenas uma das 6 mulheres apresentou deleção no éxon 13 no gene BRCA1. Essa baixa presença de grandes rearranjos genômicos no gene BRCA1 de mulheres com câncer de mama sugestivo de HBOC, concorda com outros estudos realizados em diferentes regiões do Brasil, que os grandes rearranjos genômicos apresentam baixa porcentagem na população feminina brasileira com câncer de mama. O éxon 13 possui em sua sequência locais de ligação de proteínas importantes envolvidas no controle celular e reparo do DNA, portanto, a perda de uma sequência grande do éxon 13, tem efeitos deletérios, como comprovado neste estudo, uma vez que a mulher com deleção no éxon 13, não apresentou nenhum fator de risco externo como hábito de fumar, consumo de álcool, excesso de peso, uso anticoncepcionais hormonais ou terapia de reposição hormonal, mas sim apresentou idade de diagnóstico de 39 anos e história familiar de câncer de mama e de outros tipos de cânceres, sugerindo, portanto, que o câncer de mama desta mulher está relacionado à mutação encontrada no gene BRCA1, ou seja, está diretamente relacionado ao fator hereditário.

Palabras clave: HBOC. Gene BRCA1. Grandes rearranjos genômicos. Éxon 13. MLPA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Árbol genealógico de la esposa de Broca a lo largo de las generaciones	20
Figura 2 – Localización del gen BRCA1 en el cromosoma 17	28
Figura 3 – Resultado de la muestra de la mujer 94 generado por el software Coffalyser	45
Figura 4 – Resultado de la muestra 94 generado por el software Coffalyser para identificar deleciones y duplicaciones	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Número estimado de casos incidentes y muertes de cáncer en mujeres de todo el mundo, de todas las edades.....	20
Gráfico 2 – Número estimado de casos incidentes y muertes de cáncer en todo el mundo, para ambos sexos, de todas las edades.....	21

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 – Frecuencia de reordenamientos genómicos de BRCA1 y BRCA2 en diferentes poblaciones	25
Tabla 2 – Factores de riesgo de la población femenina de Missal	42
Tabla 3 – Comparación de factores de riesgo entre los subgrupos de mujeres con sospecha de HBOC y mujeres con cáncer esporádico.....	42
Tabla 4 – Mujeres del subgrupo con cáncer de mama con sospecha de HBOC con factores de riesgo acumulados	43
Tabla 5 – Características de las mujeres del grupo HBOC sometidas a la prueba de MLPA.....	44
Tabla 6 – Deleciones en los exones del gen BRCA1 en mujeres con cáncer de mama sugestivo de HBOC de diferentes municipios del Brasil	45

LISTA DE ABREVIATURAS

HBOC	Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (por sus siglas en inglés, Hereditary Breast and Ovarian Cancer)
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
GRG	Grandes Reordenamientos Genómicos
INCA	Instituto Nacional de Cáncer José Alencar Gomes da Silva
UNILA	Universidad Federal de la Integración Latinoamericana

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	17
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1 BASES GENÉTICAS DEL CÁNCER.....	18
2.2 SÍNDROMES DE CÁNCER HEREDITARIO.....	18
2.3 CÁNCER DE MAMA	19
2.3.1. Epidemiología y Tendencia de Muerte.....	20
2.3.2 Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario	22
2.3.2.1 Frecuencia de grandes reordenamientos	24
2.3.2.2 Estructura y función del gen BRCA1	27
2.3.3 Factores de Riesgo y de Protección.....	28
2.3.3.1 Factores del primer grupo (inherentes).....	29
▪ Edad.....	29
▪ Sexo.....	29
▪ Raza	30
▪ Composición genética (hereditarios)	30
2.3.3.2 Factores del segundo grupo (extrínsecos)	30
▪ Exceso de gordura corporal	30
▪ Consumo de bebidas alcohólicas	30
2.3.3.3 Factores de protección.....	31
▪ Actividad física	31
▪ Lactancia materna.....	31
2.4 DIAGNÓSTICO.....	31
2.5 TRATAMIENTO	33
3. HIPÓTESIS.....	35
4. OBJETIVOS	36
4.1 OBJETIVO GENERAL	36
4.2 OJETIVOS ESPECÍFICOS	36
5. MATERIALES Y METODOS.....	37
5.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	37
5.2 COLECTA DE DATOS EPIDEMIOLÓGICOS	37
5.3 COLECTA DE MUESTRAS.....	37
5.4 EXTRACCIÓN DE DNA Y CUANTIFICACIÓN	38
5.5 MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION	39

6. RESULTADOS	41
6.1 PERFIL EPIDEMIOLOGICO DE LA POBLACION FEMENINA ESTUDIADA..	41
6.2 MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION (MLPA).....	44
7. DISCUSION	47
8. CONSIDERACIONES FINALES	56
REFERENCIAS	58
ANEXOS	66
ANEXO 1	67
ANEXO 2	69

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el cáncer de mama representa un importante problema de salud pública mundialmente, ya que es el cáncer más común y con mayor mortalidad en mujeres de todo el mundo (WHO, 2021). En el Brasil, excluyendo los tumores de piel no melanoma, el cáncer de mama es también el más incidente en mujeres de todas las regiones. Siendo las estimativas para este año de 66.280 casos nuevos (INCA, 2020). El cáncer de mama es la primera causa de muerte por cáncer en la población femenina en todas las regiones del Brasil, con excepción de la región Norte (INCA, 2021).

La Prefectura Municipal de Missal identificó una gran incidencia de casos de cáncer en la población, por lo que realizó un convenio con el curso de medicina de la UNILA, dando creación al siguiente Proyecto de investigación: "Establecimiento del perfil de padecimiento oncológico de la población de Missal/PR". Este presente trabajo forma parte de dicho proyecto, una vez que el cáncer de mama fue incluido en el proyecto.

En ese contexto, este presente trabajo tuvo como objetivo principal la identificación de mutaciones germinativas (grandes deleciones y amplificaciones) en el gen BRCA1, mediante el uso de la técnica de MLPA, como también la caracterización de factores de riesgo de pacientes oncológicas con sospecha de HBOC de la población de Missal – Paraná.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 BASES GENÉTICAS DEL CÁNCER

El cáncer es un grupo de enfermedades caracterizadas por mutaciones acumulativas en los genes responsables por la expresión de proteínas involucradas en el proceso de control del ciclo celular (PINHO, 2005). Los principales grupos de genes encargados de este proceso son proto-oncogenes, genes supresores de tumor y genes relacionados al reparo del ADN (DANTAS et al., 2009).

Las células normales de un determinado órgano o tejido pasan a transformarse en células malignas, dando origen a nuevos tejidos o neoplasias. Estas células pasan a adquirir elevada actividad proliferativa, capacidad de invasión y colonización de otros órganos (metástasis) debido al desequilibrio del ciclo celular causado por un aumento o reducción patológica de las proteínas estimuladoras o inhibitoras del ciclo celular. En otras palabras, hay casos donde las proteínas estimuladoras se encuentran sobre-expresadas, y otros en los que las proteínas inhibitoras se encuentran ausentes, ambos casos, desencadenan un ritmo patológicamente acelerado, llevando al surgimiento de neoplasias (PINHO, 2005).

Las alteraciones en el ADN, incluyen mutaciones génicas, quiebras y pérdidas cromosómicas, amplificaciones génicas, inestabilidad genómica y mecanismos epigenéticos (DANTAS et al., 2009). Estas alteraciones pueden ser adquiridas durante el transcurso de la vida de la persona o ser heredadas genéticamente (PINHO, 2005). La mayoría de los cánceres son generados en células somáticas, llamados de esporádico o no-hereditario (85 a 90%) (SAGNA et al., 2019), ocasionados por factores ambientales externos o por inducción espontánea, en tanto que los cánceres de carácter hereditario representan una pequeña proporción (10%) de todos los cánceres (HEMMINKI; HEMMINKI, 2005).

2.2 SÍNDROMES DE CÁNCER HEREDITARIO

Los síndromes de cáncer hereditario son trastornos genéticos, caracterizados por una mayor prevalencia de neoplasias malignas en individuos de una misma familia. Poseen un patrón de herencia mendeliano bien definido, en general del tipo autosómico dominante, y son transmitidos de una generación a otra.

En este tipo de herencia existe un riesgo de 50% de transmisión para la descendencia en cada gestación, independientemente del sexo, como también basta con recibir apenas un alelo mutado para heredar la predisposición a desarrollar el cáncer correspondiente. Presentan una elevada tasa de penetrancia, es decir, el individuo portador de la mutación tiene un riesgo elevado de desenvolver lesiones asociadas al síndrome durante toda su vida (DANTAS et al., 2009).

Otras características relacionadas a este conjunto de síndromes son: diagnóstico en edad precoz, más de una neoplasia en un mismo individuo, varios individuos de una misma familia con la misma neoplasia o neoplasias asociadas, afectando a varias generaciones (DANTAS et al., 2009).

2.3 CÁNCER DE MAMA

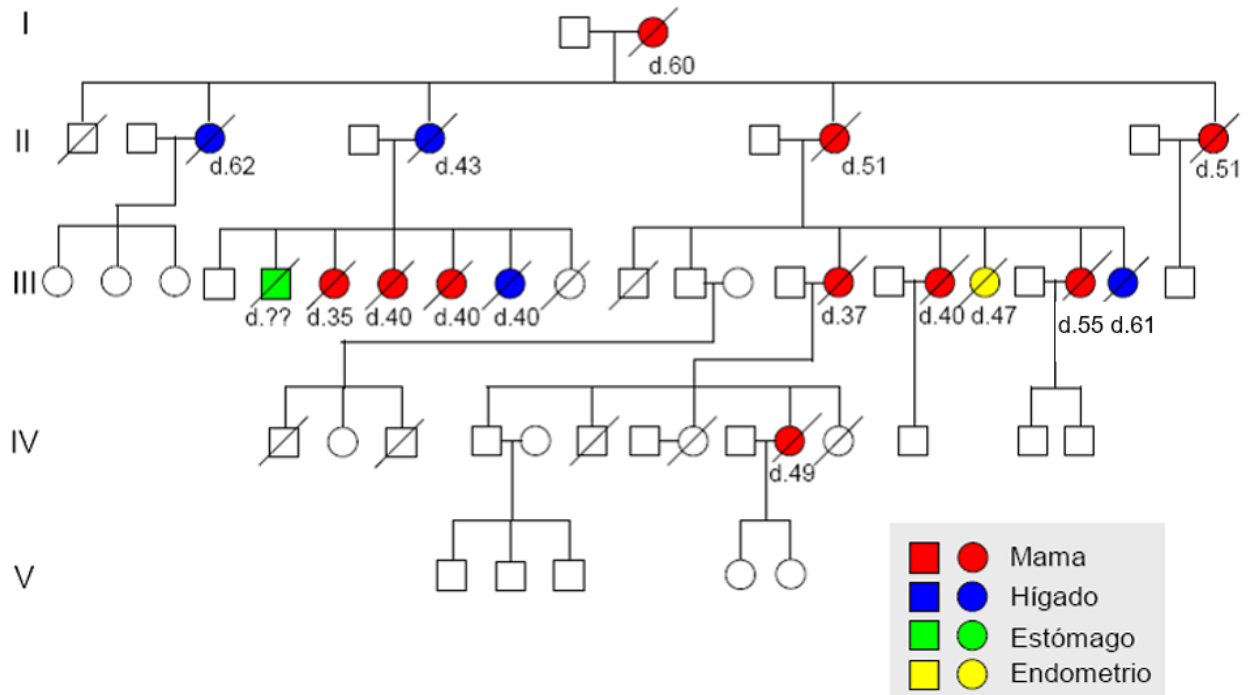
Actualmente no existe ninguna etiología específica y única relacionada al cáncer de mama, sino que se trata de una combinación de eventos hormonales, comportamentales, genéticos y ambientales que pueden contribuir con su desenvolvimiento, tales como, sobrepeso, alcoholismo, alteraciones hormonales, lesiones mamarias, e historia familiar (NAROD; RODRÍGUEZ, 2011). Se estima que los casos de cáncer de mama hereditario representan apenas un 5 a 10% de todos los casos, siendo la mayoría esporádicos (DANTAS et al., 2009).

Algunas características clínicas del cáncer de mama hereditario que le diferencian del cáncer esporádico son: edad de manifestación considerablemente precoz, mayor prevalencia de bilateralidad y asociación con otros tipos de tumores en las familias afectadas, especialmente cáncer de ovario y colorrectal (FIGUEIREDO, 2014).

El carácter hereditario del cáncer de mama fue inicialmente referenciado, por el cirujano francés Paul Broca, quien reportó la primera familia propensa al carcinoma de mama perteneciente a su esposa, en la década de 1860, tras acompañar el apareamiento del cáncer de mama y otros tipos de cánceres a lo largo de cuatro generaciones (Figura 1) (LYNCH et al., 2008). Esta hipótesis de asociación entre la historia familiar y la predisposición aumentada al cáncer de mama, fue confirmada por varios estudios posteriores (FIGUEIREDO, 2014), cuando las alteraciones genéticas asociadas fueron siendo conocidas a partir del Proyecto

Genoma Humano, ocurrido entre los años 1990 a 2003 (DIAS, 2010).

Figura 1 – Árbol genealógico de la esposa de Broca a lo largo de las generaciones



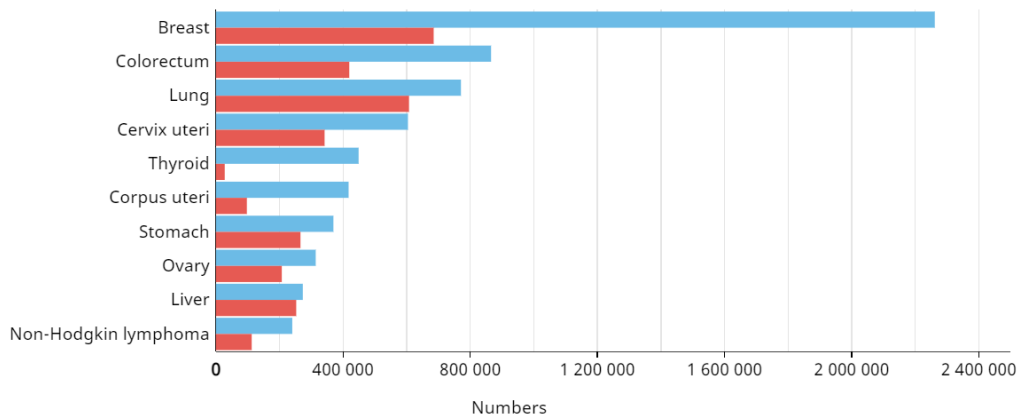
Fuente: GÓMEZ, 2011.

En la década de 1990, los mecanismos genéticos asociados al cáncer de mama hereditario fueron siendo cada vez más entendidos gracias a la identificación y localización de los genes responsables: Breast Cancer 1 (BRCA1) y Breast Cancer 2 (BRCA2), considerados como los genes de mayor importancia (DIAS, 2010).

2.3.1. Epidemiología y Tendencia de Muerte

Según las últimas estadísticas mundiales de GLOBOCAN (2020) proporcionados por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer – IARC (por sus siglas en inglés, *International Agency for Research on Cancer*), actualmente el cáncer de mama es el cáncer más común y con mayor mortalidad en las mujeres de todas las edades en todo el mundo (Gráfico 1) como también es el cáncer con mayor incidencia en ambos sexo (Gráfico 2) (IARC, 2021).

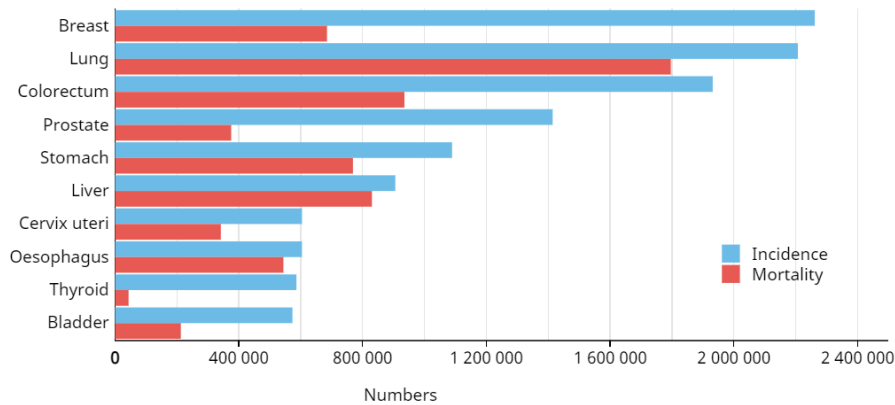
Gráfico 1 – Número estimado de casos incidentes y muertes de cáncer en mujeres de todo el mundo, de todas las edades



Fuente: IARC, 2021.

Notas: Barra celeste – Incidencia, Barra roja – Mortalidad

Gráfico 2 – Número estimado de casos incidentes y muertes de cáncer en todo el mundo, para ambos sexos, de todas las edades.



Fuente: IARC, 2021.

Notas: Barra celeste – Incidencia, Barra roja – Mortalidad

Las tasas de mortalidad de mujeres por cáncer de mama descendieron 40% desde 1989 a 2016, y a partir del 2007 se han mantenido estables en las mujeres menores de 50 años, y con disminución continua en mujeres de edad más avanzada (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019). La Sociedad Americana contra el Cáncer (2019) asocia este descenso al diagnóstico precoz, mediante pruebas de detección, un mejor acceso a la información y a mejores tratamientos.

Según el INCA (2020) para el Brasil se estiman 66.280 nuevos casos para cada año del trienio 2020-2022. El cáncer de mama en mujeres, sin considerar el cáncer de piel no melanoma, es el cáncer más frecuente en todas las regiones brasileras, correspondiendo a un 29,7% de los cánceres en mujeres. En relación a la mortalidad por el cáncer de mama, en el 2019 hubo 18.068 muertes en el país (INCA,

2021).

2.3.2 Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario

Entre los tipos de cánceres de mama hereditarios, se encuentra el Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario que puede definirse como, una condición que aumenta la probabilidad de desarrollar cáncer de mama, ovario, y de otros tipos de cánceres como páncreas, estómago, laríngeo, trompa de falopio, y cáncer de próstata (FIGUEIREDO, 2014; GONZÁLEZ-TESHIMA et al., 2016).

Los principales genes responsables por la mayoría de los casos de HBOC son BRCA1 y BRCA2, de elevada penetrancia. Ambos son genes supresores de tumor que codifican proteínas encargadas del proceso de reparo del ADN, y presentan una herencia autosómica dominante (FIGUEIREDO, 2014). Así pues, mutaciones en estos genes supresores de tumor ocasionan pérdida de su función y como resultado aumentan la probabilidad de desarrollar un tumor (NAROD; RODRÍGUEZ, 2011).

Mutaciones hereditarias en estos genes aumentan el riesgo de las mujeres a desarrollar cáncer de mama y ovario, siendo la probabilidad de portadores de mutaciones en BRCA1 de aproximadamente 65% antes de los 70 años, y del 45% para portadores de mutaciones en el BRCA2 (SAGNA et al., 2019). Adicionalmente, mujeres con cáncer de mama que poseen una mutación en BRCA1 o BRCA2 poseen alto riesgo de desarrollar un cáncer secundario o contralateral (39%) y cáncer de ovario (13%) (NAROD; RODRÍGUEZ, 2011). Las mutaciones germinativas en ambos genes son responsables por la predisposición al cáncer en la mayoría de las familias con HBOC (RISCH et al., 2001).

Se estima que en la población en general, aproximadamente 1 en 300 a 1 en 800 individuos presenten una mutación en BRCA1 o en BRCA2. Sin embargo, algunas poblaciones, fundadas por pequeños grupos ancestrales, pueden presentar con mayor frecuencia una mutación específica en BRCA1 y BRCA2, conocida comúnmente como mutación fundadora. Estas mutaciones fundadoras fueron identificadas en judíos Ashkenazi (Europa Central y Oriental), Franco-canadienses, Islandeses, Holandeses, Polacos, entre otros grupos. También se han encontrado mutaciones en ambos genes en individuos de otros orígenes étnicos, como hispanos, afroamericanos y asiáticos (NAROD; RODRÍGUEZ, 2011;). Por lo tanto, la prevalencia de las mutaciones en BRCA1 y BRCA2 varía de acuerdo con el país y el grupo étnico

de los individuos (NAROD; RODRÍGUEZ, 2011).

En relación a la población brasilera, ya existen estudios que describen mutaciones encontradas en los genes BRCA1 y BRCA2 en pacientes brasileras, con el objetivo de establecer un perfil genético de las mutaciones BRCA en la población. Por un lado se han encontrado mutaciones puntuales, las cuales son frecuentemente sustituciones de una sola base, predominantemente mutaciones nonsense, o pequeñas inserciones/deleciones frameshift, que resultan en codones de parada prematuros y proteínas truncadas no funcionales (EWALD et al., 2016). En un estudio realizado por Dufloth et al. (2005), en la Universidad Estatal de Campinas – São Paulo, en 31 pacientes brasileras con sospecha de cáncer de mama de carácter hereditario (antecedentes familiares positivos), fueron identificados cuatro mutaciones, una mutación en BRCA1 y tres en BRCA2. La mutación en BRCA1 es del tipo frameshift, en el exón 20. Dos mutaciones encontradas en BRCA2 son del tipo nonsense localizadas en el exón 11 y una del tipo variante no clasificada localizada en el exón 11. Concluyeron así, una prevalencia de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 de 13% (4/31) en las pacientes brasileras.

En otro estudio, realizado por Lourenço et al. (2004) en Rio de Janeiro, investigaron apenas mutaciones en el gen BRCA1, en 47 pacientes brasileras seleccionadas también con sospecha de cáncer de mama hereditario, e identificaron cuatro mutaciones en siete pacientes. Las cuales fueron, una inserción idéntica en el exón 20, una deleción de cuatro pares de bases en el exón 11, una transición en el intrón 17 y otra transición en el exón 1. Así, encontraron una prevalencia de 15% (7/47) de mutaciones en BRCA1 relacionadas al cáncer de mama hereditario en las pacientes brasileras.

Por otro lado, se han descrito también grandes reordenamientos genómicos en BRCA1 y BRCA2 asociados al fenotipo HBOC (EWALD, 2008), dispersos por todo el gen, siendo la mayoría de estas: deleciones, duplicaciones, triplicaciones, como también combinación de deleción/inserción (EWALD et al., 2016). En un estudio realizado por Ewald et al. (2016), determinaron la prevalencia de reordenamientos en los genes BRCA1/2 en 145 pacientes brasileras de tres regiones diferentes del país: Porto Alegre – Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro – Rio de Janeiro y del Salvador – Bahia, con retrospección sugestiva de cáncer de mama hereditario. Para la selección de las pacientes siguieron los criterios de la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) para el síndrome de HBOC, y utilizaron las siguientes técnicas: MLPA y un

protocolo específico basado en PCR para identificar una mutación fundadora portuguesa en BRCA2. Como resultado identificaron dos pacientes con reordenamientos en el gen BRCA1: una con microdelección en los exones 9 al 19: c.547+240_5193+178del, y la segunda con microdelección en los exones 16 y 17: c.4675+467_5075-990del. Otras tres pacientes, presentaron la mutación fundadora portuguesa en BRCA2: c.156_157insAlu.

Como los reordenamientos fueron identificados en cinco pacientes, la prevalencia es de 3,4% (5/145), concluyeron que los reordenamientos en BRCA1/2 son relativamente poco frecuentes en la población, debido a que la frecuencia general fue inferior a 5%. Sin embargo, destacaron que este estudio no puede considerarse representativo para toda la población brasilera, ya que apenas incluye pacientes de tres regiones del país.

Ewald et al. (2016) también mencionan que deleciones involucrando los exones 16 o 17 son bastante comunes y se han descrito en varias poblaciones, y que la mutación fundadora portuguesa en BRCA2 es común en Portugal, por lo que su identificación en tres familias brasileiras, era de esperarse debido a la alta proporción de descendientes portugueses en la población brasilera.

En una revisión de literatura hecha por Ewald et al. (2009), sobre reordenamientos genómicos en familias con HBOC, mencionan que estas mutaciones son generalmente patogénicas debido a que incluyen deleciones o inserciones de grandes secuencias genómicas dentro de una región codificadora, resultando en una traducción fuera de marco que en general conduce a un péptido mutante de estructura y/o función anormal (Ewald et al. 2009). Estos grandes reordenamientos genómicos son principalmente encontradas en el gen BRCA1, representando un 0-36% de todas las mutaciones que causan enfermedades en diversas poblaciones, y varían de 0,5 a 23,8 kb, incluyendo uno o más exones, mientras que en el gen BRCA2 son menos observados (HANSEN et al., 2009; EWALD et. al, 2009).

2.3.2.1 Frecuencia de grandes reordenamientos

En la revisión hecha por Ewald et al. (2009) ya mencionada anteriormente, presentan las diversas frecuencias de grandes reordenamientos en poblaciones de diferentes países. Encontraron que entre las familias con HBOC, la mayor proporción de reordenamientos en BRCA1 ha sido observada en el Norte de Italia, con un 40%,

representando un tercio de las mutaciones patogénicas de BRCA1, y con prevalencia de reordenamiento de 23% en las familias estudiadas. En los Países Bajos, la proporción de reordenamientos en BRCA1 también es alta, con un 27% a 36% de todas las mutaciones germinativas en el gen, atribuibles a la mutación fundadora. En contraste, familias danesas occidentales, presentan apenas 3,8% de prevalencia de reordenamientos en BRCA1, lo cual es bajo en comparación con las otras poblaciones. Por otro lado, mencionan también un estudio realizado en Finlandia, que falló en detectar cualquier reordenamiento en 82 familias con moderado o alto riesgo para HBOC. Mediante los resultados de estos dos últimos estudios, suponen que los países Nórdicos presentan una menor frecuencia de reordenamientos genómicos. Para Canadá, en un estudio realizado en familias Franco-canadienses de alto riesgo de cáncer de mama/ovario, no se han encontrado evidencias de reordenamientos genómicos en BRCA1 ni en BRCA2. También mencionan la frecuencia de prevalencia de grandes reordenamientos junto con su proporción y el tipo de reordenamiento descrito en poblaciones de otros países, además de los ya mencionados, como Australia, República Checa, Alemania, Polonia, Portugal, Singapur, España, Estados Unidos de América (USA), Comunidad Hispana de Estados Unidos, resumidos en la Tabla 1.

Tabla 1 – Frecuencia de reordenamientos genómicos de BRCA1 y BRCA2 en diferentes poblaciones

País	Gen estudiado	Prevalencia	Proporción	Reordenamiento descrito
Australia	BRCA1/2	2%	-	BRCA1: Del. ex 3, ex 5, ex 21-23 BRCA2: Del. ex 1-2, ex 14-16
Canadá	BRCA1/2	0%	0%	Ninguno
Republica Checa	BRCA1	6%	-	Del. ex 1A/1B-2, ex 4-14, ex 11-12, ex 18-19, ex 20, ex 21-22
Dinamarca	BRCA1/2	1.3%	3.8%	BRCA1: Del. ex 3-16, ex 13-15

Finlandia	BRCA1/2	0%	0%	Ninguno
Alemania	BRCA1/2	1.7-5.7%	8%	BRCA1: Del. ex 1A/1B-2, ex 5, ex 5-7, ex 17; Dupl. exón 13
Italia	BRCA1	23%	40%	Del. ex 1A/1B-2, ex 9-19, ex 18-19, ex 20
Italia	BRCA2	2.5%	-	Del. ex 17-18, ex 8-11, ex 20
Países bajos	BRCA1	7-9.1%	27%-36%	Del. ex 8, ex 13, ex 20-22, ex 22; Dupl. ex 13, ex 21-23; Tripl. ex 17-19
Polonia	BRCA1/2	4.7%	4.5%	BRCA1: Del. ex 1A/1B-2, ex 17-19
Portugal	BRCA1	9.6%	-	Del. ex 1-22, ex 8-13, ex 15-16; Dupl. ex 3-8, ex 18-20
Portugal	BRCA1/2	1.1%	6.7%	BRCA1: Del. ex 11-15
Portugal	BRCA2	8%	-	Dupl. ex 3
Singapur	BRCA1/2	3%	14.3%	BRCA1: Del. ex 13-15, Dupl. ex 13 BRCA2: Dupl. ex. 4-11
España	BRCA2	1.5%	-	Del. ex 2, ex 10-12; ex 15-16; Dupl. ex 20
Estados Unidos	BRCA1	12.7%	-	Del. ex 14-20, ex 22, ex 13; Dupl. ex 13
Estados Unidos	BRCA1/2	12%	-	BRCA1: Del. ex 1A/1B-2, ex 3, ex 8-9, ex 17, ex 20; Dupl. ex

**Estados Unidos
–
Comunidad
Hispana**

BRCA1

3.8%

-

13, entre otros

Del. ex 9-12

Fuente: Adaptado de Ewald et. al (2009).

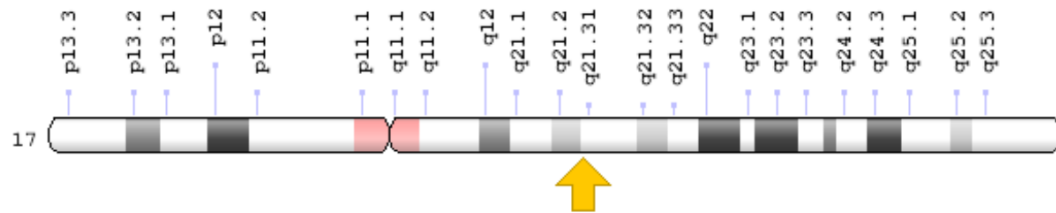
Notas: ex – exón, Del. – delección, Dupl. – duplicación

2.3.2.2 Estructura y función del gen BRCA1

El gen BRCA1 se encuentra en el brazo largo (q) del cromosoma 17, en la posición q21.31 (17q21.31), como muestra la Figura 2 (DIAS, 2010). Se extiende por más de 80 kb, y contiene 24 exones, de los cuales 22 son codificantes, resultando en una proteína de 1.863 aminoácidos, denominada BRCA1 (FIGUEIREDO, 2014) con actividad ubiquitina-ligasa E3 y de unión a fosfopéptidos. Es considerado como gen supresor de tumor, debido a que la proteína BRCA1, posee funciones importantes en una serie de vías celulares que mantienen la estabilidad genómica como, la regulación transcripcional; reparación de daños del ADN, como reparo de rupturas de la cadena doble; activación del punto de control del ciclo celular; regulación de la apoptosis; remodelación de la cromatina y ubiquitinación de proteínas (DIAS, 2010; FIGUEIREDO, 2014; WU et al., 2010).

La proteína BRCA1 consigue realizar sus funciones de reparación del ADN, mediante interacciones con otras proteínas. Estas interacciones se ejecutan a través de tres dominios del gen BRCA1, un dominio RING-finger (Really Interesting New Gene) en la región N-terminal, y dos dominios BRCTs (BRCA C terminus) en la región C-terminal organizados en tándem (CURY, 2012). El dominio RING-finger abarca aproximadamente los primeros 100 aminoácidos e interactúa con la proteína BARD1, formando así un complejo hetero-dimérico con actividad ubiquitina-ligasa E3, por lo que facilita la ubiquitinación de proteínas. Mientras que los dominios BRCTs localizados en tándem son formados por aproximadamente 100 aminoácidos cada uno, e interactúan con proteínas fosforiladas que están involucradas también en la reparación del ADN. Por lo tanto, como estos dominios altamente conservados son frecuentemente blancos de mutaciones clínicamente importantes, se sugiere que son esenciales para la función de la proteína BRCA1 (CURY 2012; FIGUEIREDO, 2014).

Figura 2 – Localización del gen BRCA1 en el cromosoma 17



Fuente: National Library of Medicine, 2019.

Como es un gen supresor de tumor, variaciones patológicas en el gen causan alteraciones en la transcripción y en las vías de reparo de daños del ADN, llevando consecuentemente a la acumulación de mutaciones y a la inestabilidad cromosómica. Cabe destacar que las mutaciones en los genes supresores de tumor no ocasionan directamente el surgimiento del cáncer, sino que estos genes actúan como “cuidadores del genoma” (del inglés “caretakers”), encargados de preservar la estabilidad cromosómica y que cuando inactivados, resulta en acúmulo de mutaciones en varios otros genes (EWALD et al., 2008).

2.3.3 Factores de Riesgo y de Protección

Hasta el día de hoy se han identificado varios factores que aumentan la probabilidad de desarrollar el cáncer de mama y que son considerados como factores de riesgo. Estos factores pueden ser divididos en dos grupos según la posibilidad de influir en el proceso de transformación neoplásica en los individuos. El primer grupo incluye los factores inherentes tales como la edad, el sexo, la raza, la composición genética (hereditarios) que promueven la aparición familiar de la neoplasia o la aparición de lesiones proliferativas benignas en la glándula mamaria. El segundo grupo incluye factores extrínsecos condicionados por el estilo de vida, la dieta, factores ambientales o comportamentales, como la terapia de reposición hormonal, el uso de anticonceptivos hormonales, el consumo de bebidas alcohólicas, exceso de gordura corporal, radiación ionizante en el tórax, y el uso de tabaco. Los factores de riesgo del primer grupo no pueden ser alterados ya que son parámetros independientes, en cambio, la influencia del proceso neoplásico de los factores de riesgo del segundo grupo, sí pueden ser modificados en cierto grado mediante la reducción de estos factores en la vida del individuo (KAMINSKA et al., 2015; INCA,

2019).

Algunos de estos factores mencionados anteriormente aumentan el riesgo más que otros, y pueden ser alterados a lo largo del tiempo, como por ejemplo, el envejecimiento poblacional o los cambios culturales en los estilos de vida. Así también existen factores que disminuyen esta probabilidad, como la práctica regular de actividades físicas y la lactancia, por lo que son considerados factores de protección contra el cáncer de mama (INCA, 2019). Se estima que por medio de la alimentación, nutrición y actividad física es posible disminuir hasta un 28% del riesgo de desarrollar cáncer de mama (BRASIL. Ministério da Saúde, 2019).

2.3.3.1 Factores del primer grupo (*inherentes*)

- *Edad*

El primer factor básico entre los factores inherentes, es la edad del paciente en el momento del diagnóstico de la neoplasia. El cáncer de mama surge con más frecuencia en mujeres alrededor de la menopausia, y es significativamente menos frecuente en mujeres menores que 45 años de edad. Una correlación interesante entre la edad en que se diagnostica y la expresión del receptor de estrógenos, presente en el tejido del tumor examinado, es que las neoplasias que muestran sobreexpresión del receptor de estrógenos ER (+) se caracterizan por una frecuencia que aumenta con la edad en comparación con los tumores ER (-), que se caracterizan por estar presentes en tumores de pacientes de hasta 50 años. Esta correlación con la edad, explica el motivo de un mayor porcentaje de tumores ER (+) diagnosticados en mujeres después de la menopausia (KAMINSKA et al., 2015).

- *Sexo*

El cáncer de mama afecta predominantemente a mujeres, mientras que en los hombres representa menos del 1% de todos los cánceres de mama diagnosticados. Sin embargo la ocurrencia del cáncer de mama en hombres ha incrementado en las últimas tres décadas según análisis de datos epidemiológicos. Este aumento de cáncer de mama en hombres, es probablemente resultado del progreso de la civilización que eventualmente conduce a una obesidad excesiva y una mayor esperanza de vida en los hombres (KAMINSKA et al., 2015).

- *Raza*

El cáncer de mama es el tumor más común en todas las etnias, sin embargo, datos americanos sugieren que existe una frecuencia mayor en mujeres de color piel blanca (REGIONAL PIAUÍ. Sociedade Brasileira de Mastologia, 2017). Como ya mencionado en secciones anteriores, existen poblaciones que tienden a presentar mayor frecuencia de mutaciones fundadoras en los genes BRCA1 y BRCA2, como por ejemplo los judíos Ashkenazi, cuyas frecuencias varían de acuerdo con el país y el grupo étnico (NAROD; RODRÍGUEZ, 2011).

- *Composición Genética (hereditarios)*

En cuanto al factor hereditario, como ya explicado más detalladamente en las secciones anteriores, apenas 10% de los casos de cánceres son atribuidos a las mutaciones germinativas en los genes BRCA1 y BRCA2, responsables por el HBOC. Según relata el INCA (2019) mismo sin la identificación clara de mutación patológica en los genes conocidos, el riesgo de cáncer de mama es mayor en las mujeres con parientes de primer grado (madre, hermana o hija) que tuvieron la enfermedad, por lo tanto el riesgo de aparición del cáncer se duplica. En caso de que sean dos parientes de primer grado en la familia con la enfermedad, el riesgo aumenta para cerca de tres veces. Y para las mujeres que ya tuvieron cáncer de mama, mismo sin historial familiar, el riesgo aumenta tres a cuatro veces para un nuevo cáncer de mama (INCA, 2019).

2.3.3.2 Factores del segundo grupo (extrínsecos)

- *Exceso de gordura corporal*

El exceso de gordura corporal, además de estar asociado a un estado inflamatorio crónico, altera directamente los niveles de varias hormonas circulantes, como por ejemplo la insulina y las hormonas sexuales, contribuyendo para un ambiente que puede desencadenar diversos tipos de cánceres, incluyendo el de mama (INCA, 2019). Según el INCA (2019), entre los 82 millones de adultos con exceso de peso, aproximadamente 30 millones eran obesos, y en todos los análisis, el exceso de gordura corporal fue más frecuente en las mujeres.

- *Consumo de bebidas alcohólicas*

El consumo de bebidas alcohólicas aumenta el riesgo de desenvolver

diversos tipos de cánceres, incluyendo el de mama. No existen niveles seguros de ingestión, sin embargo, se sabe que cuanto mayor la dosis ingerida, mayor el riesgo. Las bebidas alcohólicas aumentan el riesgo del cáncer de mama, debido a que producen especies reactivas de oxígenos asociadas a daños en el ADN, como también pueden aumentar los niveles circulantes de estrógeno, actuar como solvente y consecuentemente potencializando la penetración de carcinógenos dietéticos o ambientales (por ejemplo el tabaco) en las células. El consumo de una cantidad grande de alcohol puede ocasionar en las personas deficiencia de nutrientes esenciales como el folato, dejando al tejido mamario más susceptible a los efectos carcinógenos de la bebida alcohólica (INCA, 2019).

2.3.3.3 Factores de protección

- *Actividad física*

La práctica de actividad física regular ayuda a reducir la gordura corporal, promueve el equilibrio de los niveles hormonales circulantes, como por ejemplo, de la insulina y las hormonas sexuales, reduce la inflamación y fortalece las defensas del cuerpo, disminuyendo así el riesgo de cáncer de mama (INCA, 2019).

- *Lactancia materna*

La lactancia materna corresponde a una de las formas de protegerse del cáncer de mama, debido a que reduce la exposición de la mujer a hormonas que aumentan el riesgo del cáncer y elimina células mamarias con mutaciones. Por tanto cuanto mayor el tiempo de lactancia materna, mayor el beneficio para la mujer (INCA, 2019).

Según el Ministerio de Salud del Brasil (2019), algunas recomendaciones básicas para la prevención son: control del peso corporal y evitar la obesidad, mediante la alimentación saludable y de la práctica regular de actividades físicas, como también evitar el consumo de bebidas alcohólicas y control del tabaquismo.

2.4 DIAGNÓSTICO

Cuando alteraciones con sospecha de cáncer en las mamas, como un nódulo u otras lesiones, son identificadas ya sea por una mamografía de rutina, por la

mujer o por el médico durante un chequeo clínico, estas deben ser investigadas para saber si se trata de una lesión benigna o maligna. Para la investigación inicial de estas alteraciones, además del examen clínico de las mamas, son recomendados por el Ministerio de Salud del Brasil (2019), exámenes de imágenes como la mamografía, ultrasonografía o resonancia magnética. Luego las alteraciones encontradas son confirmadas como malignas o benignas a partir de una biopsia, considerada como la técnica patrón para la confirmación del diagnóstico del cáncer, que consiste en la retirada de una fracción del nódulo o de la lesión sospechosa mediante punciones o a través de una pequeña cirugía. Seguidamente la muestra retirada es analizada por el patólogo para la obtención del diagnóstico (BRASIL. Ministério da Saúde, 2019; INCA, 2019).

El Ministerio de Salud del Brasil (2019) recomienda estrategias de detección precoz del cáncer de mama, que visan identificar el cáncer en etapas iniciales, incluyendo dos estrategias, el diagnóstico precoz y el rastreamiento. Según las Directrices para la Detección Precoz del Cáncer de Mama en el Brasil (2015) las intervenciones para el diagnóstico incluyen: estrategias de concientización, identificación de señales y síntomas, confirmación diagnóstica en un único servicio. Para el rastreamiento incluyen las siguientes intervenciones: mamografía, autoexamen de las mamas (AEM), examen clínico de las mamas (ECM), resonancia nuclear magnética (RNM), ultrasonografía, termografía, tomosíntesis.

El diagnóstico precoz tiene como objetivo identificar personas con señales y síntomas iniciales de la enfermedad, y así posibilitar terapias más simples y efectivas. En tanto que, el rastreamiento tiene como objetivo identificar el cáncer en su fase pre-clínica en la población sin síntomas de la enfermedad. Estas estrategias de detección precoz son consideradas como prevención secundarias, siendo que la prevención primaria consiste en modificar los factores de riesgo del segundo grupo, extrínsecos (ambientales, estilo de vida, etc.), con la finalidad de reducir la mortalidad (BRASIL. Ministério da Saúde, 2015).

Por otro lado, existen también pruebas genéticas para mujeres que presentan alto riesgo de desenvolver el cáncer debido a su historia familiar. El test genético para el rastreamiento de mutaciones germinativas en los genes BRCA1 y BRCA2 se utiliza para el diagnóstico molecular del HBOC en individuos con diagnóstico clínico o con sospecha diagnóstica del síndrome. Como también se aplica a mujeres asintomáticas que presenten alto riesgo de desenvolver, como método

preventivo. Para el primer caso, en los individuos ya afectados por la enfermedad, permite evaluar la amplitud del fenotipo de la enfermedad, basándose en estudios de otras familias. En el segundo caso, permite detectar las mutaciones patogénicas en los genes de mujeres saludables para así adoptar medidas preventivas, como por ejemplo la cirugía profiláctica, y realizar acompañamiento genético (CURY, 2012).

Para evaluar si es que una mujer posee alto riesgo para síndromes hereditarios del cáncer de mama, se pueden utilizar algunos cuestionarios relacionados al histórico familiar/personal y a otros aspectos que sirvan como herramientas de identificación. Uno de los guías patrones para la identificación de individuos con sospecha de HBOC es la que propone la NCCN. Por lo tanto, primeramente se debe construir una genealogía del paciente con por lo menos tres generaciones, y a partir de ahí seguir con los criterios para la evaluación del riesgo genético. Luego los pacientes que cumplen con los criterios deben recibir un asesoramiento pre-test, y seguidamente se prosigue con las pruebas genéticas (REGIONAL PIAUÍ. Sociedade Brasileira de Mastologia, 2017).

La Sociedad Brasileira de Mastologia (2017), resalta que actualmente se recomienda la realización de paneles multigénicos, que incluyan tanto genes de alta penetrancia asociados al cáncer como también de moderada penetrancia. Mencionan que un estudio realizado con 300 individuos, el test genético resultó negativo para mutaciones patogénicas en los genes BRCA1/2, sin embargo, al realizar paneles multigénicos se reveló que 12% de los individuos eran portadores de reordenamientos genómicos (REGIONAL PIAUÍ. Sociedade Brasileira de Mastologia, 2017).

Existen diversos métodos para el screening de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 asociadas al HBOC, siendo las metodologías más aplicadas las siguientes: HRM (High Resolution Melting), MLPA, Secuenciación capilar, NGS (Next Generation Sequence), entre otros. Para los grandes reordenamientos genómicos, la técnica más utilizada es MLPA, debido a que la secuenciación ya sea por capilaridad o de segunda generación, muchas veces no detecta este tipo de mutaciones.

2.5 TRATAMIENTO

El SUS dispone para el tratamiento del cáncer de mama: radioterapia, quimioterapia, hormonoterapia, tratamiento con anticuerpos como también todos los

tipos de cirugía: mastectomías, cirugías conservadoras y reconstrucción mamaria. Por tanto, el tratamiento del cáncer de mama se realiza mediante una o varias modalidades combinadas, dependiendo de lo que indique el médico como tratamiento más adecuado (BRASIL. Ministério da Saúde, 2019).

Los tratamientos pueden ser clasificados según el grado de afección del cáncer, en locales, sistémicos y la combinación de ambos. Los tratamientos locales se refieren a aquellos que tratan el tumor localmente sin afectar al resto del cuerpo, como por ejemplo la cirugía y la radioterapia. En cuanto que los tratamientos sistémicos se refieren a los medicamentos utilizados que pueden alcanzar a las células cancerígenas en casi cualquier parte del cuerpo. Dependiendo del tipo de cáncer de mama, existen diferentes clases de fármacos a ser utilizados, entre ellos, la quimioterapia, hormonoterapia, inmunoterapia y terapia biológica (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019; INCA, 2019).

3. HIPÓTESIS

El cáncer de mama sugestivo de carácter hereditario, identificado en las pacientes oncológicas de la población de Missal, se debe a grandes reordenamientos genómicos de regiones del gen BRCA1.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar mutaciones, grandes reordenamientos genómicos (deleciones y amplificaciones) en el gen BRCA1 y caracterizar los factores de riesgo en pacientes, residentes del municipio de Missal-PR, previamente seleccionadas con cáncer de mama sugestivo de HBOC.

4.2 OJETIVOS ESPECÍFICOS

- Seleccionar familias con retrospección sugestiva de cáncer de mama con patrón hereditario.
- Rastrear grandes deleciones y amplificaciones en el gen BRCA1, mediante el uso de la técnica de MLPA en las pacientes oncológicas diagnosticadas con cáncer de mama de la población de Missal.
- Investigar los factores de riesgo asociados al cáncer de mama en mujeres de la población de Missal-PR.
- Describir el perfil de la población femenina afectada por cáncer de mama en el municipio de Missal-PR.
- Comparar la exposición a los factores de riesgo en diferentes grupos.
- Correlacionar los datos genéticos obtenidos con las informaciones adquiridas en los cuestionarios (informaciones personales: edad de diagnóstico, raza/color, peso, altura, tipo de trabajo; hábitos de vida: uso de tabaco, consumo de alcohol, uso de anticonceptivos hormonales y tratamiento de reposición hormonal; historia familiar: descendencia, cáncer de mama en la familia u otros tipos de cánceres) para establecer un patrón de enfermedad oncológica.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 ASPECTOS ÉTICOS

Los principios éticos establecidos por el Consejo Nacional de Ética en Investigación fueron respetados en todas las fases del proyecto, incluyendo el sigilo y anonimato de las participantes. Este presente trabajo forma parte del Proyecto: “Establecimiento del perfil de padecimiento oncológico de la población de Missal/PR”, entre la Prefectura Municipal de Missal y la UNILA, el cual fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Estadual del Oeste (UNIOESTE) – CAAE: 79421517.9.0000.0107, número del parecer: 2.442.020.

5.2 COLECTA DE DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

Fueron colectados datos epidemiológicos de un total de n=1.187 mujeres de la población de Missal, como: peso, altura, raza/color, hábito de fumar, consumo de alcohol, uso de anticonceptivo hormonal, tratamiento de reposición hormonal, historia familiar de cáncer, descendencia y tipo de trabajo. Estos datos fueron obtenidos a través de entrevistas hechas a dichas mujeres en el año 2019. A partir de estos datos, se identificó dos subgrupos, un grupo de mujeres con cáncer de mama con sospecha de HBOC, identificadas a partir de los criterios de la NCCN, y otro grupo con cáncer de mama considerado esporádico.

5.3 COLECTA DE MUESTRAS

Las pacientes con sospecha de HBOC que cumplieron los criterios de la NCCN - *Clinical Practice Guidelines in Oncology* (Anexo 1) fueron invitadas a participar de la investigación por medio del término de consentimiento libre y esclarecido (Anexo 2).

De cada paciente, fue colectada cerca de 6 mL de sangre periférica en un tubo conteniendo anticoagulante (EDTA). Las muestras fueron identificadas para garantizar el sigilo y almacenadas en el banco del Laboratorio de Investigación en Ciencias Médicas (LPCM) de la UNILA para posterior procesamiento y análisis.

5.4 EXTRACCIÓN DE DNA Y CUANTIFICACIÓN

La sangre colectada de las mujeres fue utilizada para la extracción de muestra de DNA genómico mediante el kit de *Invitrogen PureLink Genomic DNA* siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. La etapa de lisis fue efectuada usando 2 μ L de Proteinase K y 20 μ L de Rnase, seguida de la homogeneización en el vórtex, luego las muestras fueron dejadas por 2 minutos a temperatura ambiente sobre la bancada para que ocurra la reacción. Luego se añadió 200 μ L de *Purelink Genomic Lysis/Binding Buffer* a las muestras y fueron homogeneizadas. En seguida, las muestras fueron incubadas a 55°C por 10 minutos.

Luego las muestras fueron transferidas para la *Purelink Spin Column*. Después de la transferencia, las muestras fueron centrifugadas a una velocidad de 10.000 rpm (rotaciones por minuto) en temperatura ambiente durante 1 minuto. Seguidamente, el tubo colector, con fluidos y otros materiales que no son de interés para este estudio, fue descartado y el tubo con la membrana de sílica conteniendo el material genético de interés fue colocado en otro tubo colector.

Inmediatamente fue realizada la fase de lavado, para retirar la mayor parte de todas las impurezas tales como proteínas, lípidos y sales, con el objetivo de obtener una solución más homogénea y concentrada de material genético. Para esta fase, fue entonces adicionada 500 μ L de *Wash buffer 1* en los tubos con la membrana de sílica conteniendo el material genético. A continuación, los tubos fueron centrifugados a 10.000 rpm en temperatura ambiente durante 1 minuto. Luego de la centrifugación, los tubos con la membrana de sílica fueron colocados en otros tubos colectores para una nueva centrifugación. En seguida, fue adicionado 500 μ L de *Wash Buffer 2* preparado con etanol 100% y los tubos fueron entonces centrifugados a la velocidad máxima, 15.000 rpm, a temperatura ambiente durante 3 minutos. El tubo colector fue descartado y el tubo con la membrana de sílica fue transferida a un microtubo de 1,5mL. Finalmente, se realizó la elución, con la adición de 100 μ L de líquido de elución a los tubos con la membrana de sílica. Seguidamente las muestras fueron centrifugadas a 15.000 rpm durante 1 minuto.

La cuantificación de las muestras de DNA extraídas fue realizada en el espectrofotómetro *NanoDrop ND2000* de *Thermo Scientific* siguiendo las

recomendaciones del fabricante. Por último, las muestras de DNA fueron diluidas a una concentración de 150ng/μL y almacenadas en el congelador del LPCM.

5.5 MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION

Para el análisis de grandes deleciones y duplicaciones en el gen BRCA1 fue utilizado el kit *SALSA MLPA PROBEMIX P002 BRCA1* (MRC Holland, Ámsterdam, Holanda), compuesto por 48 sondas con productos de amplificación variando entre 130 a 469 pares de bases. De estas 48 sondas, 38 fueron para los exones 1a, 2, 3 e 5-24 del gen BRCA1 y 10 sondas controles que detectaron secuencias fuera de esta región.

El experimento de MLPA fue dividido en cuatro etapas y realizado en dos días. En el primer día, se realizó la desnaturalización del DNA y la reacción de hibridación. En el segundo día, se realizó la reacción de ligación y la reacción de PCR. Para la etapa de desnaturalización del DNA fueron empleados 5μL de cada muestra conteniendo aproximadamente 150ng de DNA, las muestras fueron incubadas en el termociclador a 98°C por 5 minutos y a 25°C una vez removidas del termociclador.

Para la hibridación (DNA-sonda), se preparó la solución para esta etapa, utilizando 1,5μL de MLPA *buffer* más 1,5μL *probemix*. Luego de la homogeneización, se adicionó 3μL de la solución MLPA *buffer* + *probemix* a cada microtubo de las muestras. Para la hibridación las muestras fueron incubadas en el termociclador a 95°C por 1 minuto, seguidas del calentamiento a 60°C por 17 horas.

Al día siguiente, fue realizada la etapa de ligación. La solución para esta etapa se preparó con 25μL de agua MiliQ, 3μL de ligase *buffer* A, 3μL de ligase *buffer* B y 1μL de la enzima ligase-65. Luego fue adicionada 32μL de esta solución a todas las muestras, que estaban en pausa en el termociclador a 54°C. Seguidamente, las muestras incubadas en el termociclador se mantuvieron a 54°C durante 15 minutos, luego pasaron a 98°C por 5 minutos y por último en pausa a 20°C.

Para la etapa de reacción de PCR, se preparó la solución con 7,5μL de agua MiliQ, 2μL de *SALSA PCR* iniciador *mix* y 0,5μL de *SALSA* polimerasa. Las muestras fueron retiradas del termociclador, y fue añadido 10μL del *mix* de PCR a temperatura ambiente y con mínimo de luz posible. Inmediatamente las muestras fueron llevadas nuevamente al termociclador a 95°C por 30 segundos, 60°C por 30

segundos y 72°C por 60 segundos, repitiendo este proceso durante 35 ciclos. Por último a 72°C por 20 minutos y luego pausa a 15°C.

Después de la reacción de PCR, los productos fueron identificados a través de electroforesis capilar, utilizando el *Genetic Analyser 3500 (Applied Biosystem)*, con filtros de fluorescencia específicos, siguiendo el protocolo desarrollado por MRC-Holland. Para la identificación fue utilizado 0,7µL de la reacción de PCR, 0,2µL de 500 LIZ GS y 9,1µL de Formamida HiDi.

El software *Coffalyser* MLPA (<http://www.mrc-holland.com>) fue utilizado para el análisis de las muestras, mostrando la presencia o ausencia de grandes reordenamientos genómicos encontrados en las muestras de DNA. En caso de presencia de delección o duplicación, los valores deben ser de aproximadamente 0,5 y 1,5, respectivamente, comparados con el valor normal de 1,0.

6. RESULTADOS

6.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE LA POBLACIÓN FEMENINA ESTUDIADA

Según los datos epidemiológicos colectados en 2019, el 80,20% (n=952) de las mujeres de la población total estudiada de Missal son blancas, 16,51% (n=196) pardas y 1,52% negras (n=18). Al analizar los factores de riesgo en la población: el 21,15% (n=251) de las mujeres resultó ser obesa, siendo el Índice de Masa Corporal (IMC) del total de las mujeres 26,29, el 34,71% (n=412) consume alcohol, el 13,73% (n=163) es tabaquista, aproximadamente la mitad de la población, 49,45% (n=587) utiliza anticonceptivo hormonal, mientras que el 10,70% (n=127) utilizó tratamiento de reposición hormonal. Del total de mujeres, más de la mitad, 63,18% (n=750) posee parientes (1º, 2º o 3º grado) con algún tipo de cáncer, del cual el 12,05% (n=143) son mujeres con parientes con cáncer de mama.

A partir de los criterios de la NCCN, se identificó al subgrupo de cáncer de mama con sospecha de HBOC, con un total de 16 mujeres, con edad media de diagnóstico de 39,81. De las cuales son 81,25% (n=13) blancas y 18,75% (n=3) de color parda. El 12,5% (n=2) fueron clasificadas como obesas, y el IMC medio de las mujeres del grupo fue de 25,21. El consumo de alcohol fue relatado por el 43,75% (n=7) y el tabaquismo fue citado por 18,75% (n=3). El uso de anticonceptivo hormonal fue mencionado por 56,25% (n=9) de las mujeres, mientras que, la reposición hormonal fue apenas usado por el 6,25% (n=1) de las mujeres. En relación a la historia familiar de cáncer, las mujeres que presentaron algún pariente cercano (1º, 2º o 3º grado) con cáncer de mama fueron la mitad 50% (n=8) y finalmente el porcentaje de mujeres con algún pariente con cualquier tipo de cáncer (citados por ellas: cáncer de mama, pulmón, intestino, vejiga, leucemia, riñón, hígado, huesos, piel, esófago y cerebro) fue 93,75% (n=15).

El subgrupo de mujeres con cáncer de mama esporádico, conforman aquellas, total de 19 mujeres, que fueron excluidas del grupo anterior por no cumplir con los requisitos necesarios de los criterios de la NCCN. La edad media de diagnóstico de estas mujeres fue de 59,67. De las cuales el 94,73% (n=18) son blancas y apenas 5,26% (n=1) parda. Fueron identificadas como obesas el 10,53% (n=2), con el IMC medio de 27,01. El consumo de alcohol fue confirmado por 15,79% (n=3) y el tabaquismo fue citado por apenas 5,25% (n=1). El uso de anticonceptivo

hormonal fue afirmado por el 31,58% (n=6) de las mujeres, a la vez que, la reposición hormonal fue citado por 47,37% (n=9) de las mujeres. En tanto que, las mujeres que presentaron algún pariente (1°, 2° o 3° grado) con cáncer de mama fue apenas el 5,26% (n=1). Por último, las mujeres con parientes con cualquier tipo de cáncer (citados por ellas: mama, intestino, hígado, boca, esófago, leucemia, piel, huesos y cerebro) fue el 52,63% (n=10).

Entre las 16 mujeres del subgrupo de cáncer de mama con sospecha de HBOC, fueron identificadas 12 mujeres con más de un factor de riesgo diferente acumulado (Tabla 4), excluyendo la edad de diagnóstico ya que todas de este subgrupo fueron diagnosticadas a una edad temprana.

Tabla 2 – Factores de riesgo de la población femenina estudiada de Missal

Variables	Población femenina de Missal. N° total= 1.187 N° (%)
Raza/Color	952 blancas (80,20%) 196 pardas (16,51%) 18 negras (1,52%) 16 sin color definido (1,35%)
Obesidad	251 (21,15%)
IMC	26,29
Consumo de alcohol	412 (34,71%)
Tabaquismo	163 (13,73%)
Anticonceptivo hormonal	587 (49,45%)
Reposición hormonal	127 (10,70%)
Pariente cercano con cáncer de mama	143 (12,05%)
Pariente con cualquier tipo de cáncer	750 (63,18%)
Mujeres con sospecha de HBOC	16 (1,35%)
Mujeres con cáncer de mama esporádico	19 (1,60%)

Fuente: de la autora, 2021.

Tabla 3 – Comparación de factores de riesgo entre los subgrupos de mujeres con sospecha de HBOC y mujeres con cáncer esporádico.

Factores de riesgo	Mujeres con sospecha de HBOC. N° total = 16. N° (%)	Mujeres con cáncer de mama esporádico. N° total = 19. N° (%)
Edad de diagnóstico	39,81	59,67
Raza/Color	13 blancas (81,25%) 3 pardas (18,75%)	18 blancas (94,73%) 1 parda (5,26%)
IMC	25,21	27,01
Obesidad	2 (12,5%)	2 (10,53%)
Sobrepeso	5 (31,25%)	13 (68,42%)
Consumo de alcohol	7 (43,75%)	3 (15,79%)
Tabaquismo	3 (18,75%)	1 (5,26%)
Anticonceptivo hormonal	9 (56,25%)	6 (31,58%)
Reposición hormonal	1 (6,25%)	9 (47,37%)
Pariente cercano con cáncer de mama	8 (50%)	1 (5,26%)
Pariente con cualquier tipo de cáncer	15 (93,75%)	10 (52,63%)
Mujeres con otro tipo de cáncer	Cáncer de útero 2 (12,50%)	-

Fuente de la autora, 2021

Tabla 4 – Mujeres del subgrupo con cáncer de mama con sospecha de HBOC con factores de riesgo acumulados

N° de factores acumulados	Factores de riesgo	N° de mujeres
2	Sobrepeso + Historia familiar de otros cánceres	1
3	Tabaco + Alcohol + Anticonceptivo hormonal	1
	Sobrepeso + Historia familiar de otros cánceres + Anticonceptivo hormonal	1
	Historia familiar de cáncer de mama + Historia familiar de otros cánceres + Anticonceptivo hormonal	1
	Alcohol + Historia familiar de otros cánceres + Anticonceptivo hormonal	1

4	Alcohol + Historia familiar de cáncer de mama + Historia familiar de otros cánceres + Anticonceptivo hormonal	1
	Sobrepeso + Alcohol + Historia familiar de otros cánceres + Anticonceptivo hormonal	1
	Obesidad + Historia familiar de cáncer de mama + Historia familiar de otros cánceres + Anticonceptivo hormonal	1
	Obesidad + Tabaco + Alcohol + Historia familiar de otros cánceres	1
	Historia familiar de cáncer de mama + Historia familiar de otros cánceres + Anticonceptivo hormonal + Terapia de reposición hormonal	1
	Sobrepeso + Tabaco + Alcohol + Historia familiar de cáncer de mama	1
	Sobrepeso + Alcohol + Historia familiar de cáncer de mama + Anticonceptivo hormonal	1

Fuente de la autora, 2021

6.2 MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION (MLPA)

De las 35 mujeres diagnosticadas con cáncer de mama en la ciudad de Missal, 16 de ellas fueron elegibles para el rastreamiento genético, sin embargo, apenas 10 aceptaron participar del estudio. De las diez mujeres investigadas para grandes deleciones y amplificaciones, se consiguió resultados satisfactorios para 6 de las 10 mujeres, conforme muestra la Tabla 5.

Tabla 5 – Características de las mujeres del grupo HBOC sometidas a la prueba de MLPA.

Identificación	Edad	Grupo	Descendencia	Pele	Trabajo actual	Trabajo anterior
66	33	HBOC	Brasilera	Blanca	Jubilada	Vendedor
73	48	HBOC y CA útero	Brasilera	Blanca	Jubilada	Agricultora
79	50	HBOC	Alemana	Blanca	Agricultora	No declarado
94	39	HBOC	Brasilera	Parda	Doméstica	Tienda
96	44	HBOC	Alemana	Blanca	Auxiliar administrativo	No declarado
133	36	HBOC	No declarado	Blanca	Profesora	Agricultora

Fuente: de la autora, 2021

Nota: CA – cáncer

De los resultados de las 6 mujeres analizadas por MLPA, apenas una mujer, con identificación 94, presentó deleciones significativas en el exón 13 del gen BRCA1

(Figura 3 y Figura 4).

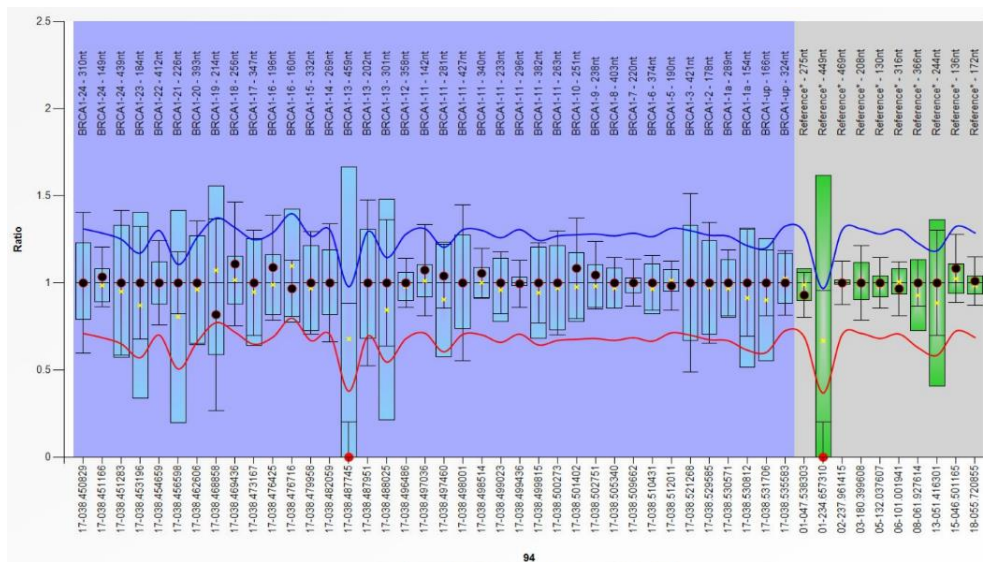
Figura 3 – Resultado de la muestra de la mujer 94 generado por el software Coffalyser

D [nt]	Gene-Exon	Chr.band	hg18 loc.	Height	Area	Ratio ^H	Stdev	[REF]	[Sam]	Width	d[nt]
310	BRCA1-24	17q21.31	17-038.450829	747	4084	1	0.2	=	=	34	0.0
149	BRCA1-24	17q21.31	17-038.451166	1141	5428	1.03	0.09	=	=	34	0.0
439	BRCA1-24	17q21.31	17-038.451283	551	3525	1	0.21	=	=	30	-0.1
184	BRCA1-23	17q21.31	17-038.453196	924	4550	1	0.16	=	=	36	0.0
412	BRCA1-22	17q21.31	17-038.454659	455	2774	1	0.12	=	=	31	-0.1
226	BRCA1-21	17q21.31	17-038.456598	1044	5088	1	0.09	=	=	38	0.0
393	BRCA1-20	17q21.31	17-038.462606	650	3952	1	0.18	=	=	35	0.0
214	BRCA1-19	17q21.31	17-038.468858	561	2712	0.82	0.27	=	=	23	0.0
256	BRCA1-18	17q21.31	17-038.469436	624	3093	1.11	0.18	=	=	29	-0.1
347	BRCA1-17	17q21.31	17-038.473167	667	3584	1	0.15	=	=	25	0.1
196	BRCA1-16	17q21.31	17-038.476425	836	3876	1.09	0.15	=	=	32	0.0
160	BRCA1-16	17q21.31	17-038.476716	475	2166	0.97	0.08	=	=	20	0.0
332	BRCA1-15	17q21.31	17-038.479958	555	3014	1	0.15	=	=	33	0.0
269	BRCA1-14	17q21.31	17-038.482059	685	3667	1	0.17	=	=	38	0.0
459	BRCA1-13	17q21.31	17-038.487745	0	0	0	0	<<**	<<**	0	0.0
202	BRCA1-13	17q21.31	17-038.487951	926	4370	1	0.24	=	=	35	0.0
301	BRCA1-13	17q21.31	17-038.488025	934	4940	1	0.18	=	=	39	0.0
358	BRCA1-12	17q21.31	17-038.496486	611	3462	1	0.07	=	=	29	0.0
142	BRCA1-11	17q21.31	17-038.497036	873	4247	1.07	0.13	=	=	34	0.0

Fuente: Software Coffalyser, 2021.

Nota: Delección significativa: <<**

Figura 4 – Resultado de la muestra 94 generado por el software Coffalyser para identificar deleciones y duplicaciones



Fuente: Software Coffalyser, 2021.

Notas: El eje y señala la relación de 0 a 2,5 que se asemeja a la curva gaussiana que indica la normalidad de las muestras. La línea roja indica el borde inferior arbitrario y la línea azul el borde superior arbitrario. Los bordes arbitrarios no son líneas rectas. Cuando una sonda cruza estos límites, es indicativo de una duplicación o delección. El círculo rojo representa la delección significativa (0,5) en el exón 13. Los círculos negros demuestran los exones en sus normalidades.

Tabla 6 – Deleciones en los exones del gen BRCA1 en mujeres con cáncer de mama sugestivo de HBOC de diferentes municipios del Brasil

Municipio	Delección de exón	Referencias
Porto Alegre, Rio de Janeiro, Salvador	ex 16, ex 17, ex 9-19	Ewald et al., 2016
Porto Alegre	ex 1-2, ex 3, ex 4-6, ex 8	Aleamar et al., 2017
Belém, Salvador, Vitória, Rio de Janeiro, São Paulo, Riberão Preto, Barretos, Porto Alegre, Amazonas, Minas Gerais, Rio Grande do Norte, Ceará e Santa Catarina	ex 1-2, ex 3, ex 4-6, ex 5-7, ex 8, ex 9-19, ex 14-16, ex 16-17, ex 18-19, ex 19, ex 21-23	Palmero et al., 2018
Missal	ex 13	Presente estudio, 2021

Fuente: de la autora, 2021.

Nota: ex – exón

7. DISCUSIÓN

Las mujeres con sospecha de HBOC presentaron características típicas de mujeres con cáncer de mama hereditario como edad de diagnóstico relativamente joven, siendo la edad media de diagnóstico de 39,81, variando entre 22 a 50 años, estando el 81,25% de las edades en el rango de 33 a 48 años. En tanto que, la edad media de diagnóstico de las mujeres con cáncer de mama esporádico fue de 59,67, entre las edades de 48 a 86 años, siendo que el 84,21% de las edades se encuentran en el rango de 50 a 71 años. Según el Ministerio de Salud Brasilerio (2021) y el INCA (2019) la edad es uno de los principales factores que aumentan el riesgo de desenvolver el cáncer de mama, siendo que mujeres más viejas tienen una mayor predisposición a desarrollar la enfermedad, principalmente a partir de los 50 años. Mientras que casos antes de los 35 - 40 años son considerados raros. Tal es así que el Ministerio de Salud Brasilerio recomienda que se realice la mamografía de rutina para la detección precoz recién a partir de los 50 a los 69 años. La diferencia de las medias de edades de diagnóstico de los subgrupos es evidente, aproximadamente de 20 años, la cual era esperada, una vez que las mujeres con cáncer de mama hereditario tienden a presentar la enfermedad a una edad más temprana a diferencia de aquellas mujeres que no poseen el factor hereditario.

El cáncer de mama y ovario hereditario son causados principalmente por mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2, los cuales son heredados verticalmente y presentan una herencia autosómica dominante (GONZÁLEZ-TESHIMA, 2016). En un estudio realizado por Peto et al. (1999) encontraron que en pacientes con cáncer de mama diagnosticadas antes de los 50 años de edad, la prevalencia de ser portadoras de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2, es de 3,1% y 3,0%, respectivamente. Mientras que, en las mujeres con cáncer de mama, diagnosticadas entre los 50 a 69 años, la prevalencia es menor para mutaciones en BRCA1 y BRCA2, de 0,49% y 0,84%, respectivamente. Por lo tanto, cuanto menor es la edad de diagnóstico, mayor es la prevalencia de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2. Este presente estudio refuerza estos hallazgos, una vez que, todas las mujeres con cáncer de mama con sospecha hereditaria de este estudio presentaron una edad de diagnóstico ≤ 50 años. Mientras que, las mujeres con cáncer de mama consideradas de forma esporádica, fueron diagnosticadas, a la edad de ≥ 50 años, excepto por una que fue diagnosticada a los 48 años.

Según el INCA (2019) incluso sin la identificación clara de mutaciones patológicas en estos genes, el riesgo de padecer la enfermedad se duplica en mujeres con parientes de primer grado (padres, hermanos o hijos) con cáncer de mama y un riesgo aún mayor en mujeres con parientes de primer grado diagnosticados antes de los 50 años en comparación con diagnóstico después de los 50 años. El riesgo aumenta aproximadamente 3 veces para aquellas mujeres que poseen dos parientes de primer grado con cáncer de mama. Mujeres con parientes de segundo grado (abuelos, tíos, etc.) con cáncer de mama presentan también riesgo aumentado, de uno a dos veces más de desenvolver la enfermedad (SOUZA et al., 1998). En este estudio, dentro del subgrupo de cáncer de mama con sospecha hereditaria, 8 (50%) mujeres presentaron historia familiar de cáncer de mama, de las cuales 3 mujeres poseen un pariente de 1° grado (con edades de diagnóstico de 51, 65 y 75 años, respectivamente). Una de estas mujeres presentó edad de diagnóstico de 34 años, que curiosamente, es la que posee el pariente de 1° grado con edad de diagnóstico de 51 años. Las otras dos mujeres presentaron edad de diagnóstico de 50 años.

Por otro lado, 3 mujeres con historia familiar de cáncer de mama, presentaron parientes de 2° grado, dos de estas con un pariente y una de ellas con dos parientes. La mujer con dos parientes de 2° grado presentó una edad de diagnóstico de 36 años y las otras dos mujeres de 39 y 48 años. Mientras que 2 mujeres presentaron un pariente de 3° grado, con edad de diagnóstico de 36 y 40 años. Estos datos encontrados concuerdan con la literatura, que la historia familiar (herencia genética) es el factor de riesgo más importante, determinante e inalterable, aún más poderoso que la edad (SILVA; CASALI-DA-ROCHA, 2014), una vez que la mitad de las mujeres con edad temprana de diagnóstico presentaron parientes de 1°, 2° y 3° grado con cáncer de mama. Mientras que en el grupo de mujeres con cáncer esporádico apenas una (5,26%) presentó historia familiar de cáncer de mama, con un pariente de 3° grado.

Vale destacar que el 75% de las mujeres del subgrupo de cáncer de mama con sospecha de HBOC, posee historia familiar para otros tipos de cánceres, sin incluir el cáncer de mama, como parientes con cáncer de pulmón, garganta, intestino, vejiga, riñón, esófago, piel, hígado, cerebro, huesos y leucemia. Mientras que, apenas 42,10% de las mujeres del otro subgrupo presentaron historia familiar para otros tipos de cánceres. Según varias fuentes (VAN ASPEREN et al. 2005; FIGUEIREDO, 2014; MERSCH et al., 2015; GONZÁLEZ-TESHIMA et al., 2016) mutaciones patológicas en

los genes BRCA1/2 encontradas en el HBOC aumentan el riesgo de padecer otros tipos de cánceres, principalmente, cáncer de próstata, páncreas, colorrectal y melanoma. Sin embargo, existen evidencias de que mutaciones en el gen BRCA2 pueden estar relacionados con cáncer de huesos, de la cavidad bucal, del sistema digestivo (esófago, estómago y otros), hígado, cerebro (VAN ASPEREN et al., 2005; MERSCH et al., 2015). Mientras que mutaciones en el BRCA1 han sido relacionadas con aumento de riesgo para cánceres de esófago, hígado, estómago y útero (MERSCH et al., 2015). Esas mutaciones en los genes BRCA1/2 pueden ser la explicación del elevado número de mujeres con parientes con cáncer de otros tipos, que incluyen los cánceres que fueron sido relacionados con mutaciones en los genes BRCA1/2.

La mayoría de las mujeres con cáncer de mama de ambos subgrupos fueron blancas: 81,25% de mujeres con cáncer de mama hereditario y 94,73% de mujeres con cáncer de mama esporádico. Estos porcentajes mayores de mujeres blancas con cáncer de mama en la ciudad de Missal eran esperados, una vez que la mayoría de la población femenina total estudiada es blanca 80,20%, ya que se trata de una población de ascendencia europea, siendo la mayoría de los colonizadores de Missal pertenecientes a la 2ª generación de inmigrantes alemanes (PREFEITURA MUNICIPAL DE MISSAL, 2021). Esta mayor frecuencia de cáncer de mama en mujeres blancas, corrobora con la literatura (REGIONAL PIAUÍ. Sociedade Brasileira de Mastologia, 2017; BORGHESAN; PELLOSO; CARVALHO, 2008), que el cáncer de mama predomina en mujeres de color piel blanca.

La obesidad es considerada como uno de los factores de riesgo para el cáncer de mama (INCA, 2019) como también el sobrepeso (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020; CARMO, 2015), debido al aumento del nivel de estrógeno producido en el tejido adiposo (SILVA; RIUL, 2011). En este estudio el subgrupo de mujeres con sospecha de HBOC y el subgrupo con cáncer de mama de forma esporádica, presentaron porcentajes similares de mujeres obesas, 12,5% y 10,53%, respectivamente. Al tiempo que, para el sobrepeso se puede observar una cantidad mayor de mujeres para el subgrupo con cáncer de mama esporádico, de 68,42%, mientras que el 31,25% de mujeres del subgrupo de HBOC tienen sobrepeso. En un estudio realizado por Taguchi (2016), con 151 mujeres con cáncer de mama del municipio de Recife, encontraron 31,1% de mujeres con sobrepeso y con 37,8% con obesidad. En otro estudio realizado por Oliveira et al. (2014), con 31 mujeres con

cáncer de mama del municipio de Belo Horizonte, encontraron 29% de mujeres con sobrepeso y 29% con obesidad. Comparando con estos estudios se puede observar que el porcentaje de obesidad de ambos subgrupos de este estudio es bastante inferior a los hallados por Taguchi (2016) y Oliveira et al (2014). El porcentaje de sobrepeso del subgrupo de HBOC es semejante a los hallados por estos autores, mientras que el porcentaje de sobrepeso para el grupo esporádico fue mucho mayor a los de la literatura.

El sobrepeso aumenta el riesgo del cáncer de mama en mujeres, posmenopáusicas, siendo la edad de ocurrencia de la menopausia generalmente entre los 48 a 50 años (BRASIL. Ministério da Saúde, 2008). En este estudio se puede observar que el grupo de mujeres con cáncer esporádico presentó un número elevado de mujeres con sobrepeso (68,42%), siendo este grupo de mujeres con edad de diagnóstico avanzada de 48 a 86 años, la mayoría de las cuales probablemente ya pasaron por la menopausia. Este hecho sugiere que el factor de sobrepeso causó un alto impacto de riesgo para el apareamiento de cáncer de mama en este grupo de mujeres. Para ambos grupos el porcentaje de obesidad fue bajo, indicando que en ambos casos la obesidad no fue un factor de alto impacto.

La obesidad y el sobrepeso, son factores modificables, que influyen no solo en el desarrollo del cáncer de mama sino también en la progresión y sobrevivencia de aquellas mujeres con cáncer de mama obesas o con sobrepeso (EMAUS et al., 2010). En mujeres con sobrepeso y obesidad, la aromatasa, enzima productora de estrógeno, relacionada con la adiposidad, acelera la producción de estrógenos, factor clave en la carcinogénesis mamaria (EMAUS et al., 2010). De esa forma, es importante resaltar la adopción de hábitos saludables mismo después del diagnóstico de cáncer, como por ejemplo, una alimentación saludable, con mayor consumo de vegetales y frutas, menor ingestión de gordura, una vez que ayuda a la reducción de los niveles séricos de estrógeno (OLIVEIRA et al., 2014). La realización de ejercicios físicos, principalmente ejercicios de resistencia, que además de ayudar a bajar de peso, aumenta la masa muscular, ya que la sarcopenia también disminuye la sobrevivencia de mujeres con cáncer de mama (CAAN et al., 2018).

Para el consumo de alcohol en cualquier cantidad y el hábito de fumar, el subgrupo de mujeres con cáncer de mama esporádico presentó 15,79% y 5,26%, respectivamente, mientras que el 43,75% del subgrupo de mujeres con cáncer de mama hereditario indicaron consumir alcohol y 18,75% afirmaron ser tabaquistas.

Para ambos grupos el uso de tabaco fue bajo, como también el consumo de alcohol para el grupo de cáncer esporádico. Apenas el consumo de alcohol para el grupo de HBOC fue relevante. En una investigación realizada por Dugno et al. (2011), en un grupo de 273 pacientes con cáncer de mama del municipio de Caxias do Sul, encontraron también un mayor número de individuos no tabaquistas y no etilistas.

Varias instituciones como el INCA (2020) afirman que el tabaco es uno de los factores de riesgo para el cáncer de mama, ya que posee compuestos, como los hidrocarburos policíclicos, aminas aromáticas y N-nitrosaminas, que pueden inducir tumores mamarios (LUO et al., 2011). Sin embargo, varios estudios epidemiológicos, sostienen que no existe una asociación entre el tabaquismo y el riesgo de cáncer de mama (DUGNO et al., 2011; IARC, 2004). Otros estudios resaltan que sí existe un riesgo mayor de cáncer de mama en mujeres que fumaron cigarrillos durante un periodo prolongado o que comenzaron a fumar a una edad temprana (LUO et al., 2011; IARC, 2004). Esto último podría ser el caso de las 3 mujeres del grupo de cáncer de mama con HBOC, ya que estas 3 (18,75%) mujeres fueron tabaquistas durante un largo periodo de tiempo: 30, 30 y 37 años, respectivamente. De esa forma, se puede confirmar que el tabaco causa mayor riesgo de cáncer de mama en fumadores de largos periodos de tiempo.

El consumo de alcohol aumenta el riesgo, de 30% a 50%, para el cáncer de mama en mujeres pre-menopaúsicas como pos-menopaúsicas, sin un nivel mínimo identificado (MCDONALD et al., 2013; WCRF, 2018), mediante diversos mecanismos, actuando como carcinogénico al aumentar la permeabilidad de la membrana celular a carcinógenos, como también puede actuar como mutagénico, aumentando los niveles séricos de estrógenos (INUMARU, 2011). En este estudio se encontró una evidente relación entre el consumo de alcohol con aquellas mujeres con HBOC, por lo que representa un factor de riesgo importante para este grupo. Una posible explicación para esta relación, puede ser explicada por el efecto gen-ambiente, una vez que el alcohol podría actuar de forma sinérgica con las mutaciones del gen BRCA2, aumentando el riesgo de cáncer de mama, en comparación con aquellas sin mutaciones (DENNIS et al., 2011). Sin embargo, la asociación del riesgo de cáncer de mama entre mujeres con mutaciones en los genes BRCA1/2 y el consumo de alcohol varían según diversos estudios realizados (COLETTA et al., 2020).

El uso de anticonceptivo hormonal fue utilizado por más de la mitad (56,25%) de las mujeres del grupo con sospecha de HBOC, mientras que el 31,58%

de las mujeres del grupo de cáncer de mama esporádico afirmaron utilizar. El anticonceptivo hormonal aumenta el riesgo para el cáncer de mama, hasta 10 años después de haber usado, debido a que aumenta la proliferación tanto de células epiteliales normales como de las células malignas presentes en el tejido mamario (PINHO; COUTINHO, 2005). Algunos estudios con mujeres jóvenes han demostrado que el uso prolongado de anticonceptivos hormonales aumenta el riesgo del cáncer de mama en mujeres <45 años (ALTHUIS et al., 2003; PINHO; COUTINHO, 2005; WHITE, 2018). Curiosamente, de las 9 (56,25%) mujeres que afirmaron hacer uso de anticonceptivos hormonales del grupo con sospecha de HBOC, 8 de ellas presentaron edad de diagnóstico antes de los 45 años, entre los 33 a 44 años, con excepción de una mujer con edad de diagnóstico a los 50 años. También 8 de las mujeres utilizaron por un periodo de largo tiempo, de 10 a 29 años. En cuanto que todas las mujeres que afirmaron hacer uso de anticonceptivos hormonales del otro grupo, presentaron una edad de diagnóstico >45 años, entre 48 a 58 años, siendo que apenas dos de ellas utilizaron por un periodo de largo tiempo, de 20 y 22 años. A partir de estos hallados se puede sostener que el uso de anticonceptivos hormonales efectivamente aumenta el riesgo de cáncer de mama, en especial en aquellas mujeres con edad <45 años y con uso prolongado.

Por último, para el tratamiento de reposición hormonal, se encontró un mayor número de mujeres (47,37%) para el grupo de cáncer de mama esporádico que para el grupo de mujeres con HBOC, con apenas una (6,25%). La terapia de reposición hormonal utiliza hormonas sexuales, tipos de estrógeno y progesteronas o combinaciones de estas, para aliviar los síntomas de la menopausia (VINOGRADOVA, 2020). Sin embargo, el estrógeno y progesterona exógenos son considerados carcinógenos (CAGLIANO et al., 2005). En un estudio realizado por Hou et al. (2013) encontraron una asociación positiva entre el uso de terapia de reposición hormonal y el riesgo de cáncer de mama en mujeres de 50 años o más, mientras que para mujeres más jóvenes, de 45 a 49 años, no se encontró asociación. En este estudio, 8 de las 9 mujeres que afirmaron usar o haber usado terapia de reposición hormonal, presentaron una edad de diagnóstico >50 años, entre 50 a 71 años, siendo que apenas 1 fue a los 48 años. De esa forma, se puede afirmar que en este estudio la terapia de reposición hormonal fue un factor de riesgo importante para mujeres con edad >50 años.

Grandes reordenamientos genómicos son responsables por el 0 a 36% de todas las mutaciones en BRCA1 causantes del HBOC identificados en varias poblaciones (EDWALD et al., 2009). GRG fueron ya identificados en poblaciones brasileras, en un estudio realizado por Ewald et al. (2016) con 145 pacientes brasileras con cáncer de mama sugestivo de HBOC de tres municipios del Brasil (Porto Alegre, Rio de Janeiro y Salvador), en el cual investigaron reordenamientos en los genes BRCA1 y BRCA2 a través de MLPA, encontraron deleciones del exón 16, exón 17 y exones 9-19 en el gen BRCA1, con una frecuencia general de reordenamientos en ambos genes de 3,44%, concluyendo que los reordenamientos son poco comunes en la población mixta de Brasil. En otro estudio realizado por Alemar et al. (2017) con mujeres brasileras del municipio de Porto Alegre: 330 con cáncer de mama, 37 con cáncer de ovario y 54 sin cáncer pero que cumplieron los criterios de la NCCN para HBOC, mediante el test de MLPA, encontraron cuatro GRG distintos en el gen BRCA1 de 51 pacientes, los cuales fueron deleciones de los exones 1-2, exón 3, exones 4-6 y del exón 8. Siendo la prevalencia de GRG de 1,19%. En el 2018, Palmero et al. realizaron un estudio mayor que incluyó 649 probandos de un total de 11 estados brasileros. Descubrieron un total de once GRG, siendo todos deleciones: de los exones 1-2, exón 3, exones 4-6, exones 5-7, exón 8, exones 9-19, exones 14-16, exones 16-17, exones 18-19, exón 19 y exones 21-23. Siendo la prevalencia final de GRG en el gen BRCA1 y BRCA2 de 4,9%.

En este presente estudio apenas 1 de las 6 mujeres que fueron sometidas al test de MLPA presentó un GRG que fue la deleción en el exón 13. Esta baja presencia de GRG en este estudio no significa necesariamente que el cáncer de mama de estas mujeres no esté relacionado al factor hereditario, como ya fue demostrado por varios estudios en otras regiones del Brasil que la prevalencia de GRG en mujeres afectadas con cáncer de mama sugestivo de HBOC es baja, una vez que el porcentaje de GRG no pasa de 5% de todas las mutaciones en la población brasileras (EWALD et al., 2016; ALEMAR et al., 2017; PALMERO et al., 2018). De esa forma, es posible que estas otras mujeres tengan otros tipos de mutaciones en el gen BRCA1 o BRCA2 que son más comunes en mujeres con HBOC, como pequeñas deleciones o variantes de un solo nucleótido, o incluso en otros genes que también están relacionados al HBOC (PALMERO et al., 2018). Sin embargo, como la técnica de MLPA se limita a identificar grandes duplicaciones y deleciones en los genes, sería necesario utilizar otra técnica que posibilite la identificación de mutaciones puntuales,

para una mejor interpretación entre la historia familiar y las mutaciones en el gen BRCA1. Como eso no fue el objetivo de este trabajo, no se realizaron otros estudios para confirmar tal hipótesis.

Por otro lado, los tipos de GRG varían entre los diferentes municipios del Brasil sugiriendo que existe una gran heterogeneidad molecular en el gen BRCA1. El gen BRCA1 posee 24 exones, siendo que ya fueron descritos deleciones en la mayoría de los exones (Tabla 6). Por lo que deleciones en los exones del gen BRCA1 en pacientes con cáncer de mama sugestivo de HBOC son comunes en la población brasilera, como demostrado por estudios mencionados previamente y en este presente estudio.

Curiosamente la mujer con deleción en el exón 13 de este presente estudio, prácticamente no poseía ningún factor de riesgo externo, ya que no es obesa ni tiene sobrepeso (IMC=21,91), no es tabaquista ni consume alcohol. No utiliza anticonceptivos hormonales ni realizó terapia de reposición hormonal. Se dedica al trabajo doméstico y anteriormente trabajaba en una tienda. Sin embargo, posee historia familiar de cáncer de mama: una tía (2° grado) que fue diagnosticada a los 50 años, como también posee historia familiar para otros cánceres: cáncer de pulmón (tía – 2° grado), cáncer de intestino (tía – 2° grado) y cáncer de vejiga (tío – 2° grado). Sumando a esto, su edad de diagnóstico fue de 39 años. Por lo tanto, a través de su historia personal e historia familiar de cáncer de mama se puede concluir que se trata efectivamente de HBOC.

Según Clark et al. (2012) las mutaciones en BRCA1 ocurren con frecuencia en las regiones génicas correspondientes a los dominios BRCT, RING, y en los exones 11-13 que cubren más del 65% de la secuencia de BRCA1. A pesar de que aún no existan datos estructurales disponibles para los aminoácidos codificados por los exones 11-13, se sabe que codifican dos secuencias de localización nuclear (NLS) como también sitios de unión para varias proteínas, como la proteína retinoblastoma (RB), cMyc, Rad50 y Rad51 (Clark et al., 2012). Curiosamente, estas proteínas de unión están involucradas en una amplia gama de vías celulares, la proteína RB controla la progresión del ciclo celular, cMyc es un factor de transcripción para varios genes, mientras que Rad50 y Rad51 actúan en la reparación del ADN (Clark et al., 2012).

Por otro lado, existen formas no naturales de splicing alternativo del gen BRCA1, resultantes de mutaciones específicas que fueron identificadas en familias

con mutaciones en BRCA1 (Li et al., 2019). En un estudio realizado por Li et al. (2019) encontraron que transcripciones de splicing del gen BRCA1 con delección del exón 13 están expresas en niveles mucho más altos en los tumores de mama que en controles sanguíneos saludables. De esa manera, se puede concluir que mutaciones en el exón 13, en especial pérdidas de grandes porciones de la secuencia, tienen efectos deletéreos, siendo por lo tanto una región importante para la función supresora de tumores de BRCA1 (CLARK et al., 2012).

8. CONSIDERACIONES FINALES

El grupo de mujeres con cáncer de mama sugestivo de HBOC presentó características típicas de HBOC como edad de diagnóstico temprano, siendo la edad media de diagnóstico de 39,81 años, e historia familiar de cáncer de mama. La mitad de las mujeres de este grupo presentaron parientes de 1°, 2° o 3° grado con cáncer de mama. Mientras que el grupo de cáncer de mama esporádico presentó una edad de diagnóstico mayor, de 59,67 años, y apenas una mujer de este grupo presentó historia familiar de cáncer de mama con un pariente de 3° grado. A partir de estos datos se puede concluir que efectivamente la herencia genética es un factor importante y determinante para aquellas mujeres con historia familiar de cáncer de mama.

Con relación a los factores de riesgo extrínsecos, el grupo de cáncer de mama sugestivo de HBOC presentó porcentajes altos para el consumo de alcohol (43,75%) y el uso de anticonceptivo hormonal (56,25%). En tanto que el grupo de mujeres con cáncer de mama esporádico presentó porcentajes altos para el tratamiento de reposición hormonal (47,37%) y sobrepeso (68,42%). Estos hallados sugieren que el consumo de alcohol y uso de anticonceptivo hormonal, el tratamiento de reposición hormonal y sobrepeso, fueron factores de riesgo importantes para el desarrollo del cáncer, en los grupos de cáncer de mama sugestivo de HBOC y cáncer de mama esporádico, respectivamente. Como se trata de factores externos que pueden ser modificables, es importante la adopción de hábitos saludables mismo después del diagnóstico de cáncer, como alimentación saludable, abandonar el consumo de alcohol y uso de las hormonas, una vez que estos factores influyen también en la sobrevivencia de las mujeres con cáncer de mama.

Por otro lado, dentro del grupo de mujeres con cáncer de mama sugestivo de HBOC, no se encontró un alto porcentaje de grandes reordenamientos genómicos, con apenas una mujer con delección en el exón 13. Sugiriendo por tanto que el cáncer de mama sugestivo de HBOC, identificado en la población femenina de Missal, no se debe a los grandes reordenamientos genómicos en el gen BRCA1. Cabe destacar que este hallado no significa que el grupo de mujeres con cáncer de mama sugestivo de HBOC no posea mutaciones en el gen BRCA1, sino que tal vez estas mujeres posean otras mutaciones, como pequeñas delecciones o variantes de un solo nucleótido, que

son más comunes en la población brasilera, como comprobado por otros estudios realizados en otras regiones del Brasil.

Finalmente, la mujer que presentó la delección en el exón 13, no poseía factores de riesgo externos, sino que solamente poseía historia familiar de cáncer de mama, sugiriendo por tanto, que el cáncer de mama de esta mujer está directamente relacionado a la delección en el exón 13 en el gen BRCA1. El exón 13 posee en su secuencia sitios de ligación de proteínas con funciones de regulación celular y reparación del ADN, por lo que la pérdida de una secuencia grande del exón 13, puede causar efectos deletéreos como el cáncer de mama. De esa forma, se puede considerar que el exón 13 es una región importante para la función supresora de tumores del gen BRCA1.

REFERENCIAS

ALEMAR, Bárbara et al. BRCA1 and BRCA2 mutational profile and prevalence in hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) probands from Southern Brazil: Are international testing criteria appropriate for this specific population?. **PLOS One**, v. 12, n. 11, p. e0187630, 2017.

ALTHUIS, M. D. et al. Hormonal content and potency of oral contraceptives and breast cancer risk among young women. **British journal of cancer**, v. 88, n. 1, p. 50-57, 2003.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **How common is breast cancer?**. Disponible en: <<https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/about/how-common-is-breast-cancer.html>>. Accedido en: 20 de ago. de 2019.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Lifestyle-related Breast Cancer Risk Factors**. Disponible: <<https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/risk-and-prevention/lifestyle-related-breast-cancer-risk-factors.html>>. Accedido en: 10 de mayo de 2021.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Treating Breast Cancer**. Disponible en: <<https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/treatment.html>>. Accedido en: 7 de oct. de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Câncer de mama**. Disponible en: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/c/cancer-de-mama>>. Accedido en: 15 de mayo de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Câncer de mama: sintomas, tratamentos, causas e prevenção**, 2019. Disponible en: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/cancer-de-mama#tratamento>>. Accedido en: 5 de oct. de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes para a Detecção Precoce do Câncer de Mama no Brasil**. Rio de Janeiro: 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes para a Detecção Precoce do Câncer de Mama no Brasil**. Rio de Janeiro: 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Atenção à Mulher no Climatério/Menopausa**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008.

BORGHESAN, D. H. P.; PELLOSO, S. M.; CARVALHO, M. D. B. Câncer de mama e fatores associados. **Ciência, Cuidado e Saúde**, v. 7, p. 62-68, 2008.

CAAN, Bette J. et al. Association of muscle and adiposity measured by computed tomography with survival in patients with nonmetastatic breast cancer. **JAMA oncology**, v. 4, n. 6, p. 798-804, 2018.

CAGLIANO, V. et al. Carcinogenicity of combined estrogen-progestagen contraceptives and hormone replacement therapy. **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**, v. 91, 2005.

CARMO, Patrícia Oliveira. **Sobrevida de mulheres com câncer de mama subtipo luminal assistidas em Juiz de Fora, MG**. 2015

CLARK, S. L. et al. Structure-function of the tumor suppressor BRCA1. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 1, n. 1, p. e201204005, 2012.

COLETTA, Adriana M. et al. Diet, weight management, physical activity and Ovarian & Breast Cancer Risk in women with BRCA1/2 pathogenic Germline gene variants: systematic review. **Hereditary cancer in clinical practice**, v. 18, n. 1, p. 1-24, 2020.

CURY, Nathália Moreno. **Investigação de Mutações no Gene BRCA1 em Famílias Brasileiras com Suspeita da Síndrome Hereditária do Câncer de Mama e/ou Ovário**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DANTAS et al. Genética do Câncer Hereditário. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.55, 2009.

DENNIS, Jessica et al. Breast Cancer Risk in Relation to Alcohol Consumption and BRCA Gene Mutations—A Case-Only Study of Gene-Environment Interaction. **The breast journal**, v. 17, n. 5, p. 477-484, 2011.

DIAS, Margarida Figueiredo. **Tumores hereditários da mama**. 2010. Disponible en: <http://www.fspog.com/fotos/editor2/cap_32.pdf>. Accedido en: 25 de mayo de 2021.

DUFLOTH, R. M. et al. Analysis of BRCA1 and BRCA2 mutations in Brazilian breast cancer patients with positive family history. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 123, n. 4, p. 192-197, 2005.

EMAUS, Aina et al. Metabolic profile, physical activity, and mortality in breast cancer patients. **Breast cancer research and treatment**, v. 121, n. 3, p. 651-660, 2010.

EWALD, I. P. et al. BRCA1 and BRCA2 rearrangements in Brazilian individuals with Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome. **Genetics and molecular biology**, v. 39, n. 2, p. 223-231, 2016.

EWALD, I. P. et al. Genomic rearrangements in BRCA1 and BRCA2: a literature review. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 3, p. 437-446, 2009.

EWALD, I. P. **Rastreamento de mutações patogênicas nos genes BRCA1 e BRCA2 em pacientes brasileiras em risco para a síndrome de câncer de mama e ovário hereditários**. 2008. Tese de Mestrado.

FIGUEIREDO, M. C. P. **Câncer de mama hereditário: rastreamento de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 e busca de novos genes de susceptibilidade**. 2014. Tese de Doutorado.

GÓMEZ, A. José Luis Soto: «El peligro está al acecho, pero podemos defendernos». **Feedback Ciencia**, 2011. Disponible en: <<https://www.feedbackciencia.com/jose-luis-soto-el-peligro-esta-al-acecho-pero-podemos-defendernos/>>. Accedido en: 13 de jun. de 2021.

GONZÁLEZ-TESHIMA, L. Y. et al. Síndrome de câncer hereditario de mama y ovario: aplicação clínica. **Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología**, v. 67, n. 1, p. 36-49, 2016.

HANSEN, T.O. et al. Large BRCA1 and BRCA2 genomic rearrangements in Danish high risk breast-ovarian cancer families. **Breast cancer research and treatment**, v. 115, n. 2, p. 315-323, 2009.

HEMMINKI, A.; HEMMINKI, K. The genetic basis of cancer. In: **Cancer Gene Therapy**. Humana Press, 2005. p. 9-18.

HOU, Ningqi et al. Hormone replacement therapy and breast cancer: heterogeneous risks by race, weight, and breast density. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 105, n. 18, p. 1365-1372, 2013.

INCA. **A situação do Câncer de mama no Brasil: síntese de dados dos sistemas de informação**. Rio de Janeiro: INCA, 2019.

INCA. **Conceito e magnitude**. Disponible en: <<https://www.inca.gov.br/controlado-cancer-de-mama/conceito-e-magnitude>>. Accedido en: 20 de mayo de 2021.

INCA. **Detecção precoce**. Disponible en: <<https://www.inca.gov.br/controlado-cancer-de-mama/acoes-de-controlado/deteccao-precoce>>. Accedido en: 10 de mayo de 2021.

INCA. **Estatísticas do câncer**. Disponible en: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>>. Accedido en: 25 de mayo de 2021.

INCA. **Estimativa 2020 – Incidência de Câncer no Brasil**. Disponible en: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>>. Accedido en: 10 de mayo de 2021.

INCA. **Tabagismo e saúde da mulher**. Disponible en: <<https://www.inca.gov.br/tabagismo/saude-da-mulher>>. Accedido en: 14 de mayo de 2021.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Estimated number of incident cases and deaths worldwide, both sexes, all ages.** Disponible en: <<http://gcaMENo.iarc.fr/today/home>>. Accedido en: 25 de mayo de 2021.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Estimated number of incident cases and deaths worldwide, females, all ages. Disponible en: <<http://gco.iarc.fr/today/home>>. Accedido en: 25 de mayo de 2021.

IARC, Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. **Tobacco smoke and involuntary smoking.** Lyon: IARC Press, 2004.

INUMARU, Livia Emi; SILVEIRA, Érika Aparecida da; NAVES, Maria Margareth Veloso. Fatores de risco e de proteção para câncer de mama: uma revisão sistemática. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, p. 1259-1270, 2011.

KAMIŃSKA, M. et al. Breast cancer risk factors. **Przeгляд menopauzalny= Menopause review**, v. 14, n. 3, p. 196, 2015.

LI, D. et al. BRCA1—no matter how you splice it. **Cancer research**, v. 79, n. 9, p. 2091-2098, 2019.

LOURENÇO, J. J. et al. BRCA1 mutations in Brazilian patients. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 4, p. 500-504, 2004.

LUO, Juhua et al. Association of active and passive smoking with risk of breast cancer among postmenopausal women: a prospective cohort study. **Bmj**, v. 342, 2011.

LYNCH, H. T. et al. Hereditary breast cancer: part I. Diagnosing hereditary breast cancer syndromes. **The breast journal**, v. 14, n. 1, p. 3-13, 2008.

MCDONALD, Jasmine A.; GOYAL, Abhishek; TERRY, Mary Beth. Alcohol intake and breast cancer risk: weighing the overall evidence. **Current breast cancer reports**, v. 5, n. 3, p. 208-221, 2013.

MERSCH, Jacqueline et al. Cancers associated with BRCA 1 and BRCA 2 mutations other than breast and ovarian. **Cancer**, v. 121, n. 2, p. 269-275, 2015.

NAROD, S. A.; RODRÍGUEZ, A. A. Predisposición genética para el cáncer de mama: genes BRCA1 y BRCA2. **Salud pública de México**, v. 53, p. 420-429, 2011.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, NIH. **Genetics Home Reference: BRCA1 gene.** Maryland, 2019. Disponible en: <<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA1#location>>. Acceso en: 28 de ago. de 2019.

OLIVEIRA, D. R. de et al. Avaliação nutricional de pacientes com câncer de mama atendidas no Serviço de Mastologia do Hospital das Clínicas, Belo Horizonte (MG), Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, p. 1573-1580, 2014.

PALMERO, E. I. et al. The germline mutational landscape of BRCA1 and BRCA 2 in Brazil. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2018.

PETO, J. et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in patients with early-onset breast cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 91, n. 11, p. 943-949, 1999.

PINHO, M. **Biologia Molecular do Câncer: Fundamentos para a prática médica.** Rio de Janeiro. Revinter, 2007

PINHO, Valéria Fernandes de Souza; COUTINHO, Evandro da Silva Freire. Risk factors for breast cancer: a systematic review of studies with female samples among the general population in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, p. 351-360, 2005.

PREFEITURA MUNICIPAL DE MISSAL. **O Município.** Disponible en: <<https://www.missal.pr.gov.br/municipio/historia>>. Accedido en: 15 de mayo de 2020.

REGIONAL PIAUÍ. **Sociedade Brasileira de Mastologia: Câncer de Mama.** Teresina: EDUFPI, 2017.

RISCH, H. A. et al. Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. **The American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 3, p. 700-710, 2001.

SAGNA, T. et al. Identification of BRCA1/2 p. Ser1613Gly, p. Pro871Leu, p. Lys1183Arg, p. Glu1038Gly, p. Ser1140Gly, p. Ala2466Val, p. His2440Arg variants in women under 45 years old with breast nodules suspected of having breast cancer in Burkina Faso. **Biomolecular concepts**, v. 10, n. 1, p. 120-127, 2019.

SILVA, André da; CASALI-DA-ROCHA, José Claudio. Síndromes de câncer de mama e ovário hereditárias: O que fazer em 2015?. **Rev Bras Mastologia**, v. 24, n. 3, p. 82-87, 2014.

SILVA, Pamella Araújo da; RIUL, Sueli da Silva. Câncer de mama: fatores de risco e detecção precoce. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 64, n. 6, p. 1016-1021, 2011.

SOUZA, R. M. de et al. História familiar em segundo grau como fator de risco para câncer de mama. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 20, n. 8, p. 469-473, 1998.

TAGUCHI, L. C. **Obesidade e status inflamatório em pacientes com câncer de mama**. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

VAN ASPEREN, C. J. et al. Cancer risks in BRCA2 families: estimates for sites other than breast and ovary. **Journal of medical genetics**, v. 42, n. 9, p. 711-719, 2005.

VINOGRADOVA, Yana; COUPLAND, Carol; HIPPISEY-COX, Julia. Use of hormone replacement therapy and risk of breast cancer: nested case-control studies using the QResearch and CPRD databases. **bmj**, v. 371, 2020.

WHITE, Nicole D. Hormonal contraception and breast cancer risk. **American journal of lifestyle medicine**, v. 12, n. 3, p. 224-226, 2018.

World Cancer Research Fund (WCRF) – American Institute for Cancer Research. **Alcoholic drinks and the risk of cancer, 2018.** Disponible en: <<https://www.wcrf.org/wp-content/uploads/2021/02/Alcoholic-Drinks.pdf>>. Accedido en: 12 de mayo de 2021.

WU, J. et al. The role of BRCA1 in DNA damage response. **Protein & cell**, v. 1, n. 2, p. 117-123, 2010.

ANEXOS

ANEXO 1

Criterios del NCCN para la aplicación del test genético - *Clinical Practice Guidelines in Oncology*

- Individuos de familias con histórico de mutación en los genes BRCA1 y/o BRCA2.
- Historial personal de cáncer de mama + 1 o más características descritas a continuación:
 - Edad de diagnóstico ≤ 45 años;
 - Edad de diagnóstico ≤ 50 años, con ≥ 1 pariente cercano (1^o, 2^o y 3^o grado) con cáncer de mama ≤ 50 años y/o ≥ 1 pariente cercano (1^o, 2^o y 3^o grado) con cáncer epitelial de ovario, cáncer de trompa de Falopio o cáncer peritoneal primario a cualquier edad;
 - Dos cánceres de mama primarios, el primero diagnosticado antes de los 50 años;
 - Edad de diagnóstico <60 años con cáncer de mama triple negativo;
 - Edad de diagnóstico <50 años con antecedentes familiares limitados;
 - Diagnóstico a cualquier edad con ≥ 2 parientes cercanos (1^o, 2^o y 3^o grado) con cáncer de mama y/o cáncer epitelial de ovario, cáncer de trompa de falopio o cáncer peritoneal primario a cualquier edad;
 - Un pariente cercano (1^o, 2^o y 3^o) de sexo masculino con cáncer de mama;
 - Historia personal de cáncer epitelial de ovario, cáncer de trompa de falopio o cáncer peritoneal primario;
 - Etnias de alto riesgo (Judíos Ashkenazi, Islandeses, Suecos, Húngaros, etc.)
 - Antecedentes personales de cáncer epitelial de ovario, cáncer de trompa de falopio o cáncer peritoneal primario a cualquier edad;

- Historia personal de cáncer de mama en hombres;
- Historial personal de cáncer de seno y/u ovario a cualquier edad con 2 o más parientes cercanos (1º, 2º y 3º grado) con cáncer de páncreas a cualquier edad;
 - Antecedentes personales de cáncer de páncreas a cualquier edad con 2 o más parientes cercanos (1º, 2º y 3º grado) con cáncer de mama y/o de ovario y/o pancreático en cualquier edad;
 - Historia familiar:
 - Algún pariente cercano (1º y 2º grado) de la familia que cumpla con uno de los criterios anteriores.
 - Pariente de 3º grado con cáncer de mama/ovario/ trompa de falopio /peritoneal primario con 2 o más parientes cercanos (1º, 2º y 3º grado) con cáncer de mama u ovario, siendo al menos un pariente con cáncer de mama con 50 años o menos.

ANEXO 2



UNIVERSIDAD FEDERAL DE LA INTEGRACIÓN
LATINOAMERICANA

TÉRMINO DE CONSENTIMIENTO LIBRE Y ESCLARECIDO PARA REALIZACIÓN DEL TEST GENÉTICO

TÍTULO DEL PROYECTO: Establecimiento del Perfil de Padecimiento Oncológico de la Población de Missal.

Este proyecto pretende identificar mutaciones (alteraciones) génicas en pacientes y en sus familiares con sospecha del Síndrome Hereditario de Cáncer, residentes en Missal y asistidos por el Sistema Único de Salud.

Para participar de la investigación, será realizada la retirada de 10 ml de sangre por una punción de una vena del brazo. El local de punción puede presentar leve dolor o hinchazón que desaparecen espontáneamente. En el laboratorio de investigación en Ciencias Médicas de la Universidad de la Integración Latinoamericana, la sangre será utilizada para la extracción del DNA y análisis celulares y de genes relacionados al cáncer hereditario que sean prevalentes en la población de Missal. El material quedará guardado en freezer por tiempo indeterminado y no será disponible para otras investigaciones sin su previa autorización.

Su identidad y las informaciones obtenidas durante la investigación serán confidenciales y solamente miembros del equipo tendrán acceso durante el proceso, entre tanto, usted no es obligado a continuar participando del proyecto y puede en cualquier momento pedir para que sus datos no sean parte de la investigación. También podrá solicitar, particularmente, sus datos, los datos referentes al análisis de su DNA y orientación adicional, proporcionados por el investigador. Además, no habrá ningún costo por usted estar participando en este trabajo, por tanto, no habrá ninguna forma de pago por su participación.

Así, declaro que fui aclarado:

- Sobre las características del Síndrome del Cáncer

- Sobre la garantía de recibir respuesta a cualquier pregunta o aclaramiento sobre procedimientos, riesgos, beneficios y las limitaciones del test genético al cual seré sometido;
- Sobre mi libertad en retirar mi consentimiento en cualquier momento sin que eso traiga perjuicio al acompañamiento médico y continuidad de mi tratamiento;
- Sobre el no recibimiento de ningún tipo de remuneración financiera;
- Sobre la seguridad de que mi identidad será preservada, que todas las informaciones por mi proporcionadas serán confidenciales, y que el DNA de mi sangre almacenado en el laboratorio será utilizado para este proyecto.

Estoy de acuerdo en participar de este estudio:

Foz de Iguazu, _____ de _____ de _____.

Nombre del paciente: _____

Local de Nacimiento: _____ Fecha de nacimiento: ____/____/____

Dirección: _____

Ciudad: _____ PEstado: _____ Teléfono: _____

Firma del paciente o responsable: _____

Firma del paciente o responsabe: _____

Teléfono para contacto: (45) 3529-2761