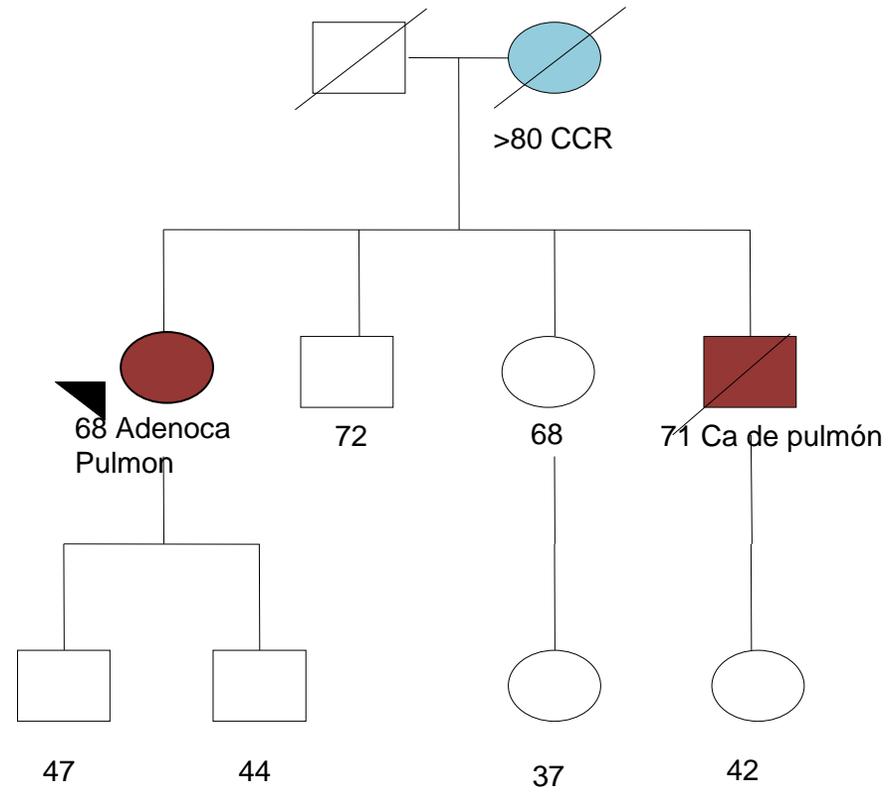


# Caso Clínico 1

- Mujer de 68 años (2017) afecta de un adenocarcinoma de pulmón estadio IV.  
En tejido: EGFR (delección exón19), PDL 1% Recibe 2 líneas de tratamiento : 1ª ensayo, 2ª afatinib  
Antecedentes Exfumadora (consumo acumulado: 3 paquetes/año). DM tipo II.  
Cistoadenoma seroso de ovario derecho: anexectomía (2009).  
Melanomas in situ de extensión superficial en espalda y brazo izquierdo (08/05/08)
- Historia familiar: Madre fallecida por cáncer de colon >80 años , hermano fallecido de cáncer de pulmón 71 años. Tiene 2 hijos varones sanos.
- En el 2019 como *prescreening* de un ensayo clínico se realizó una “biopsia líquida” mediante plataforma *Guardant 360* (panel de 74 genes para estudio de ADN circulante libre (cfDNA) :
- Variante patogénicas (VP) en cfDNA
  - *BRCA1: R71G cfDNA VAF 48% (c.211A>G)*
- Variante de significado incierto en cfDNA:
  - *BRCA2: F62C cfDNA VAF 0.2%*

# Caso 1



# Pregunta 1

- ¿Se consideraría indicado estudiar en muestra de ADN linfocitario para descartar un origen germinal -hereditario- de las variantes identificadas en ADN libre circulante?
  1. NO, de ninguna variante dado que la paciente no cumple criterios diagnósticos del síndrome de mama ovario hereditario
  2. Si, de ambas alteraciones - variante patogénica y variante incierta - para un diagnóstico de certeza
  3. Sí, pero solo de la VP en *BRCA1* R71G por la elevada frecuencia alélica, pero con una única finalidad terapéutica al ser un marcador predictivo de respuesta a inhibidores de PARP
  4. Sí, pero solo de la VP en *BRCA1* R71G dado que es una VP fundadora en *BRCA1* en población gallega y tendría implicación clínica en el contexto del tratamiento, riesgo de cáncer, detección precoz, y/o prevención en familiares

# Características de las variantes potencialmente accionables identificadas

- **BRCA1 (NM\_007294): c.211A>G p.(Arg71Gly) Clase 5 (patogénica)**  
*(conocida como 330A>G) Esta variante destruye un sitio canónico de splicing en el gen BRCA1, alterando la síntesis y procesamiento del RNAm . Variante patogénica fundadora española (Galicia) en asociación con el cáncer de mama y/o ovario familiar (PMID: 11385711, 12014998, 28477318, 19123044, PMID: 12014998, 20215541).*
- **BRCA2 (NM\_000059): c.185T>G p.(Phe62Cys) Clase 3 (significado incierto)**  
Variante missense localizada en una posición moderadamente conservada. Predictores *in silico* muestran un posible impacto o en la función; no existen estudios funcionales.  
*No descrita en base de datos poblacionales (gnomAD).*  
*No descrita en ClinVar, Cosmic, ni literatura. No la tenemos en pacientes de nuestro laboratorio.*

## Pregunta 2

La paciente lamentablemente fallece sin que de tiempo a solicitar el estudio genético de la VP fundadora gallega en línea germinal. Tiene dos hijos varones sanos de 47 y 44 años de edad .

- ¿Se consideraría indicado derivar a la consulta de cáncer familiar y realizar asesoramiento genético y estudio genético de portadores de la VP fundadora *BRCA1* (c.211A>G, R71G) de los hijos sanos de la paciente?

1. NO vale la pena asesoramiento genético dado que es poco probable que esa VP sea hereditaria
2. NO vale la pena hacer asesoramiento genético en los hijos de la paciente porque aunque sean portadores al ser varones el riesgo de padecer cáncer asociado a la mutación es bajo.
3. Sí, estaría indicado asesoramiento y estudio genético de portadores de la VP fundadora c.211A>G, R71G en *BRCA1* dada las implicaciones de detección precoz, y/o prevención precoz establecidas en guías clínicas.
4. Sí, estaría indicado asesoramiento y estudio genético de portadores de la VP fundadora c.211A>G en *BRCA1* y de la variante de significado incierto en *BRCA2* identificada en la paciente dada las implicaciones de detección precoz, y/o prevención precoz establecidas en guías clínicas



## Caso Clínico 2

- **Mujer de 63 AÑOS.** Se le diagnostica en el 2018 de un **carcinoma neuroendocrino de páncreas muy indiferenciado** con KI67 90% con metastasis en ovario izdo y masa pélvica. Se realiza cirugía radical R0 Pancreatectomía distal + esplenectomía + exeresis tum pélvica + anexectomía izda + apendicectomía
- En septiembre 2019 progresa a nivel peritoneal recibiendo **Carboplatino + Etopósido**, inicio 14/10/2019 \* 5 CICLOS ULTIMO 28.1.2020 evaluada como respuesta completa en seguimiento sin evidencia de progression ( ultima revision febrero 2021)
- Se realiza segunda opinión en otro centro revisando la anatomia patologica concluyen que se trata de un **CARCINOMA SEROSO OVARICO muy indiferenciado con extensa diferenciación neuroendocrina** (50% de la neoplasia) con metástasis a páncreas.

Antecedentes familiares: hermana afectada de policitemia vera.

- Se le realiza un panel NGS en tejido, y se identifican las siguientes variantes altamente sospechosas de patogenicidad:

**-ERCC4 c.2357 C>T 49% VAF**

**-PTEN c.976dup 19% VAF**

**-RAD51D c.843delC 19% VAF**

**-TP53 c.711G>A 45% VAF**



# Pregunta 1

- ¿Se consideraría indicado estudiar en muestra de ADN linfocitario para descartar origen germinal -hereditario- de estas variantes identificadas en la muestra tumoral de la paciente ?
  1. NO de ninguna variante dado que la paciente no cumple criterios diagnósticos del síndrome de mama ovario hereditario
  2. SI, de todas las variantes identificadas.
  3. SI, pero solo de aquellas que se asocian a una predisposición genética al cáncer con accionabilidad demostrada: *RAD51D*, *PTEN* y *TP53*
  4. Sí, pero solo de *RAD51D* porque es un tumor de ovario y su identificación en línea germinal es accionable

# Características de las variantes potencialmente accionables identificadas

- **PTEN (NM\_000314): c.976dup p.(Asp326Glyfs\*5) Clase 4 (posiblemente patogénica)**

*Variante frameshift generada por la duplicación de una G en nucleótido 976; originaría alteración de la pauta de lectura a partir del codón Asp326, y generaría un codón de parada 5 posiciones más adelante.*

*No descrita en base de datos poblacionales (gnomAD).*

*No descrita en ClinVar, cosmic, ni literatura.*

- **RAD51D (NM\_002878): c.843del p.(Ile281Metfs\*29) Clase 4 (posiblemente patogénica)**

*Variante frameshift generada por la deleción de una C en nucleótido 843; originaría alteración de la pauta de lectura a partir del codón Ile281, y generaría un codón de parada 5 posiciones más adelante.*

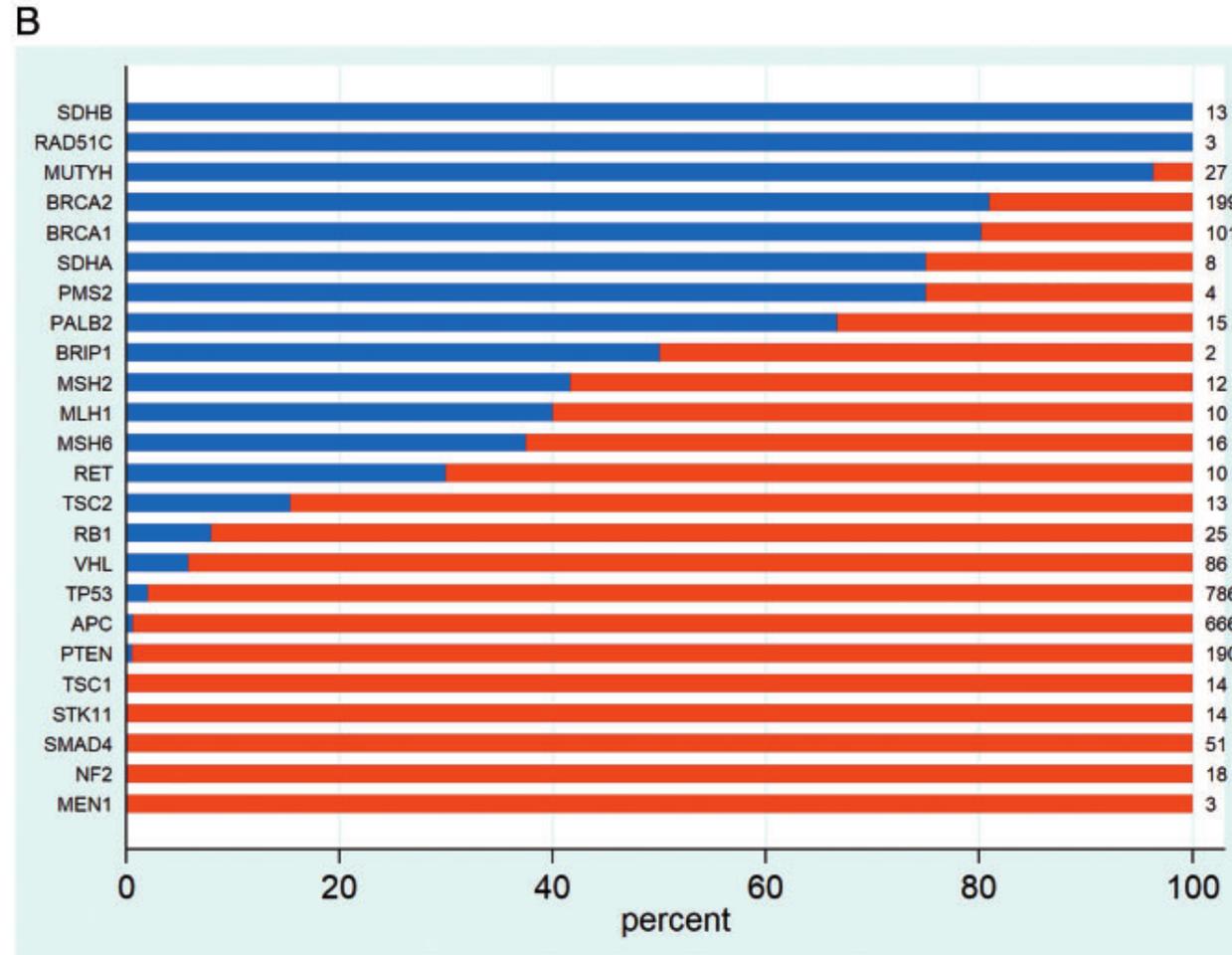
*No descrita en base de datos poblacionales (gnomAD).*

*No descrita en ClinVar, cosmic, ni literatura.*

- **TP53(NM\_000546): c.711G>A p.(Met237Ile) Clase 5 (patogénica)**

*Variante missense localizada en una posición altamente conservada. Estudios funcionales han mostrado que la variante conlleva pérdida de capacidad de transactivación y que ejerce como dominante negativo.*

*Identificada en pacientes con síndrome de Li-Fraumeni (PMID: 25945745, PMID: 11370630) y también descrita en numerosos tumores. Clinvar la clasifica como patogénica/probablemente patogénica\*\*.*



**Figure 3.** Distribution of germline and somatic pathogenic variants detected upon tumour analysis for 30 high-actionability CSGs.

## Caso Clínico 3

- Mujer de 53 años intervenida en 2015 de un **CDI de mama G3, pT2pN1M1**, metástasis óseas y en ganglios mediastínicos. RE (80%), RP negativo, HER2 no amplificado y KI67 del 60%.
- Recibe 8 ciclos de Paclitaxel y progresa a los 7 meses de iniciar tratamiento. Recibe Anastrozol de segunda línea y progresa a los 5 meses con aparición de metástasis hepáticas.
- Historia familiar: **Madre Ca de ovario a los 65 años.**
- Se realizó secuenciación del tumor primario en el momento de la progresión al Anastrozol, Oncomine Comprehensive V3 (161 genes, SNVs, CNV, fusions, indels):
- Variantes identificadas en el tumor:
  - ***ESR1*** c.1125G>T (p.Gln375His); patogénica: pérdida de función; **VAF: 35,6 %; Read depth: 1680**
  - ***BRCA2*** (c.3847\_3848delGT); patogénica: pérdida de función; **VAF: 80 %; Read depth: 2774**
  - ***MYC*** CNV=5.8
  - ***CTNNB1***; c.94G>A (p.Asp32Asn) posible patogénica: pérdida de función; **VAF: 10.2 %; Read depth: 1603**

# Pregunta 1

- ¿Es posible que la delección *BRCA2* (c.3847\_3848delGT) identificada en el tumor primario sea una variante germinal?
  1. No, porque la frecuencia alélica esperada en estaría en torno al 50%.
  2. Si, la frecuencia alélica tan elevada se explicaría por una pérdida de heterocigosidad.
  3. No, una delección nunca puede aparecer en línea germinal.



## Característica de la variante potencialmente accionable identificada

- **BRCA2 (NM\_000059): c.3847\_3848delGT p.(Val1283Lysfs\*2) Clase 5 (patogénica)**

*Variante frameshift generada por la deleción de dos nucleótidos GT originaría alteración de la pauta de lectura a partir del codón Val1283, y generaría un codón de parada 2 posiciones más adelante.*

*Clasificada como patogénica por ENIGMA, ClinVar, BIC, LOVD....*

*Descrita en la literatura a nivel germinal en pacientes con cáncer de mama, próstata y colon (PMID 21952622, 21324516, 23199084, 24814045)*

- El análisis de CNV de los datos de secuenciación indica pérdida de heterocigosidad de *BRCA2* por lo que probablemente sea una alteración germinal. Se confirma el origen germinal en ADN linfocitario de una muestra de sangre.
- La paciente recibe **olaparib** durante 9 meses. En la primera evaluación se observa respuesta a nivel de ganglios mediastínicos y lesiones hepáticas pero en la segunda evaluación se evidencia progresión de la enfermedad. En este momento se recoge una muestra de sangre para hacer el panel de *FoundationOne* en biopsia líquida:

**BRCA2** c.3847\_3848delGT; **VAF: 31 %**  
**BRCA2** c. 3838\_3864del27; **VAF: 26,7%**  
**ESR1** c.1125G>T (p.Gln375His); no detectada  
**MYC** (amplificación) no detectada  
**CTNNB1** c.94G>A (p.Asp32Asn); **VAF: 0,7%**

## Pregunta 2

¿Es posible que la nueva deleción en *BRCA2* sea una variante que revierte el efecto de la primera deleción y que por ello la paciente deje de responder al tratamiento con el iPARP?

1. Al tener una frecuencia alélica inferior a la deleción germinal detectada inicialmente en tejido el efecto de esta nueva deleción es despreciable.
2. Para saberlo debemos determinar si la segunda deleción identificada abarca la secuencia de la deleción germinal y restaura el marco de lectura original, ya que esta cambio podría impactar en la respuesta al tratamiento con iPARP.
3. Sí es muy importante, ya que la identificación de una variante de reversión en los genes *BRCA1/2* tiene actualmente un claro impacto terapéutico en el contexto del cáncer de mama.

# Característica de la variante potencialmente accionable identificada

- **BRCA2 (NM\_000059): c.3838\_3864del27 p.(Asp1280\_Asn1288del)**

*Delección de 27 nucleótidos entre las posiciones nucleotídicas c.3838\_3864 lo que genera la pérdida de 9 residuos aminoacídicos, pero manteniendo la pauta de lectura de la proteína resultante.*

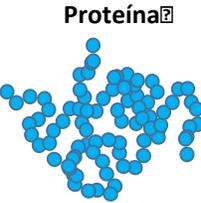
*No descrita en base de datos poblacionales (gnomAD).*

*No descrita en ClinVar, cosmic. Recogida en la literatura como reversión indicando importancia en la resistencia a tratamiento con IPARP (PMID: 32563252, PMID: 29325860)*

BRCA2wt

ADN...AATCATAATGATAAAACTGTAAGTGAAAAAATAATAAATGCCAACTGATATTA.....

ARNm...AAUCAUAAUGAUAAAACUGUAAGUGAAAAAAUAAUAAAUGCCAACUGAUUUA.....  
 AsnHisAsnAspLysThrValSerGluLysAsnAsnLysCysGlnLeuIsoLeu..



BRCA2 c.3847\_3848delGT  
 p.(Val1283Lysfs\*2)

ADN...AATCATAATGATAAAACTGTAAGTGAAAAAATAATAAAT.....

ARNm...AAUCAUAAUGAUAAAACUAAGUGAAAAAAUAAUAAA.....  
 AsnHisAsnAspLysThrLysStop

Proteína



BRCA2 c.3838\_3864del27p.  
 (Asp1280\_Asn1288del)

AAAACGTAAGTGAAAAAATAAAT

ADN...AATCATAATGATAAAACTGTAAGTGAAAAAATAATAAATGCCAACTGATATTA.....

ARNm...AAUCAUAAUGAUAAAUGCCAACUGAUUUA.....  
 AsnHisAsnAspLysCysGlnLeuIsoLeu..

Proteína

LysThrValSerGluLysAsnAsn



## Caso Clínico 4

- Mujer de 45 años, sin antecedentes relevantes, diagnosticada en octubre 2019 de un **CDI de mama derecha** estadio IV de debut: cT2multicéntrico N3bM1 (óseas y hepática) LumB/HER2-, Ki67 35%.
- Historia familiar: Padre Ca gástrico 70 años. Madre Ca de mama a los 60.
- Se realizó secuenciación genética tumoral de tumor primario y en biopsia hepática dentro de estudio investigación antes de iniciar tratamiento:
  - **BRCA2: c.8953+2T>A, splice site variant (Exon 22)**
    - Primario: VAF: 17.8 % Read depth: 3198
    - Metástasis: VAF: 55.6 % Read depth: 1825
  - **PTEN: c.155\_157del, p.D52del (Exon 2): primario VAF: 33%; metástasis VAF: 65%**
  - **ATM: c.4301 A>C, p.K1434T (Exon 29): primario VAF: 36%; metástasis VAF: 65%**

# Características de las variantes potencialmente accionables identificadas

- **BRCA2 (NM\_000059): c.8953+2T>A Clase 4 (posiblemente patogénica)**

*Variante intrónica localizada en una posición altamente conservada. Predictores in silico muestran afectación del splicing (pérdida del donador, y alteración sitio críptico).*

*No descrita en base de datos poblacionales (gnomAD).*

*No descrita en ClinVar, Cosmic, ni literatura. No la tenemos en pacientes de nuestro labo.*

- **PTEN (NM\_000314): c.155\_157del, p.(Asp52del) Clase 3 (significado incierto)**

*Variante inframe localizada en una posición altamente conservada, pero no en dominio catalítico comité expertos CLINGEN PTEN (90–94, 123–130, and 166–168). El predictor GERP predice patogenicidad.*

*No descrita en base de datos poblacionales (gnomAD).*

*No descrita en CLINVAR. Descrita en Cosmic cáncer de endometrio(x3) y en literatura en metástasis cerebral (PMC4916970)*

- **ATM (NM\_000051): c.4301 A>C, p.(Lys1434Thr) Clase 3 (significado incierto)**

*Variante missense localizada en una posición moderadamente conservada. Predictores in silico no muestran impacto en la estructura/función de la proteína.*

*No descrita en base de datos poblacionales (gnomAD).*

*No descrita en ClinVar, Cosmic, ni literatura. No la tenemos en pacientes de nuestro labo.*

# Pregunta 1

- ¿se consideraría indicado realizar un estudio genético en sangre para descartar origen germinal de alguna de estas variantes?
  1. sí, de la VP en el gen *BRCA2* por su frecuencia alélica en el tumor primario
  2. sí, de la VP en el gen *BRCA2* por su frecuencia alélica en la metástasis
  3. sí, de la VP en el gen *BRCA2*, independientemente de la frecuencia alélica
  4. sí, de todas las variantes identificadas en *BRCA2*, *PTEN* y *ATM* porque si fueran germinales tendrían una implicación clínica en el contexto de riesgo de cáncer, detección precoz, y/o prevención



- Se realizó estudio genético en sangre de panel de genes, y **NO** se identificó ninguna VP en línea germinal en los genes *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *ATM*, *CHEK2*, *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D*, *MLH1*, *MSH2* y *MSH6*.
- Inició 1ª línea de tto con LETROZOL + RIBOCICLIB + aLHRH. A los 9 meses se objetiva progresión hepática, y recibe 2ª línea con EXEMESTANO + EVEROLIMUS. A los 3 meses se objetiva respuesta disociada, con progresión ganglionar y hepática y respuesta en hueso. La paciente entra en el **proyecto HOPE** y se realizan distintos estudios genéticos:
  - **FM (tumor primario):**
    - *BRCA2* c.8953+2T>A, VAF 47%
    - *NFKBIA* amplification; *PBRM1* loss exons 4-9 and 27-30
    - No reportable alterations in *BRCA1*, *ERBB2*, or *PIK3CA*
    - MSS, TMB 1Muts/Mb
  - **Guardant 360º (ADN circulante):**
    - *ATM* c.4301 A>C, p.K1434T (0.3%): variante de significado incierto
    - No MSI-High
    - **NO** *BRCA1/2*, *ERBB2*, or *PIK3CA* alterations

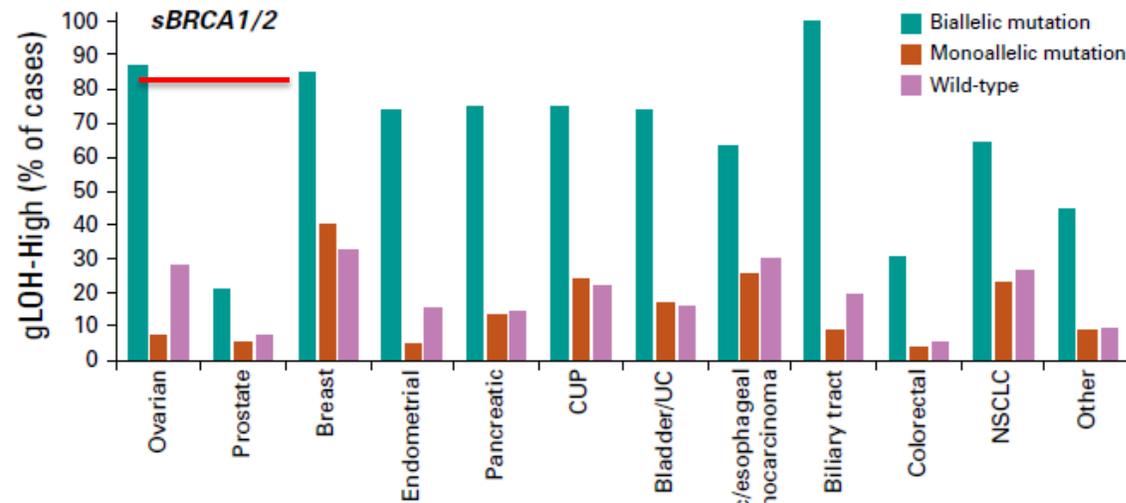
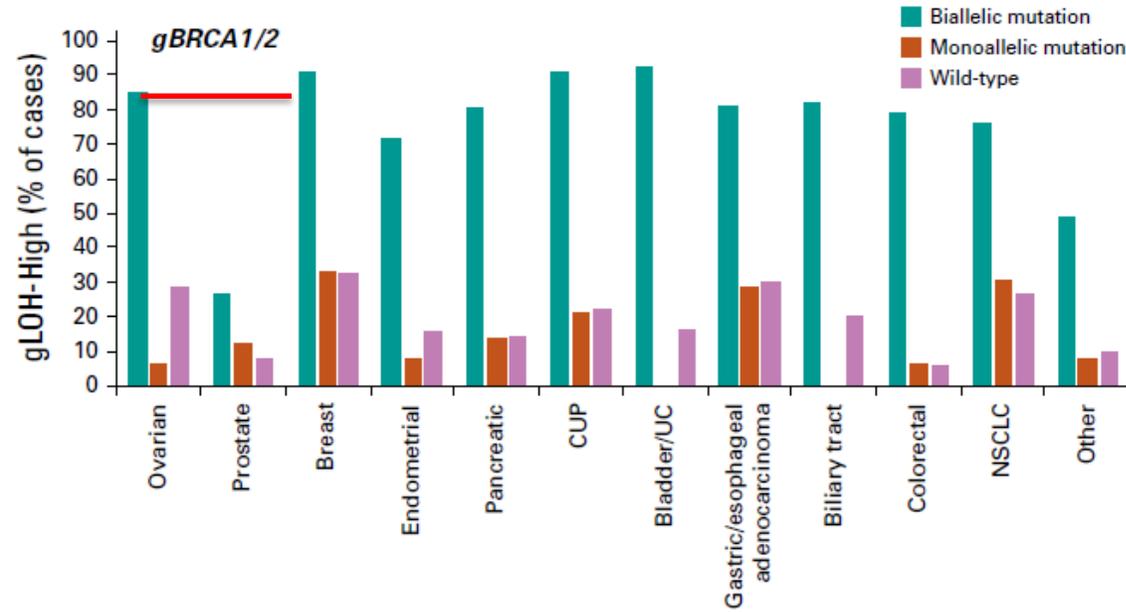
## Pregunta 2

- ¿cómo se interpreta el resultado de la secuenciación genética en cfDNA?
  1. La variante en *ATM* es clínicamente la más accionable porque se identifica en tumor primario, metástasis, y en cfDNA
  2. Se deduce que existe heterogenidad clonal y variabilidad en la cantidad de ADN tumoral presente en sangre periférica

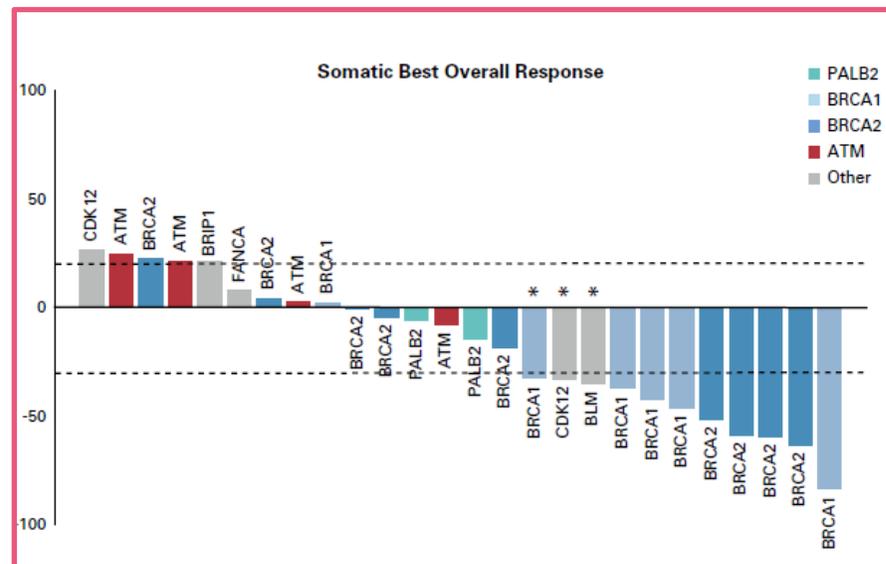
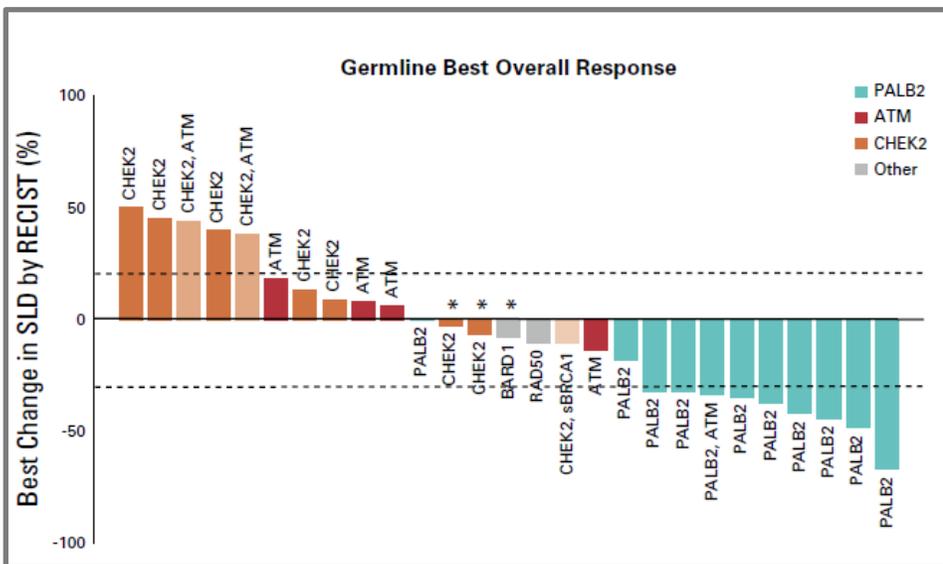
## Pregunta 3

- La presencia de una VP somática en *BRCA2* con una VAF 50-60%, ¿podría considerarse un biomarcador para opciones terapéuticas dirigidas?
  1. Las alteraciones germinales en *BRCA1/2* son los únicos biomarcadores aprobados para la prescripción de PARPi en CM metastásico actualmente.
  1. Las alteraciones somáticas en *BRCA1/2* pueden predecir respuesta a PARPi, pero solo si hay una inactivación bialélica.

Biallelic BRCA1/2 mutations were associated with gLOH-high irrespective of predicted germline or somatic status.



# TBCRC 048: Phase II Study of Olaparib for Metastatic Breast Cancer and Mutations in Homologous Recombination-Related Genes



<b>PALB2</b> N=13	<b>sBRCA1/2</b> N=17 <sup>^</sup>	<b>ATM &amp; CHEK2**</b> N=17
<b>Germline: 9/11 PR (82%)</b> 10/11 had tumor regression; 1 SD > 1 yr  <b>Somatic: 0/2 – both SD*</b> (limited assessments)	<b>8/16 PR (50%)</b>	<b>0/13 germline</b> <b>0/4 somatic</b>

Tung, JCO 2020

- GRACIAS!

## Caso Clínico 5

- Mujer de 44 años intervenida en 2018 de un carcinoma de mama bilateral (mama izquierda: carcinoma ductal infiltrante G3, pT2pN1Mo, con expresión de receptor de estrógenos RE (90%), receptor de progesterona RP (20%) HER2 no amplificado y con un índice de proliferación KI67 del 20%, mama derecha: carcinoma ductal infiltrante G2 pT1apN0M0 con expresión de RE 100%, RP 5%, HER2 no amplificado, KI67 20%). En la actualidad en progresión con metástasis de origen mamario (RE 70%, RP 0%, HER2 no amplificado, expresión por inmunohistoquímica 1+).
- Historia familiar: Madre Ca de mama a los 650.
- Se realizó secuenciación del tumor primario, *Oncomine Comprehensive V3*:
- Variantes identificadas en tumor:
  - **ARID1A** (c.5975C>G,p.S1992\*); **VAF: 6.5 %; Read depth: 2680**
  - **CHEK2** (c.1556G>T, p.R519L); **VAF: 50.37 %; Read depth: 3510**
  - **BRCA2** (c.67+3A>G, p.?); **VAF: 50.14 %; Read depth: 2799**



# Pregunta 1

- ¿se consideraría indicado realizar un estudio genético en sangre para descartar origen germinal de la variante BRCA2 (c.67+3A>G)
  1. sí, de la VP en el gen *BRCA2*, independientemente de la frecuencia alélica.
  2. sí, de la VP en el gen *BRCA2* por su frecuencia alélica.
  3. no, porque la variante identificada no se ha descrito previamente.

## Añadir análisis de las variantes

- **CHEK2 (NM\_007194): c.1556G>T, p.(Arg519Leu) Clase 3 (significado incierto)**

*Variante missense localizada en una posición moderadamente conservada. Estudios funcionales muestran resultados contradictorios.*

*Descrita en base de datos poblacionales (gnomAD non cancer 0,000027).*

*Reportada en la literatura a nivel germinal en pacientes con cancer de ovario, colon (PMID: PMID: 28135145, PMID: 24879340) y en nuestro laboratorio mama. No detectada en tumor.*

- **BRCA2 (NM\_000059): c.67+3A>G Clase 4 (posiblemente patogénica)**

*Variante intronica moderadamente conservada. Estudios funcionales evidencian pérdida del exón 2 (minogenes y RNA, PMID: [24302565](#)).*

*No descrita en base de datos poblacionales (gnomAD).*

*Descrita en literatura en paciente con Anemia de Fanconi con BRCA2 c.5771\_5774delTTCA (PMID: [29843852](#)). En nuestro laboratorio detectado en un caso de cáncer de mama. No detectada como variante somática en las bases de datos*



## Pregunta 2

- Se analiza la presencia de esta variante en línea germinal con resultado negativo ¿Qué posible tratamiento se podría administrar en base a la variante somática de BRCA2 identificada?
- 1. Estaría indicado el tratamiento con Rucaparib u Olaparib en base a indicaciones de la EMA.
- 2. El tratamiento con con Cisplatino/Paclitaxel no estaría indicado para tratar a esta paciente ya que la variante esta asociada a una pérdida de función de BRCA2.
- 3. En base a alteraciones somáticas en BRCA2 no hay indicación aprobada de tratamiento con iPARP para cáncer de mama.