Documento descargado de http://www.elsevier.es el 19/06/2013. Copia para uso personal, se prohíbe la transmisión de este documento por cualquier medio o formato.

Estudio molecular de 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

Localizador web
Artículo 47.348

Eladio Velasco Sampedro[a,*], Eva Esteban Cardeñosa[a,*], Mar Infante Sanz[a,*], Mercedes Durán Domínguez[a,*], Enrique Lastra Aras[b], Carlos García Girón[b] y Cristina Miner Pino[a]

[a]*Laboratorio de Cáncer de Mama. IBGM. Facultad de Medicina. Valladolid. España.*
[b]*Servicio de Oncología. Hospital General Yagüe. Burgos. España.*

FUNDAMENTO: **El cáncer de mama hereditario representa un 5-10% de todos los cánceres de mama. En la actualidad dos genes están asociados a la enfermedad, el *BRCA1* y el *BRCA2*. Se sabe que mutaciones en estos genes aumentan el riesgo de padecer cáncer de mama hasta en un 80% en las portadoras. El objetivo de este estudio es la detección y caracterización de mutaciones en estos genes, en pacientes con cáncer de mama seleccionadas según criterios de moderado-alto riesgo pertenecientes a la Comunidad Autónoma de Castilla y León.**
PACIENTES Y MÉTODO: **Se analizaron 207 muestras seleccionadas pertenecientes a 153 familias. Se realizó extracción de ADN de sangre periférica y para la detección de mutaciones se emplearon técnicas de PCR múltiplex-heterodúplex-CSGE y secuenciación.**
RESULTADOS: **Se detectaron 45 cambios nucleotídicos distintos (23 en *BRCA1* y 22 en *BRCA2*) en 74 familias (48,4% del total), que corresponden a 13 polimorfismos (29 familias), 19 variantes de efecto desconocido (26 familias), de las que 9 son descritas por primera vez en este trabajo, y 13 patológicas (19 familias; 12,42% de las familias). De las mutaciones patológicas, 8 (42,1%) afectan a *BRCA1* y 11 (57,9%) a *BRCA2*. La mutación más frecuente es la 3036delACAA de *BRCA2*, presente en 4 familias no relacionadas.**
CONCLUSIONES: **El alto porcentaje de mutaciones, polimorfismos y variantes de efecto desconocido detectado revela la alta resolución del método de análisis mutacional utilizado, así como la validez de los criterios de selección aplicados. Existe un gran número de variantes de significado desconocido cuyo papel en la enfermedad debe ser clarificado mediante diferentes tipos de estudios, entre los que se incluye su tipificación en poblaciones control.**

Palabras clave: Cáncer de mama. *BRCA1. BRCA2.* Polimorfismo. Análisis de mutaciones.

Molecular study of the *BRCA1* and *BRCA2* genes in 153 breast cancer families from Castilla y León (Spain): new nine unclassified variants identified

BACKGROUND: **It is estimated that 5-10% of breast cancers have an hereditary origin, germline mutations of BRCA1 and BRCA2 genes causing a predisposition. In the present study we analyzed BRCA1 and BRCA2 mutations in moderate to high risk breast cancer patients in order to find out the types and frequency of these mutations in the Spanish regional community of Castilla y León.**
PATIENTS AND METHOD: **We studied 207 moderate to high risk patients from 153 selected families. Genomic DNA was extracted from peripheral blood and analyzed by multiplex polymerase chain reaction-heteroduplexes-conformation sensitive gel electrophoresis (multiplex PCR-HA-CSGE). All variants detected were sequenced to further verify the mutation.**
RESULTS: **45 alterations (23 in BRCA1 and 22 in BRCA2) were identified in 74 families (48.4%), corresponding to 13 polymorphisms (29 families), 19 unclassified variants (26 families) –of which 9 have not been previously described– and 13 cancer-prone mutations (19 families; 12.42% of all families). Eight out of the 19 deleterious mutations (42.1%) were detected in the BRCA1 gene and 11 (57.9%) in the BRCA2 gene. The most prevalent mutation was 3036delACAA, which was detected in four unrelated families.**
CONCLUSIONS: **The high proportion of mutations, polymorphisms and unclassified variants we have detected may be the result of the sensitive procedure and the risk selection criteria used in this study. There is a high proportion of unclassified variants. Their role in the disease must be clarified through more studies, including their typing in control samples.**

Key words: Breast cancer. *BRCA1. BRCA2.* Polymorphism. Mutation analysis.

El cáncer de mama es el tumor más frecuente en mujeres, su incidencia es variable entre distintos continentes y es la más alta en EE.UU. y el norte de Europa[1]. En España una de cada 14 mujeres será diagnosticada de esta enfermedad durante su vida, y una de cada 31 fallecerá por esta causa[2]. Se han identificado tres factores como los de mayor contribución al riesgo de desarrollar cáncer de mama: historia familiar de cáncer, factores hormonales y factores ambientales[3].
Se estima que aproximadamente el 5-10% de los cánceres de mama son hereditarios (CMH) y se han identificado dos genes de predisposición a este tipo de cáncer, el *BRCA1* (17q21) y el *BRCA2* (13q12)[4,5]. El gen *BRCA1* explicaría el 45% de los cánceres de mama familiares y la mayoría de los casos de cáncer de mama y ovario[6]; el gen *BRCA2* sería responsable del 35% de los casos familiares de cáncer de mama, incluido el cáncer de mama masculino[7]. Según estudios posteriores, estos datos podrían estar sobrestimados, dependiendo de la población analizada[8] y las características familiares[9].
Hasta el momento se han detectado aproximadamente 2.000 mutaciones, polimorfismos y variantes diferentes en los genes *BRCA1* y *BRCA2*[10]. Mediante estudios de ligamiento y análisis de mutaciones de familias con al menos 4 casos de cáncer de mama, se ha comprobado que en una mujer portadora aumenta el riesgo de padecer esta enfermedad hasta un 80% a los 70 años[11].
En el presente estudio se ha analizado un total de 207 pacientes españolas con cáncer de mama pertenecientes a 153 familias no relacionadas procedentes de hospitales de la comunidad de Castilla y León. Las muestras fueron seleccionadas según unos criterios de riesgo moderado-alto para el estudio de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. El objetivo de este trabajo era conocer el porcentaje de mutaciones en estos genes en nuestra población, a fin de efectuar los estudios familiares pertinentes para la realización

*Estos autores han colaborado en igual medida a la realización de este trabajo.

Correspondencia: Dra. M. Durán.
Laboratorio de Cáncer de Mama. IBGM. Facultad de Medicina. 4.ª planta.
Ramón y Cajal, 7. 47005 Valladolid.
Correo electrónico: merche@ibgm.uva.es

Recibido el 2-4-2002; aceptado para su publicación el 9-7-2002.

Documento descargado de http://www.elsevier.es el 19/06/2013. Copia para uso personal, se prohíbe la transmisión de este documento por cualquier medio o formato.

del consejo genético de la enfermedad, así como caracterizar dichas mutaciones y variantes genotípicas para poder comparar nuestros datos con los obtenidos en estudios similares con población española.

Pacientes y método

En la Unidad de Diagnóstico Genético y Perinatal de la Facultad de Medicina de Valladolid, se comenzó en el año 1998 un proyecto de investigación para la puesta a punto de técnicas de caracterización de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en pacientes con cáncer de mama, seleccionadas según criterios de moderado-alto riesgo que aparecen reflejados en la tabla 1. En la actualidad se realiza un Programa de Detección y Prevención de Cáncer de Mama, que incluye el estudio y consejo genético del CMH, financiado por la Junta de Castilla y León.

La selección de pacientes la realizaron diversos especialistas (oncólogos, ginecólogos, cirujanos) de diferentes hospitales de la Comunidad de Castilla y León (Hospital Clínico y Hospital Pío del Río Hortega, de Valladolid, y Hospital General Yagüe, de Burgos), las pacientes eran informadas del estudio a realizar, se les recogía la historia familiar de cáncer y firmaban un consentimiento previo a la extracción de la muestra de sangre. En el laboratorio de cáncer de mama de Valladolid se han recibido y analizado 207 muestras de sangre pertenecientes a 153 familias diferentes con cáncer de mama seleccionadas según los criterios anteriormente descritos (tabla 1). Es preciso reseñar la existencia de 11 muestras sin clasificar debido a que la historia de cáncer que acompaña a la muestra de sangre no fue enviada por el especialista.

Las muestras de sangre periférica se recogieron en tubos con EDTA para la obtención de ADN según métodos convencionales[12]. Todos los exones codificantes de los genes *BRCA1* y *BRCA2* se analizaron usando técnicas de biología molecular: amplificación de exones agrupados mediante PCR-múltiplex específica, según condiciones y oligonucleótidos ya publicados[13], seguida de formación de heterodúplex y electroforesis en geles sensibles a la conformación (CSGE)[14]; los fragmentos con patrones alterados se secuenciaron mediante un secuenciador automático ALFexpress® (Amersham Biosciences, Reino Unido).

Resultados

El total de mutaciones y polimorfismos caracterizados se expone en las tablas 2 y 3. En 74 de las 153 familias estudiadas (48,36%) se detectaron 45 patrones alterados de heterodúplex, 23 en *BRCA1* y 22 en *BRCA2*, que corresponden a 19 variantes de efecto desconocido (VED; 8 en *BRCA1* y 11 en *BRCA2*), entre las que se incluyen 6 mutaciones de cambio de aminoácido (tres en cada gen), 13 polimorfismos (8 en *BRCA1* y 5 en *BRCA2*), y 13 mutaciones patogénicas (7 en *BRCA1*, 6 en *BRCA2*).

Las mutaciones patológicas se identificaron en un total de 19 familias (12,4% de las familias). Dentro del término «mutaciones patológicas» se incluyen mutaciones truncantes (mutaciones sin sentido o *nonsense* y pequeñas inserciones o deleciones que cambian la pauta de lectura y causan la aparición de un codón de parada prematuro, también llamadas *frameshift*), mutaciones que afectan al procesamiento del ARNm (mutaciones de *splicing*) y mutaciones de cambio de aminoácido o *missense* con consecuencias en la funcionalidad de la proteína. Ocho de las 19 mutaciones patológicas (42,1%) pertenecen a *BRCA1* y 11 (57,9%) a *BRCA2* (tablas 2 y 3). Nueve mutaciones en *BRCA2* (81,81%) son de tipo *frameshift*. Resulta interesante que la mayoría de las mutaciones patológicas de *BRCA1* alteran el procesamiento del ARNm (5/8; 62,5%), mientras que en *BRCA2* no se ha encontrado ninguna (tablas 2 y 3). Asimismo, cabe destacar la presencia de la mutación de cambio de aminoácido A1708E de *BRCA1*, descrita como patológica recientemente[15].

Las mutaciones causantes de enfermedad encontradas en *BRCA1* y en *BRCA2* habían sido publicadas anteriormente. Su número de acceso al BIC, la descripción de las mismas y el criterio de selección de las muestras aparecen en las tablas 2 y 3.

De las 4 mutaciones *frameshift* diferentes encontradas en *BRCA2*, la más frecuente es la 3036delACAA, que aparece en 4 familias no relacionadas pertenecientes al criterio III de selección.

Por otro lado, se han encontrado 13 polimorfismos descritos previamente en 29 del total de familias estudiadas (tablas 2 y 3). Además, se han caracterizado 19 VED diferentes (8 en *BRCA1*, 11 en *BRCA2*) en 26 familias, de las que 4 de *BRCA1* (5 familias) y otras 5 de *BRCA2* (5 familias) no han sido documentadas hasta el momento. Es decir, que 10 familias (6,53%) presentan una VED descrita en este estudio por primera vez. Las 10 familias portadoras de las nuevas VED pertenecen a los criterios de selección I y

TABLA 1

Número de familias recibidas según su criterio de selección

Criterio	N.º de familias estudiadas
I. Caso único de cáncer de mama < 40 años	66
II. 2 casos de cáncer de mama < 50 años	21
III. 3 o más casos de cáncer de mama diagnosticados a cualquier edad	45
IV. 1 cáncer de mama + 1 cáncer de ovario en la misma familia (o un paciente con ambos)	6
V. 1 cáncer de mama masculino con/sin antecedentes familiares	4
Desconocido	11
Total	153

TABLA 2

Mutaciones, polimorfismos y variantes de efecto desconocido encontradas en el gen *BRCA1*

N.º de familias	Criterio de selección	Exón	cADN	Mutación	Tipo de mutación	N.º de BIC
1	I	I-1	IVS1-115T>C		VED	No descrito*
3	I	I-2	IVS2-14 C>T		VED	2637
1	III	I-5	IVS5+23 T>A		VED	No descrito*
1	I	I-8	IVS8-58delT		Polimorfismo	1322
1	I	9	710C>T	C197C	Polimorfismo	1237
1	I	11	2430T>C	L771L	Polimorfismo	1055
6	I/II	11	2201 C>T	S694S	Polimorfismo	1047
1	I	I-12	IVS12+15T>C		VED	No descrito*
1	III	13	4427T>C	S1436S	Polimorfismo	1128
1	III	I-14	IVS14-63C>G		Polimorfismo	4234
2	I/III	I-17	IVS17-53C>T		VED	No descrito*
4	I/III	I-18	IVS18 +66 G>A		Polimorfismo	1387
1	III	I-24	IVS24+12 C>G		Polimorfismo	1370
1	II	8	655A>G	Y179C	*Missense*-VED	1690
1	II	11	1575T>C	F486L	*Missense*-VED	1720
1	III	18	5236G>A	G1706E	*Missense*-VED	3393
1	III	18	5242C>A	A1708E	*Missense**	1147
1	I	11	1135insA	STOP 345	*Frameshift**	1008
1	III	11	3958delCTCAG; insAGGC	STOP1280	*Nonsense**	4365
2	I, III	5	330A>G	R71G	*Splicing**	1944
1	IV	5	IVS5 +1G>A		*Splicing**	2843
1	III	19	5272-1G>A		*Splicing**	3942
1	I	20	IVS20 +1G>A		*Splicing**	2100

*mutaciones patológicas. BIC: Breast Cancer Information Core (base de datos de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*); VED: variante de efecto desconocido.

Documento descargado de http://www.elsevier.es el 19/06/2013. Copia para uso personal, se prohíbe la transmisión de este documento por cualquier medio o formato.

TABLA 3

Mutaciones, polimorfismos y variantes de efecto desconocido encontradas en el gen *BRCA2*

N.º de familias	Criterio de selección	Exón	cADN	Mutación	Tipo de mutación	N.º de BIC
4	II/III	2	203G>A 5´UTR		Polimorfismo	1666
1	I	I-6	IVS6-19 C>T		VED	2164
1	III	I-8	IVS8 +56C>T		VED	2411
1	III	I-10	IVS10 +22 delT		VED	2416
1	III	10	1593A>G	S455S	Polimorfismo	1106
2	I/III	11	2166C>T	S646S	Polimorfismo	2907
1	I	11	3690 C>T	T1154T	VED	No descrito*
3	I/III/IV	14	7470A>G	S2414S	Polimorfismo	1125
1	III	14	7365A>G	G2379G	VED	No descrito*
3	I/III	I-16	IVS16-14T>C		Polimorfismo	1126
1	III	I-24	IVS24-10 insT		VED	No descrito*
1	III	I-25	IVS25+143A>T		VED	No descrito*
1	I	25	9603C>G	L3125L	VED	No descrito*
3	I	11	4486G>T	D1420Y	*Missense*-VED	1273
1	I	11	6518C>T	T2097M	*Missense*-VED	2297
3	I, III, V	22	9078G>T	K2950N	*Missense*-VED	1405
2	I, III	10	1538delAAGA	stop 458	*Frameshift**	2885
1	I	11	3492insT	stop1097	*Frameshift**	2067
4	III	11	3036delACAA	stop 958	*Frameshift**	1021
2	III, IV	25	9538delAA	stop 3109	*Frameshift**	1422
1	I	11	4150G>T	E1308X	*Nonsense**	2480
1	I	11	6884C>G	S2219X	*Nonsense**	1054

*Mutaciones patológicas. BIC: Breast Cancer Information Core (base de datos de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*); VED: variante de efecto desconocido.

III en un 50%, respectivamente (tablas 2 y 3). Sin embargo, no se ha establecido una relación directa entre estas VED y la enfermedad.

En la tabla 4 se expone la distribución de las 19 mutaciones patogénicas detectadas según el criterio de selección de las familias que las portan; se observa que el mayor número de mutaciones (10 casos) aparece en las familias con tres o más casos de cáncer de mama (criterio III), siendo mayor el número de mutaciones en *BRCA2*. El siguiente grupo mayoritario es el de mujeres jóvenes de menos de 40 años (criterio I; 7 casos), en el que también aparecen más portadoras en *BRCA2*. El grupo de familias con cáncer de mama y cáncer de ovario (criterio IV) resulta el de mayor porcentaje de mutación, pues se han detectado dos familias con mutación, una en *BRCA1* y otra en *BRCA2*, aunque la muestra es escasa (6 familias). Por último, no se ha encontrado ninguna mutación en las familias del grupo V (cáncer de mama masculino).

Discusión

Desde la identificación de los genes *BRCA1* y *BRCA2* como genes de susceptibilidad para el cáncer de mama y de ovario, se han llevado a cabo multitud de análisis de mutaciones de ambos genes en diferentes poblaciones. El alto porcentaje de cambios nucleotídicos de *BRCA1* y *BRCA2* encontradas en este trabajo (48,36% de las familias) puede ser consecuencia de la alta sensibilidad del método utilizado[16] para el rastreo de toda la secuencia codificante de ambos genes. Se ha detectado un total de 19 mutaciones patogénicas de las que el 42,1% pertenecen a *BRCA1* y el 57,9% a *BRCA2* (tablas 2-4). Estos resultados, en los que se observa una mayoría de mutaciones en *BRCA2*, no concuerdan con los descritos en otros trabajos sobre población española en los que se describe una baja incidencia de alteraciones en este gen[17]. Por otro lado, existen otros estudios de familias españolas, italianas y japonesas en los que también aparece una mayor proporción de mutaciones en el gen *BRCA2*[18-20]. Estos datos contrastan con los publicados por The Breast Cancer Linkage Consortium[11], donde se demuestra cómo la mayor parte de las familias analizadas son portadoras de mutación en el gen *BRCA1* (52% de las familias). Estas diferencias en la proporción de mutaciones asociadas a un gen o a otro podrían ser consecuencia de las características particulares de las poblaciones seleccionadas para el estudio[8].

Cabe destacar la presencia de la mutación de cambio de aminoácido A1708E entre las mutaciones causantes de enfermedad. Se ha demostrado que esta alteración provoca un cambio en la funcionalidad de *BRCA1*; concretamente disminuye su capacidad de activación transcripcional[15]. Curiosamente, una de las *missense*-VED, G1706E a tan sólo dos aminoácidos de la A1708E, posiblemente sea otra mutación patogénica, ya que se trata del mismo tipo de cambio (aminoácido hidrófobo por polar), aunque este punto todavía no ha podido ser demostrado.

La mutación más frecuente en nuestra población de las detectadas en el gen *BRCA2* es la 3036delACAA, que aparece en 4 familias no relacionadas y todas ellas seleccionadas según el criterio de tres o más casos de cáncer de mama en la misma familia (tabla 3); esta mutación aparece descrita en el BIC (Breast Information Core), así como en trabajos anteriores con familias españolas[21], y se considera una mutación recurrente del gen *BRCA2*[22].

De las 153 familias estudiadas, 45 pertenecen al grupo de selección de tres o más miembros afectados (tabla 4). Sólo en el 22,2% de estas familias se encontró mutación en alguno de estos genes, lo que nos haría pensar en la posible existencia de otros genes de susceptibilidad, tal y como se ha apuntado en otras publicaciones[11,23].

Los resultados obtenidos del análisis de las 66 mujeres pertenecientes al grupo I (tabla 4) demuestran cómo el 10,6% de ellas son portadoras de mutación patogénica, que está en consonancia con los re-

TABLA 4

Distribución de las 18 mutaciones patogénicas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* según los criterios de selección de las familias

Criterio de selección	N.º de familias	Mutaciones en *BRCA1*	Mutaciones en *BRCA2*	Total
I	66	3 (4,54%)	4 (6,06%)	7 (10,6%)
II	21	0	0	0
III	45	4 (8,9%)	6 (13,33%)	10 (22,22%)
IV	6	1 (16,66%)	1 (16,66%)	2 (33,33%)
V	4	0	0	0
Sin historia	11	0	0	0
Total	153	8 (5,23%)	11 (7,19%)	19 (12,42%)

Documento descargado de http://www.elsevier.es el 19/06/2013. Copia para uso personal, se prohíbe la transmisión de este documento por cualquier medio o formato.

sultados obtenidos por otros autores[24]. Sin embargo existen diferencias en cuanto al reparto de mutaciones entre *BRCA1* y *BRCA2*. Así, nosotros encontramos un 4,54% en *BRCA1* y un 6,06% en *BRCA2*, frente al 5,9 y el 3,4%, respectivamente, documentado por Malone et al[24] en su estudio de 203 pacientes menores de 35 años sin antecedentes familiares. Estas diferencias, sin ser significativas, podrían ser atribuidas al diferente tamaño de las dos muestras. Una consecuencia derivada de estas observaciones es que los rastreos de mutaciones deben ser extendidos a poblaciones de riesgo moderado-alto. La identificación de mutaciones en pacientes jóvenes sin antecedentes familiares indica o bien la existencia de mutaciones *de novo* o bien, como apuntan Díez et al[25], la presencia de mutaciones en la población con penetrancia baja o variable.

En la tabla 4 también se observa que aparecen 4 casos de cáncer de mama masculino, todos ellos sin antecedentes familares; se estudiaron tanto el gen *BRCA1* como el *BRCA2* y no se encontró ninguna mutación. Aunque se ha descrito que mutaciones en *BRCA2* explicarían el 75% de las familias en las que al menos hay un caso de cáncer de mama masculino[26], existen pocos datos sobre la frecuencia de mutaciones en el gen *BRCA2* en varones con cáncer de mama debido al bajo número de varones con esta neoplasia en la población general. Uno de los pocos trabajos es el de Haraldsson et al[27], en el cual se encuentran 7 mutaciones patológicas de *BRCA2* en 34 varones con cáncer de mama, de los que sólo uno tenía antecedentes familiares. Aunque la muestra es relativamente pequeña, los autores concluyen que en la población sueca aproximadamente una quinta parte de los casos de cáncer de mama masculino podría ser debida a mutaciones en *BRCA2*. Ambos factores –bajo número de muestras de cáncer de mama masculino y falta de antecedentes familiares– pueden ser la causa de la ausencia de mutaciones en este grupo.

Una de las consecuencias del exhaustivo análisis de la secuencia completa de los genes *BRCA1* y *BRCA2* con la técnica descrita es el alto porcentaje de mutaciones, VED y polimorfismos encontrados. De las 16 VED identificadas en este trabajo (tablas 2 y 3), 9 se describen por primera vez, ya que no aparecen en el BIC10, en el HGMD (Human Gene Mutation Database; http://archive.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd/search.html) ni en Medline; es decir, que la técnica CSGE en este sentido sería más resolutiva que otras como la PTT (test de la proteína truncada), utilizada para la detección de mutaciones truncantes, pero no válida para mutaciones y variantes que no causen truncamiento de la proteína. Estos 9 polimorfismos se sitúan tanto en zonas intrónicas como en exónicas; en el gen *BRCA1* se encontraron 4 de los polimorfismos, todos ellos en regiones intrónicas: I-1, I-5, I-12, I-17. Éstos aparecen en 5 de las familias, tres pertenecientes al grupo de mujeres jóvenes con cáncer de mama y dos al criterio de casos familiares (III). En *BRCA2* se encuentran los otros 5 polimorfismos nuevos en familias diferentes, situados tanto en secuencias intrónicas como exónicas: I-24, I-25, 11, 14, 25. De las familias que los presentan dos pertenecen al criterio I y tres al criterio III.

En conclusión, se ha detectado un alto porcentaje de mutaciones, variantes de efecto desconocido y polimorfismos en la población de Castilla y León estudiada, así como la presencia de mutaciones recurrentes. La desviación de la tasa de mutaciones hacia el gen *BRCA2* puede ser debida a una propiedad de esta población, al tamaño de nuestra muestra o a un sesgo en el número de familias según los distintos criterios (sólo tenemos 6 familias del criterio IV). Así, si se aumentara los casos de familias con cáncer de mama y ovario, el número de mutaciones en *BRCA1* podría verse incrementado y equilibrar el balance mutacional *BRCA1/BRCA2*. Por todo esto, es recomendable la ampliación del intervalo de la población a estudiar, analizando tanto a familias del resto de las provincias de la Comunidad como en el espectro de familias que cumplen los criterios.

Respecto al alto porcentaje de variantes de efecto desconocido encontrado, sería necesario aclarar su papel en la enfermedad mediante la realización de estudios en población control; es decir, en mujeres de edad avanzada sin cáncer de mama, para poder comprobar la frecuencia de dichas variantes en esta población. También podrían hacerse estudios del ARNm de ambos genes en las pacientes portadoras de dichas variantes para comprobar si pueden afectar al procesamiento del ARNm, tal y como se ha demostrado con la mutación de cambio de aminoácido R71G, que se ha comprobado altera el procesamiento del ARNm de *BRCA1* dando lugar a una deleción de 22 pb en el exón 5[28]. Esto mismo podría extrapolarse al estudio de las VED y por esta línea seguirán nuestras investigaciones.

Agradecimientos

Agradecemos a la Junta de Castilla y León el apoyo económico para la realización de este trabajo. Gracias también a los distintos especialistas que han colaborado en el envío de muestras desde el Hospital General Yagüe de Burgos, Hospital Pío del Río Hortega y Hospital Clínico, ambos de Valladolid. También agradecemos a la Fundación MAPFRE-Medicina y a la Fundación Científica de la Asociación Española Contra el Cáncer la aportación de becas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worlwide incidence of 25 major cancers in 1990. Int J Cancer 1999;80:827-41.
2. Moreno V, Sánchez V, Galcerán J, Borrás JM, Borrás J, Bosch FX. Riesgo de enfermar y morir por cáncer en Cataluña. Med Clin (Barc) 1998; 110:86-93.
3. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. Am J Hum Genet 1991;48: 232-42.
4. Miki Y, Sweden 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.
5. 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.
6. Easton DF, Ford D, Bishop DT, Breast Cancer Linkage Consortium. Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Am J Hum Genet 1995;56:265-71.
7. Couch FJ, Farid LM, DeShano ML, Tavtigian SV, Calzone K, Campeau L, et al. *BRCA2* germline mutations in male breast cancer cases and breast cancer families. Nat Genet 1996;13:123-5.
8. Szabo CI, King MC. Population genetics of *BRCA1* and *BRCA2*. Am J Hum Genet 1997;60: 1013-20.
9. Schubert EL, Lee MK, Mefford HC, Argonza RH, Morrow JE, Hull J, et al. *BRCA2* in American families with four or more cases of breast and ovarian cancer: recurrent and novel mutations, variable expression, penetrance, and the possibility of families whose cancer is not attributable to *BRCA1* or *BRCA2*. Am J Hum Genet 1997;60: 1031-40.
10. Breast Cancer Information Core (BIC). Disponible en: http:www.nchgr.nih.gov/Intramural_research/ Lab_transfer/Bic
11. 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.
12. Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidmann JG, Struhl K. DNAzol methodh. Current Protocols in Molecular Biology 1990;2 (Suppl A):1-5.
13. Breast Cancer Information Core (BIC). Disponible en: http://www.nhgri.nih.gov/Intramural_research/Lab_transfer/Bic/Member/index.html
14. Ganguly A, Rock MJ, Prockop DJ. Conformation-sensitive gel electrophoresis for rapid detection of single-base differences in double-stranded PCR products and DNA fragments: evidence for solvent-induced bends in DNA heteroduplexes. Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:10325-9.
15. Vallon-Christersson J, Cayanan C, Haraldsson K, Loman N, Bergthorsson JT, Brondum-Nielsen K, et al. Functional analysis of *BRCA1* C-terminal missense mutations identified in breast and ovarian cancer families. Hum Mol Genet 2001;10: 353-60.
16. Markoff A, Sormbroen H, Bogdanova N, Preisler-Adams S, Ganev V, Dworniczak B, et al. Comparison of conformation –sensitive gel electrophoresis and single-strand conformation polymorphism analysis for detection of mutations in the *BRCA1* gene using optimized conformation analysis protocols. Eur J Hum Genet 1998;6: 145-50.
17. Gomendio B, Silva JM, García JM, Provencio M, España P, Bonilla F. Low Incidence of germline *BRCA2* gene mutations among Spanish breast cancer patients. Oncology 1999;57:173-4.

Documento descargado de http://www.elsevier.es el 19/06/2013. Copia para uso personal, se prohíbe la transmisión de este documento por cualquier medio o formato.

18. 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.
19. Santarosa M, Dolcetti R, Magri MD, Crivellari D, Tibiletti MG, Gallo A, et al. *BRCA1* and *BRCA2* genes: role in hereditary breast and ovarian cancer in Italy. Int J Cancer 1999;83:5-9.
20. Ikeda N, Miyoshi Y, Yoneda K, Shiba E, Sekihara Y, Kinoshita M, et al. Frequency of *BRCA1* and *BRCA2* germline mutations in Japanese breast cancer families. Int J Cancer 2001;91:83-8.
21. Osorio A, Robledo M, San Román JM, Albertos J, Andrade J, Barabash A, et al. Mutation analysis of the *BRCA2* gene in breast/ovarian cancer Spanish families: identification of two new mutations. Cancer Letters 1997;121:115-8.
22. Neuhausen SL, Godwin AK, Gershoni-Baruch R, Schubert E, Garber J, Stoppa-Lyonnet D, et al. Haplotype and phenotype analysis of nine recurrent *BRCA2* mutations in 111 families: results of an international study. Am J Hum Genet 1998; 62:1381-8.
23. Serova O, Mazoyer S, Puget N, Dubois V, Tonin P, Shugart YY, et al. Mutations in *BRCA1* and *BRCA2* in breast cancer families: Are there more breast cancer susceptibility genes? Am J Hum Genet 1997;60:486-95.
24. Malone KE, Daling JR, Neal C, Suter NM, O'Brien C, Cushing-Haugen K, et al. Frequency of *BRCA1/BRCA2* mutations in a population-based sample of young breast carcinoma cases. Cancer 2000; 88:1393-402.
25. Díez Gibert O, Del Río E, Doménech M, Hernández EM, Sanz J, Brunet J, et al. Mutaciones en el gen *BRCA1* en mujeres españolas jóvenes con cáncer de mama. Med Clin (Barc) 1999;112:51-4.
26. Couch FJ, Farid LM, DeShano ML, Tavtigian SV, Calzone K, Campeau L, et al. *BRCA2* germ-line mutations in male breast cancer cases and breast cancer families. Nature Genet 1996;13: 123-5.
27. Haraldsson K, Loman N, Zhang QX, Johannsson O, Olsson H, Borg A. *BRCA2* germ-line mutations are frequent in male breast cancer patients without a family history of the disease. Cancer Res 1998;58:1367-71.
28. Vega A, Campos B, Bressac-de-Paillerets B, Bond P, Janin N, Douglas F, et al. The R71G *BRCA1* is a founder Spanish mutation and leads to aberrant splicing of the transcript. Hum Mutat 2001;17:520-1.