

# Estudio de los genes *BRCA1* y *BRCA2* en 200 familias con cáncer de mama hereditario\*

O. Díez Gibert<sup>1</sup>, M. Cornet Ciurana<sup>1</sup>, S. Gutiérrez Enríquez<sup>1</sup>, M. Domènech Maria<sup>1</sup>, T. Ramón y Cajal Asensio<sup>2</sup>, C. Alonso Muñoz<sup>2</sup>, M. Baiget Bastús<sup>1</sup>.

## Resumen

Alrededor de un 5-10% de todos los casos de cáncer de mama (CM) son debidos a predisposición heredada, y parte de ellos a mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. La detección de los portadores de mutaciones es útil para el seguimiento, detección precoz y prevención del CM y cáncer de ovario (CO) hereditario.

Se analizaron los genes *BRCA1* y *BRCA2* en 200 familias españolas seleccionadas según criterios de riesgo:  $\geq 3$  casos de CM + CO (47),  $\geq 3$  CM (108), 2 CM + CO (10), 2 CM (25) y CM o CO + CM masculino (10). La detección de mutaciones se efectuó mediante SSCP+PTT o DHPLC y secuenciación posterior de las variantes.

Se identificaron 40 mutaciones distintas en 59 familias (29,5%), 30 en *BRCA1* y 29 en *BRCA2*. Los mayores porcentajes se encontraron en familias con CM y CO (45,6%) y con CM masculino (50%). Este porcentaje fue inferior al 20% en familias con sólo CM. Debido a la gran variedad y localización de las mutaciones, el estudio molecular de ambos genes debe abarcar su secuencia completa y la utilización de distintas técnicas.

**Palabras clave:** Cáncer de mama hereditario, gen *BRCA1*, gen *BRCA2*.

## Summary. Study of *BRCA1* and *BRCA2* genes in 200 families with hereditary breast cancer

*It is currently estimated that 5-10% of all breast cancers (BC) are hereditary and attributable to mutations in several highly-penetrant susceptibility genes, of which only two have been identified: BRCA1 and BRCA2.*

*We screened index cases from 200 Spanish breast/ovarian cancer families for germ-line mutations in all coding regions and exon/intron boundaries of the BRCA1 and BRCA2 genes, using SSCP, PTT and DHPLC analysis, followed by direct sequencing. Families were distributed as follows:  $\geq 3$  BC + ovarian cancer (OC) cases (47),  $\geq 3$  BC (108), 2 BC + OC (10), 2 BC (25) and BC or OC + male BC (10). We identified 40 different mutations in 59 families (29.5%), 30 in BRCA1 and 29 in BRCA2. High percentages of mutation were found in families with breast and ovarian cancer cases (45.6%) and male breast cancer (50%). Percentages in families with only breast cancer cases was <20%. Due to the high heterogeneity of type and location of the mutations, it is necessary to screen the whole sequence of the genes, using different laboratory techniques.*

**Keywords:** Hereditary breast cancer, *BRCA1*, *BRCA2*.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama (CM) es la neoplasia más frecuente entre las mujeres de los países industrializados. Uno de los principales factores de riesgo es la presencia de CM en familiares directos. Aproximadamente, de un 5 a un 10% de todos los casos de CM son debidos a predisposición hereditaria. Hasta hoy, los dos genes principales de susceptibilidad identificados son el gen *BRCA1* (MIM 113705), localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21), y el gen *BRCA2* (MIM 600185), localizado en el cromosoma

13 (13q12) (1,2). Ambos genes desempeñan un papel fundamental en la reparación de las lesiones del ADN y actúan en múltiples procesos celulares (transcripción, regulación del ciclo celular, apoptosis, etc.). Su inactivación, debida a mutaciones o alteraciones de distintos tipos, origina inestabilidad genética, provocando indirectamente la aparición del tumor por acumulación de mutaciones en otros genes, algunos de ellos reguladores directos del ciclo celular. Debido a sus funciones de mantenimiento de la integridad del genoma, *BRCA1* y *BRCA2* se consideran genes supresores de tumores (3,4).

Las mutaciones heredadas en dichos genes son responsables de una amplia proporción de casos de CM o cáncer de ovario (CO) (25-65%) en mujeres con extensos antecedentes familiares (5), aunque los porcentajes varían según la población analizada (6). El riesgo de CM a lo largo de la vida para las portadoras de una mutación puede superar el 70% para ambos genes y el de CO se estima en un 44-63% para *BRCA1* y un 14% para *BRCA2* (5,7). Adicionalmente,

\* Este trabajo corresponde a una comunicación científica presentada y premiada en el XXIV Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, celebrado en Valladolid el 19, 20 y 21 de octubre de 2005

<sup>1</sup>Servicio de Genética

<sup>2</sup>Servicio de Oncología Médica

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

aumenta el riesgo de desarrollar una segunda neoplasia. La presencia de mutaciones en el gen *BRCA2* se asocia con un aumento del riesgo de CM masculino.

Cuando la historia personal o familiar indica la posibilidad de un síndrome de cáncer hereditario, el análisis genético es de gran interés y utilidad clínica. La detección de una mutación tiene implicaciones importantes en el portador y en sus parientes, puesto que cada familiar de primer grado de un portador, padres, hijos o hermanos, tiene la probabilidad de un 50% de ser portador. La identificación de los portadores de mutaciones permite aplicar medidas de seguimiento, detección precoz y prevención.

En el presente trabajo se describe el análisis de los genes *BRCA1* y *BRCA2* en 200 familias españolas con posible susceptibilidad al CM/CO hereditario.

## Pacientes estudiados

Se analizaron los genes *BRCA1* y *BRCA2* en pacientes con CM e historia familiar de CM o CO, atendidos en la Unidad de Consejo Genético en Cáncer del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona. Los estudios fueron aprobados por el comité de ética del centro y en todos los casos se obtuvo el consentimiento de los participantes.

Las 200 familias se seleccionaron según criterios de riesgo, atendiendo al número de casos de CM (al menos uno de ellos diagnosticado antes de los 50 años), a la presencia o no de CO además del CM y a la presencia de CM en hombres. La serie incluyó 47 familias con  $\geq 3$  casos de CM + CO, 108 familias con  $\geq 3$  CM, 10 familias con 2 CM + CO, 25 familias con 2 CM y 10 familias con CM o CO + CM masculino.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En todos los casos se obtuvo la información sobre los antecedentes familiares de cáncer y se procuró en lo posible realizar el análisis en el individuo de la familia con mayor probabilidad de ser portador de una mutación (con el diagnóstico a menor edad, con mayor afectación u hombres con CM).

Del individuo índice de cada familia se extrajo ADN y ARN a partir de leucocitos de sangre periférica. Los fragmentos de las secuencias de *BRCA1* y *BRCA2* se amplificaron por PCR con cebadores previamente descritos (8,9). La numeración de los nucleótidos sigue los cADN descritos (*BRCA1*: Genbank U14680; *BRCA2*: NM\_000059).

Un primer grupo de 73 familias se analizó mediante SSCP (*single strand conformational polymorphism analysis*) + PTT (*protein truncation test*) y las restantes con DHPLC (cromatografía líquida de alta resolución aplicada a ADN). En todas las muestras con movilidad anormal se realizó la secuenciación posterior. Las alteraciones en el mecanismo de eliminación de intrones y empalme de exones (*splicing*) se caracterizaron mediante el análisis de ARN. Las grandes deleciones o inserciones se detectaron mediante la amplificación de combinaciones de sondas de hibridación (MLPA, *multiplex ligation-dependent probe amplification*). A continuación se describen los métodos brevemente.

SSCP: los fragmentos amplificados por PCR se diluyeron en formamida, se desnaturalizaron a 95 °C y se enfriaron en hielo. Posteriormente, se cargaron en geles de poliacrilamida al 12% en condiciones no desnaturilizantes. Las electroforesis se realizaron durante 7 h a 15 W a 4 °C. Los geles se tificaron con nitrato de plata para visualizar las bandas.

PTT: se amplificaron mediante PCR los fragmentos correspondientes al exón 11 de *BRCA1* y a los exones 10 y 11 de *BRCA2*. Uno de los cebadores (5'-3') contenía la secuencia promotora del fago T7 de inicio de la traducción. La transcripción y traducción de las secuencias se realizó *in vitro* en una solución con un lisado celular (TNT/T7 *coupled reticulocyte lysate system*; Promega, Madison, WI) y metionina marcada con <sup>35</sup>S (Amersham, Aylesburg, UK). Los polipéptidos marcados obtenidos se separaron mediante electroforesis y se detectaron por exposición radiográfica. La medida de los productos anómalos indica la localización de la mutación con codón de parada en la secuencia del gen (10).

DHPLC: el análisis de cada fragmento del gen, se realizó mediante un aparato de cromatografía líquida WAVE™ DNA Fragment Analysis System (Transgenomic Ltd; Chesire, UK), utilizando columnas de poliestireno/divinilo-benzeno (DnaSep™, Transgenomic). La composición de la fase móvil fue: acetato de trietilamonio 0,1 M (solución A) y acetato de trietilamonio 0,1 M con un 25% de acetonitrilo (solución B). La optimización de la temperatura y del gradiente para eluir distintos amplicones se calculó mediante el programa Wave Maker v. 4,1 (Transgenomic).

Previo al análisis mediante DHPLC, los fragmentos de ADN se amplificaron por PCR, se desnaturalizaron a 95 °C y se enfriaron gradualmente para su rehibridación, obteniéndose homodúplex y heterodúplex en los casos en los que se hallaba presente una variación en la secuencia. La elución de los fragmentos de ADN se realizó con un flujo de 0,9 mL/min y un aumento de la solución B del 2%/min. Los fragmentos de ADN se detectaron a 260 nm, generándose cromatogramas.

Secuenciación: en todos los casos en los que un fragmento presentó movilidad anormal se reamplificó y secuenció el fragmento para caracterizar la mutación. La secuenciación se llevó a cabo en un aparato ABI Prism 3100 (Applied Biosystems, Foster, CA, EE.UU).

MLPA: en las familias sin mutación detectada con los métodos descritos, se efectuó la detección de grandes reordenamientos mediante la hibridación de conjuntos de sondas marcadas, específicas de los distintos exones de cada gen. La cuantificación de la dosis alélica, indicando ganancias o pérdidas de fragmentos, se efectuó mediante la detección de la señal emitida por cada sonda hibridada. Se utilizaron los equipos de reactivos P002 y P042 siguiendo las recomendaciones de los fabricantes (MRC Holland, The Netherlands).

Análisis de ARN: las variantes detectadas en regiones potencialmente implicadas en el procesamiento correcto del mRNA se analizaron mediante retrotranscripción *in vitro* (RT-PCR) del ARN a cADN y posterior secuenciación utilizando cebadores específicamente diseñados en cada caso.

## RESULTADOS

Se identificaron 40 mutaciones distintas en 59 familias (29,5%), 30 en *BRCA1* y 29 en *BRCA2* (tabla I). El número de mutaciones y los porcentajes de familias con mutación se exponen en la tabla II. No se consideraron las variantes de significado desconocido ni los polimorfismos poblacionales. La mayoría (84%) de las mutaciones consistió en pequeñas deleciones o inserciones de nucleótidos, que generaban la aparición prematura de codones de terminación y la presunta síntesis anormal de la proteína correspondiente. Se identificó la mutación 185delAG en *BRCA1* en 5 familias y las mutaciones 3036del4 y 9254del5 en *BRCA2* en 3 y 6 familias,

**Tabla I.** porcentaje de mutaciones identificadas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en 200 familias españolas

Fenotipo familiar	<i>BRCA1</i> (%)	<i>BRCA2</i> (%)	<i>BRCA1/2</i> (%)
47 (≥ 3 CM + CO)	17 (74)	6 (26)	23 (49)
108 (≥ 3 CM)	6 (33)	12 (67)	18 (17)
10 (2 CM + CO)	1 (33)	2 (67)	3 (33)
25 (2CM)	6 (60)	4 (40)	10 (40)
10 (CM/CO + CMmasc)	0	5(100)	5 (50)
Total	30 (51)	29 (49)	59 (29,5)

CM: cáncer de mama; CO: cáncer de ovario. CMmasc: cáncer de mama masculino.

respectivamente. Las figuras 1b, 2b y 3b muestran los perfiles de dichas mutaciones obtenidos mediante DHPLC comparados con los de individuos no portadores.

También se identificaron sustituciones de nucleótidos en las secuencias cercanas a la frontera exón-intrón (en *BRCA1*: IVS5+1G>A e IVS18-1G>C). Mediante el estudio de ARN se observó que causaban, respectivamente, la pérdida de 22 nucleótidos, con la aparición de un codón de terminación prematuro, y la eliminación completa del exón 18. Se detectó una gran alteración en *BRCA1* consistente en la pérdida completa de uno de los dos alelos del gen.

En ambos genes se identificaron variantes en la secuencia, consistentes en la sustitución de nucleótidos, que generan cambios de aminoácidos en la proteína, cuyo efecto biológico es desconocido. También se identificaron numerosos polimorfismos poblacionales.

## DISCUSIÓN

La complejidad y extrema laboriosidad del estudio de ambos genes y la escasa prevalencia de mutaciones en la población hacen necesaria la selección cuidadosa de mujeres y familias en las que existe una probabilidad razonable de detectar una alteración. Aunque no existen criterios de selección unánimemente establecidos, los principales criterios de riesgo de predisposición heredada son: un alto número de casos de CM y especialmente de CO en la familia, una edad precoz de diagnóstico y la presencia de CM masculino, entre otros.

El mayor porcentaje de mutaciones apareció en familias con tres o más casos de CM y de CO (49%), con predominio de mutaciones en el gen *BRCA1*. Esta relación se ha constatado en numerosos estudios, aunque no permite eludir el estudio de *BRCA2* en familias con casos de CO. El porcentaje de mutaciones fue menor en familias que sólo presentaban casos de CM (17%). En este caso, la mayoría de mutaciones fue en *BRCA2*. Tanto el tipo de asociación como la mayor probabilidad de detectarse una mutación en familias con un mayor número de miembros afectados son semejantes a los obtenidos en otros estudios de familias españolas (11-13).

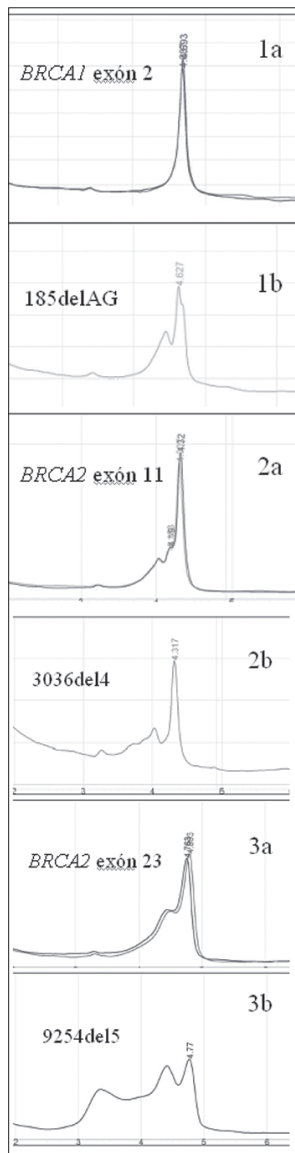
En el presente estudio, la alta frecuencia de mutaciones encontrada en familias sólo con dos mujeres afectas (superior al 30%) puede deberse a factores no conocidos específicos de estas familias (presencia de CM bilateral, características anatomopatológicas del tumor, otras neoplasias asociadas en la familia), que podrían suponer un indicador de probabilidad de mutación, señalando la conveniencia de ofrecer el análisis molecular a estos grupos familiares (14). No obstante, los resultados podrían estar sesgados

**Tabla II.** Descripción de las mutaciones identificadas en los genes *BRCA1* y *BRCA2*

<i>BRCA1</i>			<i>BRCA2</i>		
exón/intrón	Mutación	Efecto	Exón/intrón	Mutación	Efecto
2	185delAG	39X	3	373G>T	E49X
2	189insTGTC	41X	8	886delGT	223X
3	243delA	49X	10	1825delA	540X
5	330A>G	(ARN)	11	3036del4	958X
IVS5	331+1G>A	(ARN)	11	3374del A	1053X
IVS5	331+5G>A	(ARN)	11	3683T>G	L1152X
11	954delC	297X	11	3492insT	1098X
11	1240C>Tdel2	375X	11	4088delA	1292X
11	1452G>T	E445X	11	5344del4*	1710X
11	1498delT*	474X	11	6082del4*	1962X
11	2080delA	700X	11	6503delTT	2098X
11	3478delTT	1131X	11	6857del2	2223X
11	3598del11	1163X	14	7636delTT*	2473X
13	4314delAC	1402X	18	8300insTT	2694X
18	5196del3	(ARN)	23	9254del5	3015X
18	5236G>C	G1706A <sup>1</sup>	25	9514G>T	E3096X
18	5263G>A	S1715N <sup>1</sup>	25	9538delAA	3109X
IVS18	5271+5G>A	(ARN)			
IVS18	5272-1G>C	(ARN)			
22	5508dupT*	1829X			
23	5537delA	1833X			
24	5625G>T	E1836X			
	del <i>BRCA1</i> *	(delección de un alelo)			

X: creación de un codón de parada; (ARN): alteración de la transcripción. <sup>1</sup>alteración funcional de la proteína.

\*mutaciones no presentes en la base de datos internacional (Breast Cancer International Core) (marzo 2007).



**Figura 1.** Perfiles de elución obtenidos mediante DHPLC del exón 2 de *BRCA1* y de un fragmento del exón 11 y del exón 23 de *BRCA2*. 1a, 2a y 3a: muestras de ADN de no portadores. 1b, 2b y 3b: muestras con mutación.

debido el bajo número de familias analizadas en este subgrupo y parece necesario el estudio de una serie mayor de familias con dos afectas para la determinación real del riesgo. En cualquier caso, la presencia de CO es un indicador de probabilidad de mutación heredada, incluso en familias con pocas mujeres afectas, como se ha evidenciado en otros estudios (15).

La frecuencia de mutaciones en familias con CM masculino fue elevada, coincidiendo con los resultados de otros autores. Puede deducirse, por tanto, que la presencia en una familia de un hombre con CM es un buen indicador de probabilidad de predisposición hereditaria, casi específicamente ligada a mutaciones en *BRCA2* (16).

Hasta la fecha se han descrito centenares de mutaciones distintas en *BRCA1* y *BRCA2* (17). Suelen consistir en pequeñas inserciones o deleciones, que provocan un cambio en el marco de lectura de la secuencia, dando lugar a la aparición de un codón de parada prematuro y al truncamiento de la proteína. Sin embargo, también se encuentran pequeñas variaciones en zonas del gen implicadas en el proceso de eliminación de intrones (*splicing*). En estos casos, es imprescindible añadir el análisis de ARN al estudio para verificar y caracterizar su efecto.

En este estudio se identificó una gran alteración, no descrita anteriormente, que consiste en la pérdida de uno de los dos alelos del gen *BRCA1*. Diversos estudios han evidenciado la existencia de grandes reestructuraciones en ambos genes, en un porcentaje de familias que varía según la población analizada (18).

En ambos genes las mutaciones se distribuyen a lo largo de toda la secuencia y son distintas en cada familia, aunque existen mutaciones recurrentes, que aparecen de forma repetida en familias no emparentadas. La mutación 185delAG es la más frecuente en el gen *BRCA1*. Aparece en la etnia judía, con máxima prevalencia en la asquenazi, y es una de las mutaciones recurrentes en población española, debido a la presencia histórica de judíos en la península Ibérica (19). En *BRCA2*, la mutación 3036del4 es común en Europa y la 9254del5 se halla presente en familias con origen en Cataluña y el litoral mediterráneo.

En el presente estudio, se indica únicamente la frecuencia de aquellas variantes detectadas que puedan ser consideradas patológicas (causan codones de parada o errores en la transcripción o alteran la función de la proteína), pero son relativamente frecuentes las sustituciones de nucleótidos que causan el cambio de aminoácidos (30%). La interpretación de su posible efecto patológico es difícil, puesto que dependiendo del dominio funcional de la proteína en el que se localicen pueden o no alterar su función. Para determinar su efecto deben realizarse diversos estudios, algunos de ellos de carácter altamente experimental, fuera del ámbito de la rutina diagnóstica. Por último, ambos genes presentan numerosos polimorfismos, variaciones en la secuencia con una cierta frecuencia mínima en la población general ( $\geq 1\%$ ) y no asociados a patología.

Globalmente, hasta un 70% de las familias estudiadas no presentó una mutación en *BRCA1* o *BRCA2*, aunque el porcentaje varió según el grupo de riesgo. La ausencia de detección puede deberse a la incapacidad de las técnicas actuales para la detección de todas las alteraciones, a la selección para el análisis de una mujer con CM esporádico en el seno de una familia con CM familiar, etc. Por otra parte, puede tratarse de un síndrome hereditario, pero debido a una mutación en un gen de alta penetrancia no conocido aún o bien de combinaciones de variantes de riesgo en genes de baja penetrancia, que en colaboración y junto con factores ambientales causen un alto porcentaje de agregaciones familiares de CM y CO (20,21). Recientemente, se han identificado genes de susceptibilidad heredada al CM, con baja o moderada penetrancia (*ATM*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2*), que pueden ser responsables cada uno de ellos de un pequeño porcentaje de agregaciones familiares de dicha neoplasia (22).

Debido a la complejidad clínica del síndrome, al requerimiento de considerable información de antecedentes familiares y personales y a la laboriosidad y complejidad del análisis molecular, la realización de estos estudios requiere la colaboración de un equipo profesional multidisciplinario.

### Agradecimientos

Este estudio se financió parcialmente con el proyecto FIS PI041832.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 1994; 266: 66-71.

2. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995; 378: 789-92.
3. Deng CX, Brodie SG. Roles of BRCA1 and its interacting proteins. *Bioessays* 2000; 22:728-37.
4. Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell* 2002; 108:171-82.
5. Ford D, Easton DF, Stratton M, Narod S, Goldgar D, Devilee P, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 676-89.
6. Szabo CI, King MC. Population genetics of BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet* 1997; 60:1013-20.
7. King MC, Marks JH, Mandell JB, New York Breast Cancer Study Group. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003;302:643-6.
8. Friedman LS, Ostermeyer EA, Szabo CI, Dowd D, Lynch ED, Rowell SE, et al. Confirmation of BRCA1 by analysis of germline mutations linked to breast and ovarian cancer in ten families. *Nat Genet* 1994; 8:399-404.
9. Van Orsouw NJ, Dhanda RK, Elhaji Y, Narod SA, Li FP, Eng C, et al. A highly accurate, low cost test for BRCA1 mutations. *J Med Genet* 1999; 36:747-53.
10. Hogervorst FB, Cornelis RS, Bout M, van Vliet M, Oosterwijk JC, Olmer R, et al. Rapid detection of BRCA1 mutations by the protein truncation test. *Nat Genet* 1995;10:208-12.
11. Osorio A, Barroso A, Martínez B, Cebrián A, San Román JM, Lobo F, et al. Molecular analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in 32 breast and/or ovarian cancer Spanish families. *Br J Cancer* 2000;82:1266-70.
12. Velasco E, Esteban E, Infante M, Duran M, Lastra E, García C, et al. Estudio molecular en los genes BRCA1 y BRCA2 en 153 familias con cáncer de mama de Castilla y León (España): identificación de nueve variantes de efecto desconocido no descritas. *Med Clin (Barc)* 2002; 119: 441-5.
13. Diez O, Osorio A, Duran M, Martínez-Ferrandis JI, de la Hoya M, Salazar R, et al. Analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in Spanish breast/ovarian cancer patients: a high proportion of mutations unique to Spain and evidence of founder effects. *Hum Mut* 2003; 22:301-12.
14. Ligtenberg MJ, Hogervorst FB, Willems HW, Arts PJ, Brink G, Hageman S, et al. Characteristics of small breast and/or ovarian cancer families with germline mutations in BRCA1 and BRCA2. *Br J Cancer* 1999; 79:1475-8.
15. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DEC, Rosen B, Bradley L, Kwan E, et al. Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 2001;68:700-10.
16. Stratton MR, Ford D, Neuhasen S, Seal S, Wooster R, Friedman LS, et al. Familial male breast cancer is not linked to the BRCA1 locus on chromosome 17q. *Nat Genet* 1997; 7:103-7.
17. Breast Cancer Information Core (BIC): [http://www.nhgri.nih.gov/Intramural\\_research/Lab\\_transfer/Bic/](http://www.nhgri.nih.gov/Intramural_research/Lab_transfer/Bic/)
18. Mazoyer S. Genomic rearrangements in the BRCA1 and BRCA2 genes. *Hum Mutat* 2005;25:415-22.
19. Diez O, Osorio A, Robledo M, Barroso A, Domènech M, Cortés J, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 Jewish mutations in Spanish breast cancer patients. *Br J Cancer* 1999;79:1302-3.
20. Nathanson KL, Weber BL. "Other" breast cancer susceptibility genes: searching for more holy grail. *Hum Mol Genet* 2001;10:715-20.
21. Antoniou AC, Pharoah PD, McMullan G, Day NE, Stratton MR, Peto J, et al. A comprehensive model for familial breast cancer incorporating BRCA1, BRCA2 and other genes. *Br J Cancer* 2002;86:76-83.
22. Walsh T, King MC. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer Cell* 2007;11:103-5.

**Correspondencia:**

Orland Diez Gibert  
Programa de Medicina Molecular i Genètica  
Hospital Universitari Vall d'Hebron  
Laboratori d'Oncogenètica  
(sot. Hospital Materno-Infantil)  
Passeig Vall d'Hebron, 119-129  
08035 Barcelona  
Odiez@vhebron.net