

# Identification of BRCA 1 AND BRCA 2 gene variants in patients with castration-resistant prostate cancer at the Hospital Central Militar

## Identificación de variantes del gen BRCA 1 Y BRCA 2 en pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración del Hospital Central Militar

 Yanet Soria-Peñaloza,<sup>1</sup>

 Mayra Cristina Galeana-Hernández,<sup>2</sup>

 Saray Quintero-Fabián,<sup>1</sup>

 Noemí Cárdenas-Rodríguez,<sup>3</sup>

 Iván Ignacio-Mejía.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Secretaría de la Defensa Nacional, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Secretaría de la Defensa Nacional, Hospital Central Militar Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>Secretaría de Salud, Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México, México

**Correspondencia:** \*Iván Ignacio Mejía.  
Dirección: Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Batalla de Celaya 202, Lomas de Sotelo, Militar, Miguel Hidalgo, 11200 Ciudad de México, México. Correo electrónico ivanignacio402@gmail.com

**Citación:** Soria-Peñaloza T., Galeana-Hernández M. C., Quintero-Fabián S., Cárdenas-Rodríguez N., Ignacio-Mejía I. *Identificación de variantes del gen BRCA 1 Y BRCA 2 en pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración del Hospital Central Militar. Rev. Sanid. Milit. 2022;76(2):pp 1-13*

### Abstract:

Metastatic castration-resistant prostate cancer (CRPC) is a heterogeneous lethal neoplasm among men. 30% of tumors harbor deleterious errors in genes involved in the DNA damage response (DDR). Some of these cancer-associated genes are BRCA 1 and BRCA 2. Mutations to these genes favor loss or modification of function causing a permanent and transmissible change, leading to the development of aggressive prostate cancer. The aim of the study was to identify by Next-generation sequencing (NGS) BRCA 1 and BRCA 2 gene variants in peripheral blood of patients with CRPC at the Hospital Central Militar. Importantly, the results demonstrated a number of clinical alterations, as well as a loss of function of proteins related to DNA repair mechanisms. Interestingly, some of the variants in the BRCA gene, reported here, are of uncertain significance, which has been reported to us for the first time.

**Keywords:** Prostate cancer, metastatic castration-resistant prostate cancer, BRCA 1 and BRCA 2, NGS.



## Resumen

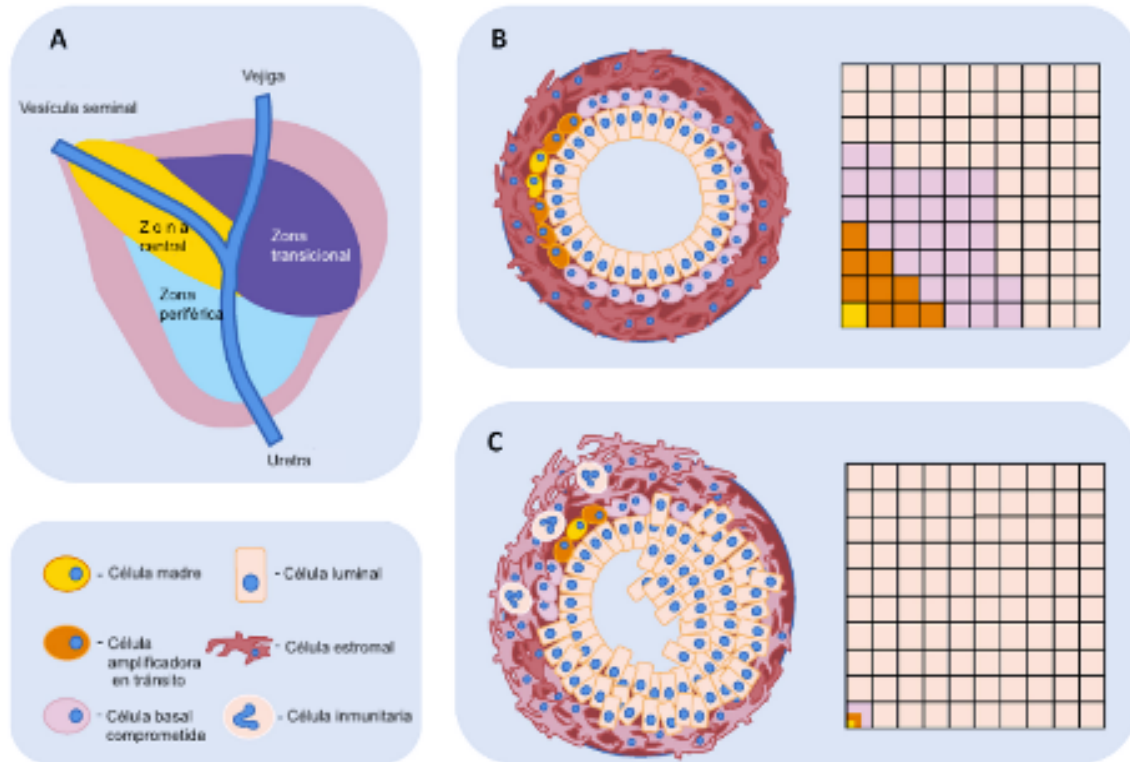
El cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (CPRC) es una neoplasia heterogénea letal entre los hombres. 30% de los tumores acumulan errores deletéreos en genes implicados en la respuesta al daño del ADN (*DNA damage response* en inglés, DDR). Algunos de estos genes asociados a cáncer son BRCA 1 y BRCA 2. Mutaciones en estos genes favorecen la pérdida o la modificación de la función provocando un cambio permanente y transmisible, lo que conduce al desarrollo de cáncer de próstata agresivo. El objetivo del estudio fue identificar mediante secuenciación dirigida (*Next-generation sequencing*; NGS) variantes génicas de BRCA 1 y BRCA 2 en el genoma de pacientes con CPRC del Hospital Central Militar. Es importante destacar que los resultados demostraron una serie de alteraciones clínicas, así como una pérdida de la función de las proteínas relacionadas con mecanismos de reparación del ADN. Curiosamente, algunas de las variantes en el gen BRCA, de las que se informa aquí, son de significado incierto, lo que nos ha sido comunicado por primera vez.

**Palabras clave:** Cáncer de próstata, cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, BRCA 1 y BRCA 2, NGS.

## INTRODUCCIÓN

La glándula prostática es un órgano accesorio reproductor masculino, situado por debajo de la vejiga y delante del recto, rodea a la uretra. Su función principal es aportar secreciones ( $Zn^{2+}$ , citrato y calicreínas) al semen y mantener la viabilidad de los espermatozoides.<sup>(1)</sup> En la próstata son relativamente frecuentes los trastornos preneoplásicos, como la atrofia inflamatoria proliferativa (AIP) y la neoplasia intraepitelial prostática (NPI, figura 1). Los tumores se desarrollan casi exclusivamente en la zona periférica del órgano.<sup>(2)</sup>

**Figura 1**



**A. Localización anatómica de la próstata.** La próstata está situada debajo de la vejiga y se compone de tres zonas distintas: la zona central, que contiene el conducto que va desde la vesícula seminal hasta la uretra descendente, la zona periférica, que está situada en la parte posterior de la glándula y es la región en la que se origina la mayoría de los casos de NPI y cáncer, y la zona de transición, que está directamente debajo de la vejiga y rodea la uretra de transición. La Hiperplasia Protática Benigna (HBP) se produce en esta región de la próstata. **B. Representación diagramática de un acino prostático normal;** la bicapa epitelial de células basales y luminales, rodeada de estroma fibromuscular. El contenido relativo de las diferentes células epiteliales en la próstata normal se resume gráficamente; luminal (60%), basal (40%) con las células madre constituyendo ~1% del total de epitelios. **C. Composición celular de un acino canceroso.** El cáncer se caracteriza por la hiperproliferación luminal, la pérdida de la capa basal, la ruptura de la membrana basal, la infiltración de células inmunitarias y la reactividad del estroma. El cáncer sesga los porcentajes de células epiteliales; las células luminales constituyen el 99% de los tumores, se estima que las basales constituyen el 0,1% de las células epiteliales tumorales. Figura modificada parcialmente de Packer *Et al.* 2016.<sup>(2)</sup>

El cáncer de próstata (CaP) es una neoplasia hormono-dependiente, caracterizada por la hiperproliferación luminal, la pérdida de la capa basal, la ruptura de la membrana basal, la infiltración de células inmunitarias y la reactividad del estroma.<sup>(2)</sup> El microambiente tumoral (hipóxico, con hipertensión intersticial y acidosis), favorece el crecimiento acelerado del tumor, gracias a la ruptura de la matriz extracelular y la modulación de la actividad de las metaloproteinasas de matriz (MMP), la formación de nuevos vasos sanguíneos, el acceso y disponibilidad a nutrientes esenciales; todos estos son elementos que influyen directamente en el comportamiento biológico de las alteraciones genéticas, favoreciendo con ventaja el crecimiento y supervivencia de las células tumorales.<sup>(3,4)</sup>

Importantemente, las vías de reparación/daño del DNA acentúan la progresión del cáncer, ya que inducen una alta inestabilidad genómica, así como un incremento en la tasa de mutación, por lo tanto una mayor heterogeneidad intratumoral, lo que los convierte en tumores menos respondedores a la terapia y más agresivos que aquellos tumores que surgen de poblaciones clonales únicas.<sup>(3)</sup>

Los tumores en la próstata, la mayoría de las veces ocurren en etapa media o tardía de la vida, así la tasa de incidencia y mortalidad para CaP están fuertemente asociadas al aumento de la edad, siendo la edad promedio de diagnóstico los 66 años.<sup>(5)</sup>

El adenocarcinoma de próstata representa, en hombres, la segunda neoplasia maligna más frecuente, después del cáncer de pulmón, a nivel mundial.<sup>(6)</sup> México registra una tasa de mortalidad de 10.6 por cada 100 mil hombres.<sup>(7)</sup> En tanto que E.U.A. el cáncer de próstata metastásico resistente a la castración (CPRC) es la principal causa de muerte específica por cáncer de próstata.<sup>(8)</sup>

Es sabido que existen diferencias en cuanto a la incidencia y supervivencia por estadio, raza/etnia y edad, lo que puede orientar la planificación de la salud pública en relación con el cribado, el tratamiento y la atención a los supervivientes. Los estudios epidemiológicos también han revelado que los familiares de primer grado de un paciente con CaP tienen un riesgo entre dos y tres veces mayor para desarrollar la enfermedad en comparación con la población general, mientras que el riesgo aumenta aún más con el número de familiares afectados del mismo modo que la agregación familiar del CaP letal, ya que los familiares de primer grado de un paciente fallecido por CaP tienen un riesgo dos veces mayor de morir por la enfermedad en comparación con los hombres diagnosticados sin antecedentes familiares.<sup>(5)</sup> Según los datos de Mortalidad de INEGI, en 2017 las defunciones de hombres en México alcanzaron para el CaP un total de 6676 decesos. En GLOBOCAN 2020, México documentó una incidencia de 26 742 (13.7%) de CaP con una mortalidad 7457 (8.3%) de casos.<sup>(7)</sup>

El tratamiento para CaP localizado incluye la vigilancia, prostatectomía radical, radioterapia ablativa o quimioterapia. Los pacientes que presentan una recaída local, después de la prostatectomía son tratados con radioterapia de rescate y/o terapia de privación de andrógenos (*androgen deprivation therapy*, ADT) o bien con ADT combinada con quimioterapia, mientras que para una recaída sistémica se tratan con fármacos nuevos dirigidos a la señalización de andrógenos, sin embargo, pese al tratamiento de ablación de andrógenos, el cáncer de próstata avanzado llega a progresar y a cobrar relevancia cuando se vuelve resistente a la castración.<sup>(9)</sup> Aunque los tratamientos tradicionales como radioterapia y quimioterapia, ocasionan importantes daños al ADN de las células cancerígenas, también son acompañados de efectos no deseados en células del tejido normal, pero aun así continúan siendo una buena alternativa terapéutica.<sup>(10)</sup>

Una característica subyacente de los cánceres es la gran acumulación de daños en el ADN, entre ellos están incluidas las mutaciones de los genes BRCA, cuya asociación con cáncer de próstata incrementa su gravedad, provocando un subtipo más agresivo con una mayor probabilidad de afectación ganglionar y metástasis.<sup>(11)</sup> Por lo que, el estudio y la identificación precisa de estos tumores podrían ayudar a guiar el manejo clínico, aunado a las pruebas para determinar mutaciones en los genes BRCA 1 y 2, así el objetivo del presente trabajo fue identificar variantes génicas de BRCA 1 y BRCA 2 en los pacientes con CPRC del Hospital Central Militar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Población de estudio y lineamientos éticos*

Se incluyeron 22 pacientes masculinos diagnosticados con CaP por estudio histopatológico de la consulta externa de oncología médica, urología y del Gabinete de quimioterapia 1 del Hospital Central Militar. El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación del Hospital Central Militar con número de oficio C.Inv.-103. El ensayo se realizó de acuerdo con los principios vigentes de la buena práctica clínica. Los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito para las diferentes etapas del presente trabajo.

### *Obtención de la muestra y aislamiento de leucocitos*

A cada paciente se le tomó una muestra sanguínea que consistió en 8 mL de sangre venosa, distribuidos en dos tubos para plasma con anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético (AEDT), marca BD Vacutainer. Los tubos con la sangre de cada paciente fueron cuidadosamente empaquetados en un kit de transporte y fueron enviados al laboratorio Sonora Quest Laboratories. En el laboratorio cada tubo se centrifugó a 3500 xg a 4°C por 15 min, con lo cual se logró separar los componentes sanguíneos en fases, y la fase leucocitaria se colocó por separado en tubos estériles.

La fracción leucocitaria se transfirió a un microtubo de 2 mL con 1 mL de solución amortiguadora de lisis de eritrocitos ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.15 M,  $\text{KHCO}_3$  10 mM,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  0.1 mM), esto con la finalidad de romper los eritrocitos de la muestra. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 5000 x g durante 3 min a 4°C, se decantó el sobrenadante; posteriormente el proceso de romper los eritrocitos se repitió una segunda vez. Al término, se obtuvo el pellet de leucocitos y posteriormente se realizó la extracción del DNA de los leucocitos.

### *Extracción y cuantificación del DNA*

La extracción del DNA para cada muestra se realizó utilizando el kit DNeasy® Blood & Tissue de QIAGEN, el cual utiliza columnas con membranas con base de sílice. Se siguió el protocolo de purificación de DNA total de sangre animal o células (Spin-Column Protocol), de acuerdo con las especificaciones del fabricante; brevemente consistió en lo siguiente: resuspensión del pellet de leucocitos conservados en solución amortiguadora de fosfatos (PBS), lisis de las células, unión del DNA a las membranas de sílice y desecho de los restos celulares, lavado del DNA y elución de este en un volumen final de 50  $\mu\text{L}$  de agua libre de nucleasas. Las muestras obtenidas se almacenaron a -80°C hasta su uso.

### *Técnica de secuenciación de nueva generación (Secuenciación masiva en paralelo)*

La secuenciación masiva, de manera general, consistió en la generación de clusters, es decir la generación de grupos de fragmentos específicos de ADN, la amplificación, la secuenciación de los genes de interés y el análisis de datos. El panel empleado fue The Comprehensive Hereditary Cancer Panel, el cual explora

genes asociados a un amplio espectro de cánceres hereditarios y permitió el análisis de la secuencia de nucleótidos de los genes BRCA 1 y BRCA 2.

Para el análisis de los resultados de la secuenciación se utilizaron las siguientes secuencias de transcripción de referencia, incluidas en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos (NCBI): BRCA 1 (NM 007294.3), BRCA 2 (NM 000059.3). La versión del genoma de referencia empleada en el análisis fue: hg19 (build37). La secuenciación realizada no detecta variantes en regiones intrónicas del genoma. El efecto de las variantes raras o nuevas sobre el empalme del RNA mensajero (RNAm), la síntesis de proteínas y/o la función de las proteínas en ocasiones puede seguir sin estar claro, debido a que aún no está completamente descrito. Los genes se examinaron en busca de variantes de un solo nucleótido (SNVs), inserciones y deleciones (InDels), y variantes de número de copias (VNCs) que implican deleciones y/o duplicaciones de uno o más exones, incluyendo aquellas que afectan a genes enteros.

## RESULTADOS

El análisis de los resultados reveló datos de importancia clínica y permitió identificar la existencia de variantes en los genes BRCA 1 y BRCA 2 del genoma de pacientes con CaP hormono-sensibles y CPRC. Los datos se integraron para una mejor comprensión (Tabla 1).

Un total de 22 pacientes fueron incluidos en el presente estudio, 12 de ellos fueron pacientes con diagnóstico de CPRC y 10 pacientes con diagnóstico de CaP hormono-sensible. Solo en tres de las muestras de pacientes con CPRC se encontraron variantes relevantes de BRCA 1 y BRCA 2, mientras que en los pacientes con CaP hormono-sensible no se detectaron variantes de BRCA 1 y BRCA 2 (Tabla 1).

**Tabla 1. Estadificación clínica, resultados de laboratorio y tratamiento**

# Paciente	GEN	APE	T	Gleason	FA	Ca	LDH	Invasión perineural	Invasión Linfovascular	Tratamiento
Pacientes con CPRC										
1	-	>100 ng/mL	T2b	8(4+4)	88 UI/L.	8.9 mg/dL.	176 UI/L.	Si	No	Enzalutamida TDA
2	-	14900 ng/ mL	T2b	8(4+4)	345 UI/L.	9.1 mg/dL.	211 UI/L.	No	No	Enzalutamida TDA
6	-	0.774 ng/ mL	T2c	8(4+4)	137 UI/L.	9.7 mg/dL.	161 UI/L.	No	No	Apalutamida TDA
7	BRCA1	17200 ng/ mL	T2a	6(3+3)	130 UI/L.	8.6 mg/dL.	294 UI/L.	No	No	Enzalutamida Denosumab TDA
8	-	43.3 ng/ mL	T2c	7(4+3)	111 UI/L.	9.0 mg/dL.	145 UI/L.	No	No	Apalutamida TDA
9	-	8360 ng/ mL	T2c	9(4+5)	138 UI/L.	8.5 mg/dL.	255 UI/L.	Si	No	Docetaxel TDA

*Continúa*

10	BRCA2	231 ng/ mL	T1c	8(4+4)	130 UI/L.	9.0 mg/dL.	150 UI/L.	NO	NO	Enzalutamida TDA
11	-	1780 ng/ mL	T2c	8(4+4)	189 UI/L.	7.3 mg/dL.	200 UI/L.	No	No	Apalutamida TDA
14	-	370 ng/ mL	T2c	9(4+5)	296 UI/L.	9.0 mg/dL.	392 UI/L.	Si	No	Enzalutamida TDA
15	-	241 ng/ mL	T4	9(4+5)	196 UI/L.	8.6 mg/dL.	300 UI/L.	No	No	Enzalutamida TDA
16	BRCA1	1180 ng/ mL	T4	7(3+4)	270 UI/L.	8.6 mg/dL.	212 UI/L.	No	No	Enzalutamida TDA
21	-	23.4 ng/ mL	T2a	8(4+4)	79 UI/L.	9.9 mg/dL.	161 UI/L.	SI	No	Enzalutamida TDA
<b>Pacientes con cáncer de próstata hormonosensibles</b>										
3	-	45.7 ng/ mL	T2a	8(4+4)	109 UI/L.	9.0 mg/dL.	150 UI/L.	No	No	Docetaxel
5	-	12.6 ng/ mL	T2b	9(4+5)	126 UI/L.	8.8 mg/dL.	236 UI/L.	Si	No	Radioterapia Leuprorelina
12	-	0.49 ng/ mL	T1b	6(3+3)	84 UI/L.	9.5 mg/dL.	289 UI/L.	No	No	Etoposido/ Cisplatino
13	-	2.01 ng/ mL	T1b	6(3+3)	148 UI/L.	9.5 mg/dL.	145 UI/L.	No	No	Vigilancia
17	-	2.36 ng/ mL	T1a	6(3+3)	67 UI/L.	9.0 mg/dL.	140 UI/L.	No	No	Vigilancia
18	-	6.42 ng/ mL	T1a	6(3+3)	126 UI/L.	9.0 mg/dL.	386 UI/L.	No	No	RHP negativo
19	-	4.49 ng/ mL	T2a	7(3+4)	110 UI/L.	8.5 mg/dL.	130 UI/L.	No	No	Vigilancia
20	-	6.67 ng/ mL	T3b	9(4+5)	72 UI/L.	9.7 mg/dL.	250 UI/L.	No	No	RHP 06.07.12 negativo Biopsia pend. Vigilancia
23	-	2.35 ng/ mL	T1a	7(3+4)	129 UI/L.	10 mg/dL.	145 UI/L.	No	No	Vigilancia
24	-	2.01 ng/ mL	T2a	7(4+3)	104 UI/L.	9.1 mg/dL.	207 UI/L.	No	No	Leuprorelina

Antígeno prostático específico (APE); Estadificación clínica-**T1**: tumor no palpable clínicamente y no visible por imagen; **T1a**: hallazgo histológico incidental en  $\leq 5\%$  del tejido resecado; **T1b**: hallazgo histológico incidental en  $> 5\%$  del tejido resecado; **T1c**: tumor identificado a través de biopsia por aguja en uno o dos lóbulos [ por elevación de antígeno prostático específico (APE)]; **T2**: tumor confinado a la próstata; **T2a**: el tumor compromete la mitad de un lóbulo o menos ; **T2b**: el tumor compromete más de la mitad de un lóbulo; **T2c**: el tumor compromete ambos lóbulos ; **T3**: tumor extra prostático que no es fijo o no invade estructuras adyacentes; **T3a**: extensión extracapsular; **T3b**: el tumor invade la vesícula seminal; **T4**: tumor fijo o con invasión de estructura adyacente: vejiga, recto, pared pélvica, músculos elevadores; **N1**: metástasis para ganglios linfáticos (GLs) regionales. **M1**: metástasis a distancia; **M1a**: metástasis en GLs no regionales; **M1b**: metástasis ósea; **M1c**: otros sitios de metástasis.

Puntaje Gleason: un puntaje más bajo significa que el cáncer es de crecimiento lento y no agresivo. Fosfatasa alcalina (FA); Calcio (Ca); Lactato deshidrogenasa (LDH).

Los análisis bioquímicos entre los grupos de análisis mostraron una mayor concentración en sangre del antígeno prostático específico (APE) en aquellos pacientes con CPRC comparados con los pacientes hormono-sensibles (Tabla 2), con una media de 3702 ng/mL, lo cual corresponde con clasificación de CPRC, en el cual se presenta incremento del APE a pesar del tratamiento.

**Tabla 2. Información de las variantes genéticas identificadas**

# Paciente	Gen con variante	Función	Variante	Interpretación
Resistentes a la castración				
7	BRCA1 <b>(BRCA1 Asociado a la reparación del ADN)</b>	Fosfoproteína nuclear que mantiene la estabilidad genómica y actúa como supresor de tumores. Se conjuga con otros supresores de tumores, sensores de daños en el ADN y transductores de señales para formar el complejo de vigilancia del genoma asociado a BRCA1 (BASC).	c.5030_5033del (p.Thr1677Ilefs*2)	Este cambio de secuencia crea una señal de parada prematura (p.Thr1677Ilefs*2) en el gen BRCA1. Se espera que dé lugar a un producto proteico ausente o interrumpido. Esta variante se ha observado en individuos afectados de cáncer de mama y/o de ovario, y de cáncer de páncreas (PMID: 9150149, 21989927, 22144684, 22160602). Se sabe que las variantes de pérdida de función en BRCA1 son patogénicas (PMID: 20104584). Por estas razones, esta variante ha sido clasificada como patógena. <sup>(20) 12</sup>
10	BRCA2 <b>(Proteína de susceptibilidad al cáncer de mama tipo 2)</b>	La proteína BRCA2 se une a RAD51 que participa en la reparación del ADN. BRCA2 es un supresor de tumores.	c.1805G>T (p.Gly602Val)	Cambio que da lugar a un cambio de aminoácidos en la secuencia de la proteína codificada. No se ha informado de la presencia de c. 1805G>T en individuos afectados por el cáncer hereditario de mama y ovario, ni de pruebas experimentales que demuestren su impacto en la función de la proteína. Variante de significado incierto. <sup>(22)13</sup>
16	BRCA1 <b>(BRCA1 Asociado a la reparación del ADN)</b>	Fosfoproteína nuclear que mantiene la estabilidad genómica y actúa como supresor de tumores. Se conjuga con otros supresores de tumores, sensores de daños en el ADN y transductores de señales para formar el complejo de vigilancia del genoma asociado a BRCA1 (BASC).	c.1397G>A (p.Arg466Gln)	Variante que resulta en un cambio aminoácido. Cinco de cinco herramientas <i>in silico</i> predicen un efecto benigno de la variante en la función de la proteína. C.1397G>A ha sido reportado en la literatura en una familia afectada con cáncer hereditario de mama y ovario, pero sin evidencia fuerte de causalidad. Datos disponibles insuficientes sobre la significación de la variante. Variante de importancia incierta. <sup>(20) 12</sup>

Variantes de interés identificadas de los genes BRCA1 y BRCA2

Mientras que la actividad de la enzima lactato-deshidrogenasa (LDH), un marcador del estadio, el pronóstico y la respuesta al tratamiento, según el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos, mostró valores similares en ambos grupos. Con un valor promedio de 221 UI/L en el grupo CPRC, se encuentra dentro de los valores de referencia (140 UI/L - 280 UI/L). Solo 2 pacientes tuvieron una concentración más elevada (Tabla 1 y 3). Las concentraciones de calcio (Ca) registraron una media



de 9.6 mg/dL, considerando que los valores normales van de 8.5 mg/dL a 10.2 mg/dL, ninguno de los pacientes en ambos grupos presentó hipercalcemia (Tabla 1 y 3). Los valores de la media para la Fosfatasa Alcalina (Fa) para el grupo de pacientes con CPRC fue de 175 UI/L, lo cual representa un valor elevado con respecto a los valores normales (38 UI/L a 126 UI/L) en comparación con los pacientes de CaP hormo sensibles que se mantienen en parámetros normales (Tabla 3).

**Tabla 3. Análisis bioquímicos descriptivos**

	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>
LDH-CPRC (UI/L)	12	221.4167	75.45554
LDH-hormonosensibles(UI/L)	10	207.8000	83.53549
APE_CPRC (ng/mL)	12	<u>3702.4562</u>	<u>6238.17416</u>
APE-hormonosensible (ng/mL)	10	8.5100	13.53320
Ca-CPRC (mg/dL)	12	8.8500	.65157
Ca-hormonosensible (mg/dL)	10	9.2100	.45326
FA-CPRC (UI/L)	12	175.7500	85.77998
FA-hormonosensibles (UI/L)	10	107.5000	26.37444

CPRC: Cáncer de próstata resistente a la castración; Fosfatasa alcalina (FA); Calcio total (Ca); Lactato deshidrogenasa (LDH).

Respecto a la medida del tumor (T), las muestras analizadas variaron de T1c a T4, registrando el T2c una mayor frecuencia, lo cual significa que el tumor compromete ambos lóbulos de la próstata (Tabla 1). Con respecto a la escala de Gleason el puntaje con mayor frecuencia fue de 8 (4+4), por tanto, los tumores fueron considerados de riesgo alto para la progresión en la enfermedad localizada (Tabla 1). Finalmente, se llevó a cabo un registro de los tratamientos recibidos por los pacientes, entre los que se encuentran enzalutamida y apalutamida (Tabla 1).

En cuanto al análisis de los datos de secuenciación se encontró lo siguiente:

Para el caso del análisis de las variaciones de los genes de interés en los pacientes con CPRC, se encontró que el paciente número 7 presenta una variante de interés en el gen BRCA1, la cual ocasiona la aparición de un codón de paro prematuro durante la traducción a proteína, con lo cual condicionaría a la producción de una proteína más corta y a la pérdida de la función normal de la proteína de susceptibilidad al cáncer de mama tipo 1, esta variante ha sido clasificada como patógena previamente en algunos reportes (c.5030\_5033del, p.Thr1677Ilefs\*2), y en este estudio representa un 8.3% de la población estudiada.

En tanto que para el paciente número 10, se identificó una variante del gen BRCA 2, c.1805G>T (p.Gly602Val) y representa un 8.3% de los casos estudiados. Cabe señalar que el producto de este gen, participa en la reparación del DNA y la variante (cambio de guanina por timina) ocasiona un cambio de aminoácido (cambio de glicina por valina en la posición número 602) en la secuencia de la proteína, interesantemente esta variante no ha sido reportada previamente en la literatura, por lo que hasta el momento no se cuenta con elementos para aseverar que dicha variación tenga algún efecto en cuanto a la función proteica, por tanto el significado de la variante es incierto.

En un tercer paciente, el número 16, el gen BRCA 1, cuya función es ser supresor de tumores por su papel en la reparación del ADN, presenta una variante (c.1397G>A, p.Arg466Gln) el cual se traduce como un cambio de guanina por adenina; y condiciona a un cambio de arginina por glutamina en su secuencia proteica y que representa un 8.3% del grupo estudiado. Aunque esta variante ha sido previamente reportada en pacientes con cáncer de mama y ovario, los datos disponibles son insuficientes para aclarar su significado y relevancia.

Interesantemente todas las mutaciones estudiadas fueron encontradas exclusivamente en el grupo de pacientes CPRC.

## DISCUSIÓN

El gen BRCA1 que codifica para la proteína conocida como proteína de susceptibilidad al cáncer de mama tipo 1, y el gen BRCA2 que codifica para la proteína llamada proteína de susceptibilidad al cáncer de mama tipo 2. El primero participa en la reparación de roturas de doble cadena y/o recombinación homóloga,<sup>(14)</sup> mientras que la función descrita para el segundo, es la de biquitina-proteína ligasa E3 que media específicamente la formación de cadenas de poliubiquitina unidas a 'Lys-6' y desempeña un papel central en la reparación del ADN.<sup>(15)</sup>

En las neoplasias, una terapia dirigida y basada en la inhibición del mecanismo celular conocido como respuesta al daño del ADN (DDR), ofrece la posibilidad de una mayor ventana terapéutica para el paciente, al adaptar el tratamiento a los pacientes con tumores que carecen de funciones DDR específicas. La reciente aprobación del fármaco olaparib (Lynparza®), un inhibidor de la proteína poli adenosina difosfato-ribosiltransferasa (PARP), proteína con actividad antitumoral que juega un rol importante en las vías de reparación del ADN, es el primer medicamento contra el CPRC, una neoplasia que alberga importantes variantes en los genes BRCA 1, BRCA 2 y otros genes reparadores del ADN.<sup>(10,16)</sup> Un ensayo clínico de fase II reportó que olaparib tiene actividad antitumoral contra el CPRC metastásico de pacientes con variantes genéticas de genes que participan en la reparación del ADN, lo cual apoya la estratificación genómica del CPRC en la práctica clínica.<sup>(16)</sup>

En el presente trabajo reportamos la presencia de la variante 030\_5033del, p.Thr1677Ilefs\*2 para el BRCA1 (gen asociado a la reparación del ADN). Este cambio de secuencia crea una señal de paro prematuro para su transcripción, lo que podría dar lugar a una falta o alteración de la función proteica. Reportes previos mostraron la presencia de esta variante en otros tipos de cáncer, como el de mama, ovario y en cáncer de páncreas.<sup>(17-20)</sup> Cabe señalar que las variantes que conducen a la pérdida de función en BRCA1, se consideran patogénicas.<sup>(21)</sup> Por esta razón, esta variante ha sido clasificada como patógena.

Por primera vez, reportamos que la variante c.1805G>T (p.Gly602Val), encontrada en el gen BRCA2 (Proteína de susceptibilidad al cáncer de mama tipo 2), consistente en un cambio aminoácidos en la secuencia de la proteína codificada en un paciente con CPRC, sin embargo por no existir antecedentes de esta variante en cáncer hereditario de mama y ovario, ni en otros estudios experimentales, dicha variación **tiene significado incierto y son necesarios estudios ampliados al respecto.**

De manera reveladora, otra de las variantes encontradas en el presente estudio fue el cambio de c.1397G>A (p.Arg466Gln), en ella se registró la sustitución de aminoácidos. Al realizar diversos estudios *in silico*, se predijo un potencial efecto benigno de esta variante sobre la función de la proteína.<sup>(12)</sup> Aunque dicha variante ha sido reportada en la literatura para una familia afectada con cáncer hereditario de mama y ovario, no existe evidencia trascendente de causalidad. Por lo que para esta variante consideramos que los datos disponibles son insuficientes para inferir la significación de la variante.

Los factores desencadenantes del cáncer de próstata, no han sido dilucidados por completo, sin embargo algunos factores de riesgo como la edad avanzada, los antecedentes familiares, étnicos, las infecciones y la inflamación juegan un papel importante en el inicio del desarrollo del cáncer.<sup>(22)</sup> entre una multitud de otros factores, incluidos los metabólicos extrínsecos que afectan directamente la reparación del ADN,<sup>(3)</sup> por lo que la identificación de factores específicos asociados al riesgo de cáncer darán lugar a mejoras en las terapias existentes para esta patología.

## CONCLUSIONES

Los resultados presentados en el presente trabajo demuestran una serie de alteraciones de importancia clínica y en alguno de los casos la pérdida de función en las proteínas que intervienen en los mecanismos de la reparación del ADN. Interesantemente, algunos de estas variantes en los genes BRCA, aquí reportadas, son de significado incierto y han sido por primera vez dadas a conocer.

Así este trabajo aporta conocimiento que precisa algunos de los mecanismos que pudieran estar involucrados en la inducción del CIRC y con ello abonar al desarrollo de nuevas terapias para tratar esta forma letal de neoplasia.

Sin embargo, consideramos que las variantes encontradas y reportadas en el presente trabajo no son las únicas que están participando en este complejo mecanismo que conduce al desarrollo de una neoplasia y deberá hacerse el esfuerzo por profundizar el conocimiento sobre el papel funcional de estas y otras variantes no exploradas.

## AGRADECIMIENTOS

En especial se agradece la colaboración del personal perteneciente Laboratorio de Medicina Traslacional de la EMGS Y HCM (Servicio de Oncología Médica y Urología).

Se agradece la participación de la Dra. Noemí Cárdenas Rodríguez adscrita al Laboratorio de Neurociencias de la Subdirección de Medicina Experimental en el Instituto Nacional de Pediatría (INP), de la Myr. M. C. Mayra Cristina Galeana Hernández Jefa del curso de Oncología Médica y al Myr. M. C. Iván Ignacio Mejía Jefe de Laboratorio de Medicina Traslacional de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad. SQ-F, revisó y editó la versión final del artículo.

## FINANCIACIÓN

No se recibió patrocinio de ningún tipo para llevar a cabo este artículo.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

1. **Verze P, Cai T, Lorenzetti S.** The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nat Rev Urol.* 2016;13(7):379–86. doi: <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.89>
2. **Packer JR, Maitland NJ.** The molecular and cellular origin of human prostate cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1863(6 Pt A):1238–60. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.02.016>
3. **Turgeon M-O, Perry NJS, Poulogiannis G.** DNA Damage, Repair, and Cancer Metabolism. *Frontiers in Oncology.* 2018;8:15. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00015>
4. **Quintero-Fabián S, Arreola R, Becerril-Villanueva E, Torres-Romero JC, Arana-Argáez V, Lara-Riegos J, et al.** Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer. *Front Oncol.* 2019;9:1370. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01370> Role of Matrix Metalloproteína
5. **Brandão A, Paulo P, Teixeira MR.** Hereditary Predisposition to Prostate Cancer: From Genetics to Clinical Implications. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020;21(14):5036. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21145036>
6. **Rawla P.** Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol.* 2019;10(2):63–89. doi: <https://doi.org/10.14740/wjon1191>
7. **International Agency for Research on Cancer.** Mexico Source: Globocan 2020. World Health Organization; 2020.
8. **Stoyanova T, Riedinger M, Lin S, Faltermeier CM, Smith BA, Zhang KX, et al.** Activation of Notch1 synergizes with multiple pathways in promoting castration-resistant prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(42):E6457–66. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1614529113>
9. **Rebello RJ, Oing C, Knudsen KE, Loeb S, Johnson DC, Reiter RE, et al.** Prostate cancer. *Nat Rev Dis Primers.* 2021;7(1):1–27. doi: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>
10. **O'Connor MJ.** Targeting the DNA Damage Response in Cancer. *Molecular Cell.* 2015;60(4):547–60. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.10.040>
11. **Kamal O, Foster BR, Young DJ, Hansel DE, Coakley FV.** MRI appearance of BRCA-associated prostate cancer. *Clinical Imaging.* 2022;84:135–9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinimag.2022.02.007>
12. **ClinVar.** NM\_007294.4(BRCA1):c.1397G>A. 2021. NM\_007294.4(BRCA1):c.1397G>A (p.Arg466Gln) AND Breast-ovarian cancer, familial 1 - ClinVar - NCBI [Internet]. [cited 2022 Apr 3]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV000077069.3/>
13. **ClinVar - NCBI.** VCV000091758.14. 2021. VCV000091758.14 - ClinVar - NCBI [Internet]. [cited 2022 Apr 3]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/91758/>
14. **BRCA2 gene & protein.** BRCA2 BRCA2 DNA repair associated [ Homo sapiens (human) ]. 2022. The A. BRCA2 - Breast cancer type 2 susceptibility protein - Homo sapiens (Human) - BRCA2 gene & protein [Internet]. [cited 2022 Apr 2]. p. 1–18. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P51587>

15. **BRCA1.** BRCA1 → Breast cancer type 1 susceptibility protein. 2022. BRCA1 → Breast cancer type 1 susceptibility protein [ EC 2.3.2.27 ] [Internet]. nextprot. [cited 2022 Apr 2]. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P38398>
16. **Mateo J, Porta N, Bianchini D, McGovern U, Elliott T, Jones R, et al.** Olaparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer with DNA repair gene aberrations (TOPARP-B): a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *The Lancet Oncology.* 2020;21(1):162–74. doi: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30684-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30684-9)
17. **Stoppa-Lyonnet D, Laurent-Puig P, Essioux L, Pagès S, Ithier G, Ligot L, et al.** BRCA1 sequence variations in 160 individuals referred to a breast/ovarian family cancer clinic. Institut Curie Breast Cancer Group. *Am J Hum Genet.* 1997;60(5):1021–30.
18. **Ghiorzo P, Pensotti V, Fornarini G, Sciallero S, Battistuzzi L, Belli F, et al.** Contribution of germline mutations in the BRCA and PALB2 genes to pancreatic cancer in Italy. *Fam Cancer.* 2012;11(1):41–7. doi: <https://doi.org/10.1007/s10689-011-9483-5>
19. **Caputo S, Benboudjema L, Sinilnikova O, Rouleau E, Bérout C, Lidereau R, et al.** Description and analysis of genetic variants in French hereditary breast and ovarian cancer families recorded in the UMD-BRCA1/BRCA2 databases. *Nucleic Acids Research.* 2012;40(D1):D992–1002. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1160>
20. **Schneegans SM, Rosenberger A, Engel U, Sander M, Emons G, Shoukier M.** Validation of three BRCA1/2 mutation-carrier probability models Myriad, BRCAPRO and BOADICEA in a population-based series of 183 German families. *Fam Cancer.* 2012;11(2):181–8. doi: <https://doi.org/10.1007/s10689-011-9498-y>
21. **Borg A, Haile RW, Malone KE, Capanu M, Diep A, Törngren T, et al.** Characterization of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations and variants of unknown clinical significance in unilateral and bilateral breast cancer: the WECARE study. *Hum Mutat.* 2010;31(3):E1200-1240. doi: <https://doi.org/10.1002/humu.21202>
22. **Shrestha E, Coulter JB, Guzman W, Ozbek B, Hess MM, Mummert L, et al.** Oncogenic gene fusions in nonneoplastic precursors as evidence that bacterial infection can initiate prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118(32):e2018976118. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.2018976118>