

ESTUDIO DE LAS VARIACIONES GENÉTICAS Y REORDENACIONES DE LOS GENES BRCA1 Y BRCA2.

DATOS DEL MÉDICO

Nombre:	
1 ^{er} Apellido:	
2 ^o Apellido:	
Cargo:	
Dirección:	
Nº Colegiado:	
Nº Teléfono:	

DATOS MUESTRA

Referencia Interna:	
Referencia Externa:	
Procedencia:	
Tipo de Muestra:	
Lote:	
Fecha de recepción:	
Fecha del informe:	

DATOS DEL PACIENTE

Nombre:	
1 ^{er} Apellido:	
2 ^o Apellido:	
Fecha de Nacimiento:	
Género:	
ID Paciente:	
Origen étnico:	

RAZÓN PARA LA JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO: El paciente fue seleccionado para la realización de este test debido a una historia personal o familiar de cáncer de mama y/o ovario hereditario.

METODOLOGÍA

El estudio realizado consiste en la secuenciación de todos los exones codificantes y las regiones intrónicas adyacentes a los sitios de splicing de los genes BRCA1 (GeneID: 672) y BRCA2 (GeneID: 675), así como el análisis de posibles deleciones/duplicaciones de estos mismos genes BRCA1 y BRCA 2 mediante MLPA. Comparación de las secuencias obtenidas con las secuencias de referencia BRCA1. RefSeq; NG_005905.2, GI: 262359905, 14-Febrero-2014 y BRCA2. RefSeq; NG_012772.3 GI: 388428999, 4 Mayo de 2014.

Limitaciones: La clasificación y la interpretación de todas las variantes identificadas en este análisis reflejan el estado actual de los conocimientos científicos en el momento en que se emitió este informe. En algunos casos, la clasificación y la interpretación de tales variantes pueden cambiar a medida que la nueva información científica esté disponible.

RESUMEN DE LOS RESULTADOS (El resultado de este test es cualitativo y muestra si "Se ha encontrado una variante patogénica descrita" o "No se ha encontrado ninguna variante patogénica descrita").

Se ha encontrado una variante patogénica descrita en el gen BRCA2 (c.6600_6601delTT; p.Ser2201X)

Pruebas realizadas

Secuenciación del gen BRCA1
Reordenaciones del gen BRCA1 (MLPA)
Secuenciación del gen BRCA2
Reordenaciones del gen BRCA2 (MLPA)

Resultados

Mutaciones no detectadas
Mutaciones no detectadas
Mutaciones detectada
Mutaciones no detectadas

Interpretación

Mutaciones no detectadas
Mutaciones no detectadas
Mutación patogénica descrita
Mutaciones no detectadas

DIAGNÓSTICO

Los resultados de este análisis confirman la presencia de la mutación patogénica descrita c.6600_6601delTT; p.Ser2201X, (según la nomenclatura antigua 6828_6829delTT) en el exón 11 del gen BRCA2, dando como resultado el truncamiento prematuro de la proteína en el codón 2201.

Esta mutación ha sido asociada en estudios científicos al síndrome de predisposición a cáncer de mama y ovario hereditario y aparece en las bases de datos descrita como variante patogénica.

Aunque el riesgo exacto de cáncer de mama y de ovario conferido por esta mutación específica no se ha determinado, los estudios en familias de alto riesgo indican que las mutaciones causales en BRCA2 pueden conferir más de un 49% (95% CI: 40–57%) de riesgo de cáncer de mama y un 18% (95% CI: 13–23%) de cáncer de ovario en mujeres de 70 años de edad (SEOM clinical guidelines for hereditary cancer), así como algunos otros tipos de cáncer.

Nota: Cada familiar de primer grado de esta paciente presenta un 50% de posibilidades de tener esta mutación. Se recomienda realizar el estudio al resto de familiares para reducir el riesgo de que existan en la familia más portadores de dicha mutación. Se recomienda que la paciente, así como sus familiares se pongan en contacto con la Unidad de consejo genético del hospital de referencia.

Fecha de informe: 22 de Mayo de 2014

Dr. Javier Porta Pelayo
Director Científico

José María Porta Pelayo
Director del Laboratorio

Este informe contiene 3 páginas
Página 1 de 3




ESTUDIO DE LAS VARIACIONES GENÉTICAS Y REORDENACIONES DE LOS GENES BRCA1 Y BRCA.

DATOS DEL MÉDICO

Nombre:	
1 ^{er} Apellido:	
2 ^o Apellido:	
Cargo:	
Dirección:	
Nº Colegiado:	
Nº Teléfono:	

DATOS MUESTRA

Referencia Interna:	
Referencia Externa:	
Procedencia:	
Tipo de Muestra:	
Lote:	
Fecha de recepción:	
Fecha del informe:	

DATOS DEL PACIENTE

Nombre:	
1 ^{er} Apellido:	
2 ^o Apellido:	
Fecha de Nacimiento:	
Género:	
ID Paciente:	
Origen étnico:	

Variaciones detectadas:

El resto de variantes genéticas detectadas en la muestra del paciente se resumen en la siguiente tabla:

Gen	Exón	Variantes Prot. (HGVS)	Estado	c.DNA (HGVS)	c.DNA (BIC)	Tipo de variación	Descripción	Interpretación
BRCA1	11	p.Ser694Ser	Heterocigosis	c.2082 C>T	2201C>T	Sinónima	Descrita	Neutral
BRCA1	11	p.Leu771Leu	Heterocigosis	c.2311T>C	2430T>C	Sinónima	Descrita	Neutral
BRCA1	11	p.Pro871Leu	Heterocigosis	c.2612C>T	2731C>T	Sentido erróneo	Descrita	Neutral
BRCA1	11	p.Glu1038Gly	Heterocigosis	c.3113A>G	3232A>G	Sentido erróneo	Descrita	Neutral
BRCA1	13	p.Ser1436Ser	Heterocigosis	c.4308T>C	4227T>C	Sinónima	Descrita	Neutral
BRCA1	16	p.Ser1613Gly	Heterocigosis	c.4837A>G	4956A>G	Sentido erróneo	Descrita	Neutral
BRCA2	10	p.Asn289His	Heterocigosis	c.865A>C	1093A>C	Sentido erróneo	Descrita	Neutral
BRCA2	10	p.His372Asn	Homocigosis	c.1114C>A	1342C>A	Sentido Erróneo	Descrita	Neutral
BRCA2	10	p.Ser455Ser	Heterocigosis	c.1365A>G	1593A>G	Sinónima	Descrita	Neutral
BRCA2	11	p.Leu1521Leu	Homocigosis	c.4563G>A	4791G>A	Sinónima	Descrita	Neutral
BRCA2	11	p.His743His	Heterocigosis	c.2229T>C	2457T>C	Sinónima	Descrita	Neutral
BRCA2	11	p.Val2171Val	Homocigosis	c.6513C>G	6741C>G	Sinónima	Descrita	Neutral
BRCA2	Intrón 16	---	Homocigosis	c.7806-14T>C	IVS16-14C>T	---	Descrita	Neutral

En la tabla se muestra el gen analizado, la región del gen donde se localiza la variante, nombre de la variante observada mostrada empleando la nomenclatura protéica de la HGVS, si se presenta en homocigosis (Hom.) o heterocigosis (Het.), nomenclatura del cDNA según la HGVS y según la nomenclatura BIC, tipo de variación, si está o no descrita en la bibliografía científica existente en la actualidad.

Finalmente se da una interpretación según las siguientes consideraciones:

- a) **Variante con sospecha de ser patogénica (Unclassified Variant Patogenic; UVP)** Incluye las variantes genéticas para las cuales la evidencia disponible indica probabilidad, pero no prueba, que la mutación es perjudicial. El dato concreto en apoyo de esa interpretación se resume en el informe.
- b) **Variante de significado clínico incierto (Unclassified variants; UVs)**. Incluye todas las mutaciones de sentido erróneo y mutaciones que se producen en regiones intrónicas analizadas cuyo significado clínico todavía no se ha determinado. El dato concreto en apoyo de esa interpretación se resume en el informe.
- c) **Variante alélica con poca probabilidad de estar asociada a la enfermedad (Neutral)** Incluye las variantes genéticas para las cuales la evidencia disponible indica que la variante es muy poco probable que contribuyan sustancialmente al riesgo de cáncer. El dato concreto en apoyo de esa interpretación se resume en el informe.

Fecha de informe: 22 de Mayo de 2014

Dr. Javier Porta Pelayo
Director Científico

José María Porta Pelayo
Director del Laboratorio

Este informe contiene 3 páginas
Página 2 de 3




Descripción del análisis

El estudio de las variaciones genéticas y reordenaciones de los genes BRCA1 y BRCA2, *GenoBRCA1y2* es un estudio integral que comprende la secuenciación del gen BRCA1, reordenaciones del gen BRCA1 (MLPA), secuenciación del gen BRCA2 y reordenaciones del gen BRCA2 (MLPA).

Secuenciación de BRCA1; Determinación de la secuencia completa de los 22 exones codificantes, así como las regiones intrónicas adyacentes a los sitios de splicing. Los exones 1 y 4 no son codificantes, por lo que no son analizados en este test.

Secuenciación de BRCA2; Determinación de la secuencia completa de los 26 exones codificantes, así como las regiones intrónicas adyacentes a los sitios de splicing. El exón 1 no es codificante, por lo que no es analizado en este test.

Reordenaciones del gen BRCA1 (MLPA); las reordenaciones del tipo inserciones y deleciones en todas las regiones exónicas y sitios flanqueantes al splicing del gen BRCA1 se han estudiado mediante la técnica de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

Reordenaciones del gen BRCA2 (MLPA); las reordenaciones del tipo inserciones y deleciones en todas las regiones exónicas y sitios flanqueantes al splicing del gen BRCA2 se han estudiado mediante la técnica de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

Descripción de la metodología

Muestra; Muestra de sangre periférica contenida en recipiente vacutainer con EDTA como agente anticoagulante.

Extracción de ADN; la extracción de ADN se realizó empleando el kit DNeasy Blood & Tissue Kit (QiaGen).

Valoración de la calidad y cantidad de ADN extraído; Para el cálculo de la cantidad de ADN extraído se analizó la absorbancia de cada muestra a 260 nm empleando un equipo NanoDrop ND-2000. Se estudió también las relaciones de absorbancias a 260/280 y 260/230 para determinar la calidad del ADN obtenido, usando para ello el mismo aparato. Además la muestra de ADN genómico extraídas se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 0,8% siendo revisadas visualmente en el transiluminador U.V.

Amplificación de regiones genómicas de los genes BRCA1 y BRCA2; Para la amplificación de los exones codificantes y las secuencias flanqueantes a los sitios de splicing de los genes BRCA1 y BRCA2 se emplearon los cebadores diseñados por *Wagner et al, 1999*, empleando las mismas condiciones de amplificación descritas por *Malone et al. 2006*. Los fragmentos amplificados, 36 para BRCA1 y 47 para BRCA2 fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,5% y visualizados posteriormente en un transiluminador U.V. Como control negativo de contaminación se realizó una PCR sin ADN.

Reacciones de secuenciación de los productos amplificados; Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo empleando el kit Big Bye® V3.1 Terminador Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Para la purificación de las reacciones se empleó el kit CentriSept (Applied Biosystems). La secuenciación se llevó a cabo en un Analizador genético ABI3130 (Applied Biosystems). Posteriormente, las secuencias se ensamblaron con el software Seqman Ver. 5.00 (DNASTAR Inc.)

Análisis de los resultados de la secuenciación; Las secuencias fueron revisadas visualmente por dos personas cualificadas de forma independiente. Para el estudio de las variantes genéticas existentes en la muestra se comparó la secuencia obtenida de la muestra con la secuencia de referencia obtenida de la base de datos RefSeq (NCBI) RefSeq: NG_005905.2, GI:262359905, 81.189 bp DNA linear 04-Febrero-2013 (mRNA: NM_007294.3) en el caso de BRCA1 y RefSeq: NG_012772.3 GI: 388428999, 84.193 bp DNA linear 3 Febrero 2013 (mRNA: NM_000059.3) para BRCA2. Para la comparación de secuencias se empleó el programa Mutation Surveyor (Jayne et al., 2011).

MLPA; El análisis de reordenaciones genéticas en los genes BRCA1 y BRCA2 del tipo deleción y duplicación se analizaron mediante el Kit de sondas SALSA MLPA probemix P002-C2 BRCA1 y SALSA MLPA probemix P090-A3 BRCA2. Las reacciones se llevaron a cabo siguiendo las recomendaciones del fabricante (MRC-HOLLAND). Las reacciones se analizaron en un Analizador genético ABI3130 (Applied Biosystems). El patrón electroforético resultante se analizó empleando el software Coffalyser (MRC-Holland).

Elaboración del informe: Para la elaboración del informe se han seguido las recomendaciones de la OECD Guidelines for Quality Assurance in Molecular Genetic Testing y las guías de la Swiss Genetics Society.

Características de rendimiento:

Sensibilidad Analítica (proporción de pruebas positivas si el genotipo está presente): aprox. 99%

Especificidad (porcentaje de pruebas negativas si el genotipo no está presente): Aprox. 99%

Limitaciones: Este test no analiza las regiones no codificantes; intrones, regiones reguladoras y algunos exones no codificantes, por lo que las variantes en estas regiones no son detectables.

Este informe contiene 3 páginas
Página 3 de 3