



Associação de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2

Associação de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 causadoras do câncer de mama hereditário

Paulo Henrique Machniewicz

*Biólogo - Faculdades Integradas "Espírita"
Especialista em Genética Humana PUC-PR,
Responsável pelos laboratórios de Genética,
Imunologia e Microbiologia do Centro Universitário
Campos de Andrade - UniAndrade - Curitiba-PR
paulo.mach@bol.com.br*

Fábio Rueda Faucz, Dr

*Biólogo - UFPR
Mestrado em Ciências Biológicas - UFPR
Doutorado em Genética - UFPR
Professor adjunto - PUC-PR
Professor Titular - UNICEMP-PR
fabio.genetica@yahoo.com*

Ilustrações cedidas pelos autores

Resumo

Cerca de 10% dos cânceres de mama podem ser associados a mutações na linhagem germinativa. Em 1990, foi identificado, no cromossomo 17, o gene BRCA1, composto de 24 exons e codifica para uma proteína de 1.863 aminoácidos. Mutações neste gene são responsáveis por metade de todos os casos familiares de câncer de mama. Já em 1995, identificaram o BRCA2, com 27 exons, codificando para uma proteína de 3.350 aminoácidos. Este gene encontra-se no cromossomo 13. Mutações neste gene são responsáveis por cerca de 35% dos casos familiares precoces de câncer de mama. Estes dois genes, associados a outras proteínas, desencadeiam a doença que mais mata mulheres. No Brasil, registram-se cerca de 35.000 novos casos de câncer de mama por ano. O câncer representa uma proliferação maligna das células ou lóbulos epiteliais que revestem os ductos ou lóbulos da mama. O câncer feminino é raramente encontrado antes dos 25 anos de idade, exceto em casos hereditários. A transmissão hereditária de câncer de mama segue o clássico padrão mendeliano de transmissão autossômica dominante, com 50% das crianças de carreadoras, herdando mutações BRCA1. As portadoras femininas de mutações são estimadas a terem um risco de 85% de desenvolvimento de câncer de mama e ovário, com maior incidência de câncer bilateral e mais de 50% dos cânceres de mama, ocorrendo, antes dos 50 anos. A prevalência de mutações de BRCA1 e BRCA2 é ocasionalmente mais alta

que o esperado, devido à transmissão aumentada de algumas mutações, em certas populações, devido ao efeito do fundador. A população de Judeus Askenazi é a que representa um exemplo claro de mutações, devido ao efeito do fundador, por cultivarem suas tradições de união restrita. Por consequência, as mutações encontradas nesta população são iguais em inúmeros países para onde migraram. Outras populações, como Espanhóis, Indianos, Paquistaneses, Russos e até tribos Aborígenes do Canadá, também apresentam algumas mutações que são mais frequentes e que podem ser atribuídas ao efeito do fundador.

1. Introdução

O nosso organismo é constituído por trilhões de células, que se reproduzem pelo processo de divisão celular. Este é um processo ordenado e controlado, responsável pela formação, crescimento e regeneração de tecidos saudáveis do corpo. Algumas vezes, no entanto, as células perdem a capacidade de limitar e comandar seu próprio crescimento, passando, então, a se multiplicarem muito rapidamente e de maneira aleatória e desordenada, formando nódulos.

O câncer surge por causa de alterações no DNA, que resulta na proliferação incontrolável de células. A maioria dessas alterações envolve modificações sequenciais reais de DNA. Elas podem surgir como consequência de erros de replicação aleatórios, exposição a carcinógenos, ou processos defeituosos de reparo do DNA.

As lesões da mama limitam-se, predominantemente, ao sexo feminino por possuir uma estrutura mamária mais complexa, volume mamário maior e extrema sensibilidade às influências endócrinas predisõem esse órgão a diversas condições patológicas (COTRAN, KUMAR, COLLINS, 2001).

As neoplasias constituem as lesões mais importantes da mama feminina, apesar de não serem as mais comuns. Elas podem surgir a partir de epitélio escamoso, estruturas glandulares e tecido conjuntivo.

Existem três grupos de influências importantes no câncer de mama:

- Fatores genéticos;
- Influências hormonais;
- Fatores ambientais.

No Brasil, registram-se 35.000 novos casos de câncer de mama por ano, 11.000 deles, só no Estado de São Paulo. Fatores de risco de câncer na família, alimentação rica em gorduras, início precoce da menstruação, menopausa tardia, 1ª gestação após os 30 anos e o fato de a mulher nunca ter engravidado são alguns dos fatores que influenciam para desenvolver um tumor maligno na mama.

O câncer de mama representa uma proliferação maligna das células epiteliais que revestem os ductos ou lóbulos da mama. É considerado o mais comum em mulheres, podendo existir por um longo período, como doença não-invasiva ou invasiva, mas não-metástica. Este fato torna-se mais urgente a necessidade do diagnóstico precoce e da conduta apropriada.

Cerca de 10% dos cânceres de mama podem ser associados a mutações na linhagem germinativa. Esta área tem sofrido uma elevação notável com a identificação de genes responsáveis por casos em famílias (BATES, HOCKELMAN, 1982).

KING, et al. (1990), usou análise genética de ligação para identificar o gene BRCA1 localizado no cromossomo 17q21. Ele é responsável por aproximadamente metade de todos os casos familiares precoces de câncer de mama, bem como pela maioria dos casos familiares de câncer de mama e ovário.

SCHUTTE, et al. (1995), identificou um gene na região 13q12-q13, com seis mutações diferentes em famílias com câncer de mama e identificou como BRCA2. Mutações nesse gene são responsáveis por aproximadamente 35% dos casos familiares precoces de câncer de mama. Estão ainda associados a um risco aumentado de câncer de mama e de próstata em homens, e de câncer ovariano e pancreático.

Estes dois genes associados a outras proteínas desencadeiam a doença que mais mata mulheres.

Para que se tenha uma avaliação precisa do risco de desenvolver um câncer é necessário que se obtenha uma história da paciente, uma genealogia do câncer precisa, onde é possível confirmar os tipos de cânceres através de documentos hospitalares e exames.

Devido aos altos custos e dificuldades para testar mutações em BRCA1 e BRCA2, são realizadas provas nas mutações mais prováveis nas populações. Nas famílias de Judeus as três principais mutações de fundador mais freqüentes, 185 del AG, 5382 ins C em BRCA1 e 617 del T em BRCA2. Estas três mutações mais freqüentes respondem por mais de 90% da população. Quando uma mutação de fundador é encontrada, esta já é suficiente para autorizar a blindagem para todos as três mutações (BAST, et al 2000).

2. Localização da mama

A mama está localizada entre a 2ª e a 6ª costela, entre a margem esternal e a linha medioaxilar. O tecido mamário possui três componentes principais:

- Tecido glandular: é organizado em 12 a 20 lobos, onde cada qual termina num canal que se abre na superfície do mamilo.
- O tecido glandular é sustentado por tecido fibroso, incluindo os ligamentos suspensórios que estão conectados tanto à pele quanto à fascia que fica por debaixo da mama.
- A gordura circunda a mama e predomina tanto superficialmente, quanto na periferia (SPENCER, 1991).

Os vasos linfáticos de grande parte da mama drenam para a axila. A borda anterior da axila é formada pelos músculos peitorais; as bordas posteriores incluem o subescapular e o grande dorsal; a borda interna pelo quadril cortal e músculo denteado anterior; e a borda externa pela parte superior do braço.

Os gânglios axilares na parte alta da axila, perto das costelas e do denteado anterior. Para dentro deles, drenam canais provenientes de três outros grupos de gânglios linfáticos:

1. o grupo peitoral ou anterior;
2. o grupo subescapular (posterior);
3. o grupo lateral;

Convém observar que nem todos os linfáticos da mama drenam para a axila. Dependendo da localização de uma lesão no seio, a disseminação pode se processar diretamente para os gânglios infraclaviculares, para dentro dos canais profundos existentes no interior do tórax ou do abdômen, e até para a mama oposta (BATESE, HOCKENAM, 1982).

Na glândula mamária, os lobos possuem muitas subdivisões que são chamadas de lóbulos; estes terminam em dezenas de pequenos bulbos produtores de leite. Os lobos, lóbulos e bulbos são interligados por tubos finos denominados ductos. Estes ductos vão até o mamilo (papilo), localizado no centro da área escura da pele que se chama auréola.

Somente com o início da gravidez é que a mama assume a maturação morfológica e atividade funcional completa. Após a cessação da lactação, os lóbulos regridem e sofrem atrofia, havendo uma redução notável no tamanho total da mama. A maioria das neoplasias mamárias não contém tecido adiposo e, em exames como a mamografia, elas aparecem como massas de maior densidade, contrastando com o estroma circundante. Por conseguinte, a mamografia é menos sensível em mulheres jovens, nas quais essas massas podem ser obscurecidas por tecido denso circundante (COTRAN, KUMAR, COLLINS, 2001).

3. Sinais visíveis de Câncer Mamário

BATES, HOCKELMAN, (1982) descreveram alterações na mama que caracterizam um tumor, entre elas destacam-se:

- Produção de fibrose, ou formação de tecido cicatricial;
- Sinais de retração que incluem covas cutâneas, alterações nos contornos mamários e achatamento ou desvio do mamilo;
- Aparecimento de nódulo ou endurecimento da mama ou embaixo do braço;
- Mudanças no tamanho e ou formato da mama;
- Alteração na coloração ou na sensibilidade da pele da mama ou da auréola;
- Secreção contínua por um dos ductos;
- Retração da pele da mama ou do mamilo;
- Inchaço significativo ou distorção da pele.
- As alterações no contorno são identificadas por inspeção cuidadosa das superfícies normalmente convexas das mamas e comparando uma mama com a outra.
- Edema de pele, produzindo por bloqueio linfático.

4. Classificação dos tipos de Câncer de Mama

O câncer de mama é subdividido em dois grandes grupos:

- **Carcinomas**: que podem ser diferenciados em câncer *lobular* onde começa nos bulbos (pequenos sacos que produzem leite); ou câncer dos *ductal*, que se formam nos ductos que levam o leite dos lóbulos para o mamilo (papila).
- **Sarcomas**: formam-se nos tecidos conjuntivos, onde é mais comum o câncer se dissipar para outras partes do corpo.

O carcinoma é o mais comum. Ele é mais comumente encontrado e diagnosticado na mama esquerda do

que na mama direita.

Os cânceres são bilatérias ou seqüenciais na mesma mama em 4% ou mais dos casos. Entre os carcinomas de mama pequenos o suficiente para identificar sua área de origem, cerca de 50% surgem no quadrante superior externo, 10% em cada um dos quadrantes restantes e cerca de 20% na região central ou subareolar, o local de origem influência de modo considerável o padrão de metástase linfonodal.

Os carcinomas são divididos em carcinomas não-infiltrantes ou *in situ* e carcinomas infiltrantes.

- ♦ Carcinomas *in situ*:
 - Carcinoma *ductal in situ*;
 - Carcinoma lobular *in situ*;
- ♦ Carcinomas Invasivos (infiltrante):
 - Carcinoma *ductal* infiltrante sem tipo específico;
 - Carcinoma lobular invasivo ou infiltrante;
 - Carcinoma medular;
 - Carcinoma colóide;
 - Carcinoma tubular;
 - Carcinoma papilar invasivo.

5. Estágios de desenvolvimento do Câncer de Mama

Os diferentes tipos de câncer de mama, quando são diagnosticados e confirmados com exame laboratorial, são classificados conforme o seu tamanho e presença de metástases nos linfonodos e a distância. Esta classificação foi criada para que o médico possa saber indicar qual o tratamento mais adequado para o paciente (HARRISON, et al. 1998).

- **TX**: tumor primário que não pode ser demonstrado.
- **T0**: não existe evidência de tumor primário.
- **TIS** carcinoma *in situ*: carcinoma intraductal e carcinoma lobular *in situ*.
- **T1**: tumor de até 2 cm.
- **T1a**: tumor de até 0,5 cm.
- **T1b**: tumor 0,5 > 1 cm.
- **T1c**: tumor 1cm > 2 cm.
- **T2**: tumor com mais de 2 cm e menos de 5 cm.
- **T3**: tumor com mais de 5 cm.

- **T4**: tumor de qualquer tamanho com possível extensão direta a parede do tórax.
- **T4a**: extensão a parede do tórax.
- **T4b**: edema, ou ulceração, ou nódulos satélites na parede da mesma mama.
- **T4c**: quando encontra-se T4a e T4b.
- **T4d**: carcinoma inflamatório.

Gânglios Linfáticos (N)

- **NX**: quando não se pode afirmar o comprometimento dos gânglios.
- **N0**: sem metástase em gânglios regionais.
- **N1**: metástase em gânglios axilares unidos uns aos outros e a outras estruturas.
- **N3**: metástase em gânglios linfáticos da mama interna.

Classificação Patológica

- **PNX**: quando não se pode excluir a presença de gânglios.
- **PNO**: sem metástase em gânglios regionais.
- **PNI**: metástase em gânglios regionais laterais móveis.
- **PN1a**: somente micrometástases < 0,2 cm.
- **PN1b**: metástase em gânglios maiores de 0,2 cm.
- **PN1b1**: metástase de 1 a 3 gânglios > 0,2 < 2 cm.
- **PN1b2**: metástases de 4 ou mais gânglios > 0,2 a < 2 cm.
- **PN1b3**: quando atravessa a parede do gânglio < 2 cm.
- **PN1b4**: metástase a gânglios linfáticos de 2 cm ou massa e dimensão maior.
- **PN2**: metástase em gânglios axilares unidos uns aos outros e a outras estruturas.
- **PN3**: metástase em gânglios linfáticos da mama interna.

Metástase a Distância (M)

- **MX**: presença de metástase à distância, mas que não pode ser demonstrado.
- **M0**: não há evidência de metástase à distância.
- **M1**: presença de metástase supraclaviculares.

São considerados cinco estágios de desenvolvimento de tumor segundo o Comitê Americano de Câncer.

- *Estágio 0:* Carcinoma *ductal in situ* e carcinoma lobular *in situ*. Sem evidência de tumor nos linfonodos e metástase à distância.
- *Estágio 1:* Quando o tumor tem até 2 cm, mas sem qualquer evidência de ter se espalhado pelos gânglios linfáticos próximos.
- *Estágio 2:* Inclui tumores de até 2 cm, mas com envolvimento de gânglios linfáticos, ou, então, um tumor primário de até 5 cm, com linfonodos axilares afetados, porém móveis, sem metástase à distância, ou tumor com mais de 5 cm sem comprometimento linfonodal nem metástases distantes.
- *Estágio 3:* Quando o tumor tem mais de 5 cm e há envolvimento dos gânglios linfáticos da axila do lado da mama afetada.
- *Estágio 4:* Quando existem metástases distantes, como no fígado, ossos, pulmão, pele ou outras partes do corpo.

6. Frequência e epidemiologia

O câncer de mama feminino é raramente encontrado antes dos 25 anos de idade, exceto em casos familiares. A idade habitual que se identifica gira em torno dos 30–80 anos, sendo mais comum na meia idade e velhice.

Encontra-se entre as doenças mais comuns e a que mais mata mulheres no Brasil. Dados do Instituto Nacional do Câncer – I NCA mostram que foram diagnosticados neste ano cerca de 30 mil casos novos e oito mil morreram por causa da doença.

Este tipo de tumor foi considerado o 3º que mais mata no Brasil. A obtenção de uma história familiar constitui um fator de risco para desenvolvimento do câncer de mama; 5 a 10% dos casos são atribuíveis à herança de um gene autossômico dominante.

A probabilidade de herança genética aumenta se houver vários parentes afetados e se for constatada a ocorrência do câncer numa idade jovem.

Dois genes são responsáveis pela maioria dos cânceres de mama hereditário: o BRCA1 e BRCA2.

O BRCA1, localizado no cromossomo 17, quando mutante, é capaz de produzir alto risco (talvez até 85% ao longo da vida) de câncer de mama e também de câncer ovariano (talvez 50% de risco ao longo da vida). Cerca de 1/500 mulheres carregam uma mutação BRCA1 na linhagem germinativa, com frequência, dando origem a uma história familiar consistente. Homens com mutações BRCA1 podem ter um aumento modesto no risco de câncer de próstata.

“... há uma série de heterogeneidade mutacional descrito para o BRCA1, como em geral é o caso nos distúrbios genéticos. Uma exceção são as populações Judia Askenazi, em que um de 100 indivíduos carregam uma deleção 2-pb particular a 185 del AG no BRCA1.”¹

Mutações em outro gene no cromossomo 13, o BRCA2 também confere alto risco de câncer de mama, e um risco um pouco menor de câncer ovariano; em homens essas mutações também os tornam propensos ao desenvolvimento de câncer de mama.

“Estima-se que a frequência das Mutações BRCA 2 seja cerca da metade da frequência do BRCA 1. Cerca de 1% de Judeus Askenazi outra vez tem uma mutação comum há 6174 del T.”²

A incidência global do câncer de mama é menor em mulheres negras. As mulheres nesse grupo desenvolvem câncer com uma idade mais avançada e apresentam um aumento da taxa de mortalidade, em comparação com as caucasóides.

Os Estados Unidos e a Europa Setentrional apresentam a maior incidência da doença.

Tumores de mama associados ao BRCA1 são mais prováveis em mulheres com filhos, possuem uma

fase S maior, e quantidade elevada de estrógeno e baixos receptores de progesterona.

7. Hereditariedade

A transmissão hereditária de câncer de mama segue o clássico padrão mendeliano de transmissão autossômica dominante, com 50% das crianças de carreadoras herdando mutações BRCA1.

As portadoras femininas de mutações são estimadas a ter um risco de 85% de desenvolvimento de câncer de mama e/ou ovariano, com uma maior incidência de câncer bilateral e mais de 50% dos cânceres de mama ocorrendo antes dos 50 anos. (BIESECKER, et al. 1993).

“... o câncer de mama genético incide, geralmente, em mulheres jovens, antes dos 50 anos de idade. A ocorrência de mais de 2 casos em uma família de mulheres jovens, com menos de 50 anos, sugere que existe a possibilidade de que seja um defeito genético na família. Além disso, estes tumores costumam ser bilaterais; é freqüente que surjam nas duas mamas, às vezes não ao mesmo tempo. A ocorrência de múltiplos casos em mulheres jovens de tumores bilaterais, chama a atenção para que esta seja pela falta de risco. Outro sinal se dá pelo fato de o câncer de mama estar associado, nestes casos genéticos, ao câncer de ovário. A incidência, em uma mesma família, de uma mutação genética que pre-disponha à ocorrência do câncer. Estes casos constituem, aproximadamente, de 6% a 10% dos casos genéticos de câncer de mama. De 90% a 94% não temos uma história familiar.”³

CROOP, et al (1990), constataram que mutações na linhagem germinativa do BRCA1 são responsáveis por 2% a 4% de todos os cânceres mamários. Embora mais que 90% deles sejam casos esporádicos ocorrendo em mulheres sem evidências de susceptibilidade hereditária, análises de espécies de tumores mamá-

¹ COLLINS, Francis S. 1998.

² TRENT, Jeffrey M. 1998.

³ Revista Hands nº3, 2002.

rios sugerem que anormalidades somáticas adquiridas no BRCA1 pos- sam também desempenhar um papel em muitos desses cânceres.

8. Estudo de associação

Os dois principais genes respon- sáveis pela transmissão hereditária do câncer de mama, o BRCA1 e BRCA2, codificam proteínas de 1.863 e 3.350 aminoácidos, respectivamente (*Ane- xo 03*). Ambos os genes são comple- xos formados por mais de 20 exons.

O BRCA1 foi identificado no lócus 17q21. Este gene codifica uma proteína zínica cujo produto pode, portanto, atuar como fator de trans- crição. (FAUCI, et al 1998) descreveu que este gene possui 22 exons codi- ficantes e 2 exons não-codificantes, estendendo-se por cerca de 100 kb de seqüência genômica. Seu produto é uma proteína de 1.863 aminoácidos.

O BRCA2, localizado no cro- mos-somo 13q12-q13, está associado com uma maior incidência de câncer da mama em homens do que em mulheres, (FAUCI, et al 1998). Este gene possui 27 exons dispersos por 70 kb de DNA genômico, e seu trans- crito estende-se por cerca de 10 à 12

kb codificando para uma proteína de 3.418 aminoácidos.

Acredita-se que o BRCA1 e o BRCA2 se comportam como genes supressores de tumores clássicos, e que com a perda de uma cópia pre- dispõem o portador ao desenvolvi- mento do câncer (BAST, et al. 2000).

WOOSTER, et al. (1994), estuda- ram o acoplamento do genoma em 15 famílias com alto risco de câncer de mama no BRCA1 em 17q21. Esta análise descobriu um segundo lugar suscetível ao câncer de mama, o BRCA2 no cromossomo 13q12-q13. O estudo em BRCA2 confere um alto risco de câncer de mama e não con- fere um risco substancialmente ele- vado de câncer ovariano, como é o risco do BRCA1.

Várias pesquisas indicaram uma associação entre BRCA1 e a proteína p53, e o encarecimento subsequente de atividade de p53 incrimina BRCA1. O BRCA1 forma complexos com BRCA2 e Rad 51, que é homólogo do gene Rec A da *E. coli* em humanos e que é essencial à recombinação nor- mal e estabilidade do genoma (BAST, et al 2000).

O BRCA1 também pode fazer um papel de regulação na transcri-

ção, controle do ciclo celular e de- senvolvimento. O BRCA1 foi associ- ado com a RNA polimerase holoenzi- ma 32 e fita CREB33, que implica na regulação de transcrição.

Em uma mulher que desenvolve câncer de mama, antes dos 40 anos, a chance que ela leva uma mutação em BRCA1 pode ser tão alta quanto 10%. O que não é aplicado para BRCA2, que pode ser associado a uma idade ligeiramente mais elevada.

A prevalência de certas muta- ções de BRCA1 e BRCA2 é ocasional- mente mais alta que o esperado, devido à transmissão aumentada de algumas mutações, em certas popu- lações, devido ao efeito do fundador (BAST, et al. 2000).

Foram identificadas mutações de fundador características para BRCA1 e BRCA2 em famílias de Judeus Ashkenazi e de descendentes na Is- lândia, Finlândia, Hungria, Rússia, França, Holanda, Bélgica, Suécia, Di- namarca e Noruega. A maioria dos estudos realizados em BCRA1 e BCRA2 foram feitos em caucasóides dos Estados Unidos e Europa (BAST, et al. 2000).

Significamente, existem me- nos dados sobre as taxas de muta-

Tabela 1: Quadro comparativo mostrando as propriedades e funções dos genes BRCA1 e BRCA2

	BCRA1	BCRA2
Cromossomo	17q21	13q12
Gene	100kb	70kb
Proteína	1.863 aminoácidos Componente da holoenzima RNA-polimerase	3.418 aminoácidos
Função	Supressor tumoral Interage com proteínas nucleares Possível papel no reparo do DNA	Supressor tumoral Interage com proteínas nucleares Possível papel no reparo do DNA
Mutações	> 500 identificadas	>200 identificadas
Risco de câncer de mama	Mais de 70% aos 80 anos de idade	Mais de 60% aos 70 anos de idade
Idade de início	Idade mais jovem (quarta á quinta década de vida)	50 anos; mais idosa do que o BCRA1.
Risco de outros tumores	Risco de câncer ovariano de 30-60% aos 70 anos de idade Próstata, cólon.	Câncer de mama masculina, ovário, bexiga, próstata, pâncreas.
Mutações no câncer não - familiar	Muito raras (<5%)	<5%
Epidemiologia	Mutações específicas mais comuns em alguns grupos étnicos (p. ex., presença de uma mutação em 20 a 30% dos cânceres de mama em mulheres Judias Ashkenazi).	Mutações específicas mais comuns em alguns grupos étnicos
Patologia dos cânceres de mama	Maior incidência:13% de carcinomas medulares e tumores de maior grau Carcinoma <i>ductal in situ</i> menos freqüente.	Tipos variáveis podendo depender de mutações específicas.

Fonte: COTRAN, R.S.; KUMAR,V.;COLLINS,T. 2001.

ções de BRCA1 e BRCA2 em famílias de outros grupos étnicos e raciais (BAST, et al 2000).

TRAVTIGIAN, et al (1996), observaram como o BRCA1, a proteína de BRCA2 é altamente carregada, ¼ dos resíduos é ácido ou básico. Porém, havia poucas pistas sobre a função bioquímica de BRCA2. Foram observados níveis mais altos de expressão em mama e timo, e ligeiramente níveis mais baixos em pulmão, ovário e baço. Em estudo de 18 famílias, em 9 foi observado a deleção de 3 nucleotídeos que altera a armação de leitura, e conduzem a mutilação da proteína BRCA2. Os autores notaram que o BRCA2 é notavelmente semelhante a BRCA1. Ambos possuem o exon 11 grande; em ambos a tradução começa no exon 2; ambos têm sucessões de codificação que são ricas em Adenina; e são compostos de aproximadamente 70 Kb de Dna genômico. O BRCA2 é composto de 27 exons.

WEBER, et al. (1996), estudaram 3 exons de BRCA2 (exons 10, 11 e 27) em 69 amostras aleatórias de tumor de mama congelados. Eles identificaram uma mutação somática truncada de BRCA2 em carcinoma ductal primário: deleção de 1 par de bases e substituídas pela adição de 9 aminoácidos modernos e terminação da tradução no códon 894.

CONNOR, et al. (1997), em seus estudos com ratos observaram que o BRCA1 e BRCA2 são altamente expressos proliferando células ao limite de G1/S do ciclo celular da mama comum vistos em pacientes com mutações nestes genes, sugere que BRCA1 e BRCA2 possam estar agindo no mesmo tempo.

SARAN, et al. (1997), identificaram uma interação de proteína de BRCA2 com a proteína de DNA conserto Rad51. DAVIS, et al. (2001) mostrou que o BRCA2 faz um papel duplo na regulação da Rad51, que é uma proteína essencial para a recombinação homóloga e conserto de DNA.

Primeiramente, as interações de Rad51 e o BCR3, ou regiões de BCR4 do BRCA 2, bloqueiam a formação de filamentos nucleoprotéicos por Rad51. Alterações para a região de BCR3 que imitam mutações associa-

das ao câncer de BRCA2 não exibem este efeito.

Em segundo, o transporte de Rad51 para o núcleo estava defeituoso em células que carregam uma mutação associada ao câncer de BRCA2. Assim, BRCA2 regula a localização intracelular e a habilidade de ligação de DNA de Rad51.

STRUEWING, et al. (1997), estudaram 120 portadoras de mutações em BRCA1 e BRCA2. As mutações em BRCA1 estudadas eram 185delAG, e 5382insC; a mutação de BRCA2 estudada era 6174delT. O risco calculado de câncer de mama em pacientes com até 70 anos era de 56%, de câncer ovariano 16%; e de câncer de próstata 16%, não havia diferença significativa no risco de câncer de cólon entre os parentes dos portadores. Concluíram que de 2% de Judeus Ashkenazi levam mutações em BRCA1 e BRCA2, o que confere um risco aumentado de câncer de mama, ovário e próstata.

NEUHAUSEN, et al. (1998), analisaram famílias Judias e identificou 3 mutações mais frequentes, possivelmente através do efeito do fundador que são: 185del AG e 5832 ins C em BRCA1 e 6174 del T em BRCA2.

JERNISTON, et al. (1999), concluíram em seus estudos que os portadores do BRCA1 e mutações do BRCA2, que têm filhos, estão mais suscetíveis a desenvolverem câncer de mama, antes dos 40 anos, que as portadoras que são nulíparas. Cada gravidez aumenta o risco de desenvolver câncer de mama.

As mutações da linhagem germinativa do BRCA1 são responsáveis por 2% a 4% de todos os cânceres mamários. Embora mais que 90% deles sejam casos esporádicos, ocorrendo em mulheres sem evidências de susceptibilidade hereditária, análises de espécies de tumores mamários sugerem que anormalidades somáticas adquiridas no BRCA1 possam também desempenhar um papel em muitos desses cânceres (CROOP, et al. 1990).

FODOR, et al. (1998) determinando a frequência do BRCA1 comum e mutações de BRCA2: 185 del AG, 5382 ins C e 6174 del T, o DNA foi analisado para as 3 mutações através de hibridização de oligonu-

cleotídeos alelo-específicos (ASO). Oito pacientes (3%) eram heterozigotos para a mutação 185 del AG, dois pacientes (0,75%) para 5382 ins C e oito pacientes (3%) para 6174 del T. O risco vitalício para câncer de mama em Judeus Ashkenazi portadores do BRCA1 185del AG ou BRCA2 6147 del T foram calculadas para ser 36%, aproximadamente 3 vezes o risco global para a população em geral.

Na Austrália, BAHAR, et al. (2001), encontraram em Judeus Ashkenazi a mesma prevalência alta de 4 mutações do fundador, da mesma forma que acha em Judeus Ashkenazi nos Estados Unidos e Israel. As quatro mutações analisadas era 185 del AG e 5182 ins C em BRCA1; 6174 del T em BRCA2 e 11307K em APC.

STRUEWING, et al. (1995) declarou que mais de 50 mutações sem igual tinham sido descobertas no gene BRCA1, em indivíduos com câncer de mama e ovário. Em genealogias de alto risco, portadoras femininas de uma mutação de BRCA1 tiveram 80 a 90% de risco vitalício em câncer de mama e 40 a 50% de risco de câncer de ovário.

STRUEWING, et al. (1995), determinaram a frequência da mutação 185 del AG em 858 Ashkenazi, que buscam prova genética para condições sem conexão para câncer, e em 815 pessoas de referência não selecionadas pela origem étnica. Eles acharam a mutação 185 del AG em 0,9% de Ashkenazi. Os resultados sugeriram que 1/100 mulheres de descendência Ashkenazi possam ter alto risco de desenvolver câncer de mama ou ovário.

Entre as 39 mulheres Judias com câncer de mama antes dos 40 anos, (FITZ, et al. 1996) acha que 8 (2%) carregam a mutação 185 del AG.

Em câncer de mama esporádico, (THOMPSON, et al. 1995) acha o RNAm do BRCA1 em níveis notadamente diminuídos durante a transcrição de carcinoma *in situ* para câncer invasivo.

THOMPSON, et al. (1995), acharam que aquela inibição experimental da expressão de BRCA1 com oligonucleotídeos antisense produziu crescimento acelerado de células nor-

mais e células malignas, mas não teve nenhum efeito em células epiteliais não mamárias. Eles interpretaram estes resultados como indicado que o BRCA1, normalmente pode servir como um regulador negativo de crescimento de células epiteliais mamárias.

HEDENFALK, et al. (2001), usando a tecnologia de *microarray* para determinar a expressão de genes em câncer de mama, foi achado BRCA1 positivos como constatado com cânceres de mama BRCA2 positivos. A suspeita de que uma diferença poderia ser achada veio do fato que os 2 tipos de tumores são freqüentemente distintos, histologicamente. Além disso, tumores com mutações de BRCA1 são geralmente negativos para estrógeno e receptores de progesterona, considerando que a maioria dos tumores, com mutações de BRCA2, é positivo para receptores de hormônios. Amostras de RNA de tumores primários de 7 portadores da mutação de BCRA1 e 7 portadores da mutação de BCRA2 foi com um *microarray* de 6.512 clones de cDNA de 5.361 genes.

ROA, et al. (1996), observaram a mutação 185 del AG em 1,09% de aproximadamente 3000 Judeus Ashkenazi, e a mutação 5382 ins C em 0,13%, a análise do BCRA2 em 3.058 indivíduos da mesma população mostraram uma freqüência de portador de 1,52% pela 6174 del T. Estes dois alelos são os mais freqüentes, que predisõem o câncer de mama hereditário entre Judeus Ashkenazi .

BAR-SADE, et al. (1997), em estudo com 639 Judeus Iraquianos saudáveis, que são um grupo de pouco risco para a mutação 185 del AG, que é predominantemente em Ashkenazi, foram identificados 3 indivíduos portadores da mutação 185 del AG . As análises de haplótipo iraquiano mostram que 2 compartilham um haplótipo em comum com 6 portadores Ashkenazi, e um terço teve um haplótipo que diferiu por um único marcador. Isto sugeriu que a mutação 185 del AG do BCRA1 pode ter sugerido antes da dispersão das pessoas judias no Diáspora, pela mesma época de Cristo.

Alelos mutantes de genes supressores de tumores, quando herdados, predisõem os indivíduos a tipos particulares de câncer. Além de um envolvimento na suscetibilidade herdada para câncer, estes genes de supressão tumoral são objetivos para mutações somáticas em tipos de câncer esporádicos. Uma exceção é o BRCA1, que contribui com uma fração significativa de câncer de mama e ovário, mas sofre mutação a taxas baixas em câncer de mama e ovário esporádicos. Este achado sugere que outros genes possam ter como objetivo principal causar mutações somática em carcinoma de mama. O outro gene BRCA2 conta, neste estudo, com uma proporção quase igual a do BRCA1. O BRCA1 e o BRCA2 se comportam de forma dominante, tendo em vista que herda um alelo mutante e têm um risco maior de desenvolver um tumor; tumores que eles desenvolverem perdem o alelo do tipo selvagem através da perda da heterozigidade. (TENG, et al. 2002.)

STEPHENSON, em (2003), estudou mulheres com mutações no BRCA1 e BRCA2, que têm um risco mais elevado de desenvolverem câncer de mama, se fizeram uso de métodos contraceptivos orais, por, pelo menos, 5 anos ou antes de 1975 (quando preservativos orais geralmente tinham um conteúdo de estrógeno mais alto que os produzidos depois). Estas têm um risco vitalício de 50 a 80% de desenvolverem câncer de mama. O estudo contou com 1311 pares de mulheres que eram portadoras de mutações danosas, em um ou ambos genes, a metade de quem teve câncer de mama e a metade de quem não tiveram.

LLORT, et al. (2002), em seus estudos com pacientes espanholas, analisando mutações em BRCA1 e BRCA2 têm uma proporção hereditária significativa baixa, no que diz respeito ao câncer de mama. O espectro mutacional nestes genes é muito grande, com centenas de mutações de BRCA diferentes mundialmente informadas. Mutações devido ao efeito do fundador têm uma fração significativa de todas as mutações de grupos étnicos. Em estudo com 35 famílias espanholas que desenvolveram câncer de

ovário e mama, foram achadas 13 mutações, das quais se tinham notícias de apenas 3, na Espanha. As dez mutações modernas são: IVS5+1G>A, 1491delA Leu 1086 Ter, e Gln 895Ter em BRCA1; Glu 49 Ter, 5373del GTAT, 5947del CTCT, 6672 del TA, 8281 ins A, e Pro 3039 Leu em BRCA2. Este estudo, comparado com outros realizados no país, mostra que das várias mutações encontradas na Espanha, nenhuma parece ter relação, com efeito, do fundador.

KUMAR, et al. (2002), analisaram a sucessão de codificação do gene BRCA1 e BRCA2 em 14 pacientes de câncer de mama hereditário em mulheres Indianas. A análise foi realizada em gel de eletroforese sensível (CSGE), seguido de seqüenciamento. Três mutações delas modernas no exon 7, enquanto a outra é um apagamento de par básico no exon 11 que resulta em mutilação de proteína. A mutação 185 del AG, previamente descrita, em Judeus Askenazi, também foi encontrada nesta população. Mesmo este sendo o 1º estudo realizado com famílias da Índia (14 no total) sugere uma baixa prevalência, mas com um envolvimento definitivo de mutações no gene BCRA1, entre mulheres Indianas com câncer de mama.

A população do Paquistão possui uma taxa de câncer de mama extremamente alta para populações Asiáticas e uma das taxas mais altas, mundialmente, do câncer ovariano. Neste estudo com 341 casos de câncer de mama, 120 casos de câncer ovariano e 200 controles femininos. A prevalência de mutações no BRCA1 e BRCA2 em pacientes com câncer de mama são de 6,7%, de câncer ovariano são 15,8%. Mutações no gene BRCA1 respondem por 84% das mutações de câncer ovariano e 65% das mutações de câncer de mama. A maioria das mutações descobertas são novas para o Paquistão. Cinco mutações de BRCA1: 2080 ins A, 3889 del AG, 4184 del 4, 4284 del AG, e IVS14 - 1A>G , e uma mutação de BRCA2 3337C>T, foram encontradas em múltiplos casos e representam fortes candidatos ao efeito do fundador, segundo (LIEDE, et al. 2002).

TERESCHENKO, et al. (2002), estudaram 25 famílias Russas com cân-

cer de mama e ovário, onde analisaram mutações nos genes BRCA1 e BRCA2, usando análise de heteroduplex e multiplex. Além disso, foram testadas 22 pacientes com câncer de mama diagnosticados antes dos 40 anos, sem história familiar e 6 pacientes com câncer de mama bilateral. A frequência de mutações no BRCA1 era de 16%. Uma mutação de BRCA1, 5382 ins C, foi achada em 3 famílias. Este estudo juntamente com outro sugere que 5382 ins C no BRCA1 é uma mutação de fundador na população Russa. No BRCA2 foram encontradas 3 mutações em pacientes com câncer de mama sem história familiar, 2 em pacientes jovens e 1 em pacientes com câncer bilateral. Foram encontradas 4 mutações modernas: 695 ins T, 1528 del 4, 9318 del 4, S1099X.

No ano de 2000 foram diagnosticados quase 80.000 casos novos de câncer de mama na Índia. Embora a identificação de BRCA1 e BRCA2 aumentou a compreensão na genética do câncer de mama em populações de descendência da Europa Ocidental, o papel destes genes no restante da população indiana é inexplorado. A análise de 20 pacientes com câncer de mama com qualquer história familiar, ou idade precoce, conduziu a identificação de duas variantes (331+1G>T; 4476+2T>C) em BRCA1 (10%) (SAXENA, et al. 2002).

RUIZ, et al. (2002), analisaram heteroduplex de pacientes mexicanos com câncer de mama, onde identificaram mutação truncada em BRCA1 e BRCA2 (3857 del T; 2663 – 2664 ins A) e oito variantes raras de significação desconhecida, principalmente no gene BRCA2, um caso de câncer de mama masculino também foi identificada. A maioria das alterações parecia ser distinta com uma única observada em mais de uma família.

LIEDE, et al. (2002), encontraram duas famílias de descendência aborígenes, ambas com as mesmas alterações de BRCA1 (1510 ins G; 1506 A>G). As famílias representam duas Aborígenes de tribos canadenses, embora uma origem ancestral comum é provável. Esta é a primeira evidência de uma mutação de BRCA1, específica para pessoas aborígenes do Norte da América.

A detecção de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 é feita por técnicas de biologia molecular capazes de identificar a alteração de uma única base na seqüência de DNA. Devido ao grande tamanho das seqüências de BRCA1 e 2, primeiramente, busca-se identificar qual exon contém o sítio mutado, antes de se proceder ao sequenciamento do DNA. A seqüência de DNA correspondente aos vários exons é amplificada por PCR (reação em cadeia da polimerase) para a realização desses testes.

Para o *screening* inicial de mutações, uma técnica muito utilizada é a *de single strand conformation polymorphism* - SSCP, combinada com *heteroduplex analysis*. A técnica de SSCP baseia-se no fato de que a conformação tridimensional de fragmentos de DNA de fita simples depende da seqüência de nucleotídeos, sendo que a diferença de um nucleotídeo altera o padrão de migração eletrofo-rética. A técnica de *heteroduplex analysis* deriva da observação de que, em reações de PCR, onde estão presentes moléculas de DNA selvagens e mutantes, durante os últimos ciclos, podem ser formados heteroduplex entre essas duas espécies de moléculas, os quais terão um padrão de migração eletroforética diferente dos homoduplexes. Utilizando-se fragmentos de tamanho entre 100 e 350 pares de bases, a taxa de detecção de mutações para o SSCP como para o *heteroduplex analysis*, e a associação dos dois métodos pode elevar essa taxa para perto de 100% (sob condições bem controladas e processamento semi-automatizado).

Após a identificação do exon, que a abriga a mutação, esta é caracterizada pelo sequenciamento do DNA. Conhecida a mutação, torna-se possível, também, por sequenciamento, pesquisá-lo em outros membros da família do paciente, com vistas ao aconselhamento genético.

9. Discussão

Com a identificação dos dois principais genes responsáveis pelo câncer de mama hereditário, o BRCA1 e o BRCA2, a genética deu um grande salto em busca da cura de doenças que são estritamente comuns e que mais matam mulheres.

Em muitas populações, algumas mutações tornam-se mais frequentes devido ao efeito do fundador. Uma das populações que teve suas mutações amplamente estudadas foi o de Judeus Askenazi, onde cerca de 2% da população leva mutações em BRCA1 e BRCA2 o que confere um risco aumentado de câncer de mama, ovário e próstata.

Em Judeus Askenazi, as principais mutações encontradas devido ao efeito do fundador e que já foram descritas em inúmeros países, são a 185 del AG e 5382 ins C no gene BRCA1, e no BRCA2 a 6174 del T. A prevalência alta destas mutações de fundador na linhagem germinativa são responsáveis por 2% a 4% de todos os tipos de câncer mamário.

Em pacientes Espanholas, das inúmeras mutações já analisadas em BRCA1 e BRCA2 tem uma proporção hereditária significativa baixa. A comparação com outros estudos realizados no país mostra que nenhuma tem relação, com efeito, do fundador.

Em mulheres indianas, 3 mutações modernas foram encontradas e a 185 del AG foi amplamente encontrada. Existe uma baixa prevalência, mas com um envolvimento definitivo de mutações no gene BRCA1.

No Paquistão, dentre as muitas mutações já descritas, a 3337 C>T no BRCA2 representam uma forte candidata ao efeito do fundador.

Na Rússia, a mutação no BRCA1 5382 ins C foi caracterizada por ser uma mutação de fundador, e tribos do Canadá também têm 2 mutações que são estritamente frequentes.

A identificação de portadoras de mutações BRCA1 está limitada a um número contado de laboratórios, com acesso para raras famílias, na qual a análise de vários parentes oferece informação suficiente para identificar carreadores com um alto grau de certeza. Com base na taxa de carreadoras de uma em 200 a 400 mulheres, a demanda para um rastreamento populacional será provavelmente substancial.

A atenção deve ser voltada para os riscos sociais do teste genético, como potencial perda de seguro, estigmatização e discriminação do empregado.

Uma vez que o gene BRCA1 e BRCA2 tenham sido identificados e um teste clínico para mutações comuns esteja disponível, os problemas levantados no aconselhamento de uma única família irão assumir enormes proporções. A prevalência de carreadoras de mutações BRCA1, com um risco de aproximadamente 85% de desenvolverem câncer de mama, em muito excedem a incidência de qualquer outra doença genética para qual o rastreamento pré-sintomático esteja atualmente disponível.

O rastreamento para mutação BRCA1 é provavelmente o 1º teste pré-sintomático que terá lugar na prática clínica geral, e um sucesso ou falha desses esforços trará um grande impacto no futuro deste campo, com todo o seu potencial para o avanço da medicina preventiva, evitando doenças e reduzindo os custos da saúde. Tem-se a esperança de que, com o rastreamento genético, a suscetibilidade ao câncer de mama, muitas armadilhas possam ser evitadas.

10. Referências Bibliográficas

BAHAR, A. Y.; TAYLOR, P. J.; ANDREWS, L.; PROOS, A.; BURNETT, L.; TUCKER, K.; FRIEDLANDER, M.; BUCKLEY, M. F.: *The frequency of founder mutations in the BRCA1, BRCA2, and APC genes in Australian Ashkenazi Jews: implications for the generality of U.S. population data. Cancer.* v.92, p.440-445, 2001.

BAR-SADE, R. B.; THEODOR, L.; GAK, E.; KRUGLIKOVA, A.; HIRSCH-YECHEZKEL, G.; MODAN, B.; KUPERSTEIN, G.; SELIGSOHN, U.; REHAVI, G.; FRIEDMAN, E.: *Could the 185delAG BRCA1 mutation be an ancient Jewish mutation? Europ. J. Hum. Genet.* v.5, p.413-416. London, 1997.

BAST, R.C.; KUFEL, D.W.; POLLOCK, R.E.; WEISHELBAUM, R. R.; ROLLAND, J. F.; *Cancer Medicine*. 5. ed. Frei Emil editors. Canadá. 2000.

BATES, B.; HOCKELMAN, R. A. *Propedêutica Médica*.

Guanabara, 2ªed. Rio de Janeiro. 1982.

BIESECHER, B. B.; BOEHNKE, M.; CALZONE, K.; MARKEL, D. S.; GARBER, J. E.; COLLINS, F. S.; WEBER, B. L. *Aconselhamento genético para famílias com susceptibilidade hereditária a câncer de mama e câncer ovariano. JAMA.* v.269, p.1970-1974. Chicago, 1993.

CONNOR, F.; SITH, A.; WOOSTER, R.; STRATTON, M.; DIXON, A.; CAMPBELL, E.; TAIT, T. M.; FREEMAN, T.; ASHWORTH, A. *Cloning, chromosomal mapping and expression pattern of the mouse Brca2 gene. Hum. Molec. Genet.* v.6, p. 291-300. London, 1997.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T.; *Patologia estrutural e funcional*. Guanabara Koogan, 6ª ed. Rio de Janeiro. 2001.

CROOP, C.S.; LIDEREAU, R.; CAMPBELL, G.; CHAMPENE, M.H.; CALLAHAN, R. *Loss of heterozygosity on chromosomes 17 and 18 in breast carcinoma: two additional regions identified. Proc. Natl. Acad. Sci.* v. 87: p.7737-7741. USA, 1990.

FELDSTEIN, A.; CULVER, H. A.; FELDDTEIN, P. J. *Diferenças de tratamento e outros fatores prognósticos relacionados com a sobrevivida ao câncer de mama. JAMA.* v. 271: p.1163-1168. Chicago, 1994.

FITZGERALD, M. G.; MACDONALD, D. J.; KRAINER, M.; HOOVER, I.; O'NEIL, E.; UNSAL, H.; SILVA-ARRIETO, S.; FINKELSTEIN, D. M.; BEER-ROMERO, P.; ENGLERT, C.; SGROI, D. C.; SMITH, B. L.; YOUNGER, J. W.; GARBER, J. E.; DUDA, R. B.; MAYZEL, K. A.; ISSELBACHER, K. J.; FRIEND, S. H.; HABER, D. A. *Germ-line BRCA1 mutations in Jewish and non-Jewish women with early-onset breast cancer. New Eng. J. Med.* v. 334: p.143-149. London, 1996.

FODOR, F. H.; WESTON, A.; BLEIWEISS, I. J.; MCCURDY, L. D.; WALSH, M. M.; TARTTER, P. I.; BROWER, S. T.; ENG, C. M. *Frequency and carrier risk associated with common BRCA1*

and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jewish breast cancer patients. Am. J. Hum. Genet. v. 63: p.45-51. London, 1998.

HARRISON, J.; FAUCI, A. S.; BRAUNWALD, E.; ISSELBACKER, K. J.; WILSON, J. D.; MARTIN, J. B.; KASPER, D. L.; HAUSEN, S. L.; LONGO, D. *Medicina Interna*. McGrawhill, 14ª ed. Rio de Janeiro, 1998.

HEDENFALK, I.; DUGGAN, D.; CHEN, Y.; RADMACHER, M.; BITTNER, M.; SIMON, R.; MELTZER, P.; GUSTERSON, B.; ESTELLER, M.; KALLIONIEMI, O.-P.; WILFOND, B.; BORG, A.; TRENT, J. *Gene-expression profiles in hereditary breast cancer. New Eng. J. Med.* v. 344: p.539-548. London, 2001.

JERNSTROM, H.; LERMAN, C.; GHADIRIAN, P.; LYNCH, H. T.; WEBER, B.; GARBER, J.; DALY, M.; OLOPADE, O. I.; FOULKES, W. D.; WARNER, E.; BRUNEET, J. S.; NAROD, S. A. *Pregnancy and risk of early breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2. Lancet.* v. 354: p.1846-1850, 1999.

KING, L.; HALF, J. M.; LEE, M. K.; NEWMAN, B. *Linkage of early onset breast cancer to chromosome 17q21. Science,* v.250: p.1684-1689, 1990.

KHOO, US; CHAN, KY; CHEUNG, AN; XUE, WC; SHEN, DH; FUNG, KY; NGAN, HY; CHOY, KW; PANG, CP; POON, CS; POON, AY; OZCELIK, H. *Recurrent BRCA1 and BRCA2 germline mutations in ovarian cancer: a founder mutation of BRCA1 identified in the Chinese population. Department of Pathology*, Queen Mary Hospital, The University of Hong Kong, Hong Kong, 2000.

KUMAR, BV; LAKHOTIA, S; ANKATHIL, R; MADHAVAN, J; JAYAPRAKASH, PG; NAIR, MK; SOMASUNDARAM, K. *Germline BRCA1 mutation analysis in Indian breast/ovarian cancer families. Cancer Biol Ther.* v.1: p.18-21, 2002.

LEWIN, Benjamin. *Genes VII*. Artmed. Rio de Janeiro, 2001.

LIEDE, A; JACK, E; HEGELE, RA; NAROD, AS; *A BRCA1 mutation*

- in Native North American families. **Hum Mutat.** v.19: p.460, 2002
- LIEDE, A.; MALIK, I.A.; AZIZ, Z.; RIOS, P. L.; KWAN, E.; NAROD, A.S. *Contribution of BRCA1 and BRCA2 mutations to breast and ovarian cancer in Pakistan.* **Am J Hum Genet.** v.71: p.595-606. London, 2002.
- LLORT, G.; MUNOZ, C.Y.; TUSER, M.P.; GUILLERMO, I.B.; LLUCH, J.R.; BALE, A.E.; FRANCO, M.A. *Low frequency of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Spain.* *Unidad de Consejo Genetico.* Servicio de Prevencion y Control del Cancer, Catalonian National Cancer Institute, **Hum Mutat.**: v. 19(3): p.307. Barcelona, Spain, 2002.
- NEUHAUSEN, S. L.; GODWIN, A. K.; GERSHONI-BARUCH, R.; SCHUBERT, E.; GARBERT, J.; STOPPA-LYONNET, D.; OLAH, E.; CSOKAY, B.; SEROVA, O.; LALLO, F.; OSORIO, A.; STRATTON, M.; and 18 others : *Haplotype and phenotype analysis of nine recurrent BRCA2 mutations in 111 families: Results of an international study.* **Am. J. Hum. Genet.** v. 62: p.1381-1388. London, 1998.
- ROA, B. B.; BOYD, A. A.; VOLCIK, K.; RICHARDS, C. S. *Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2.* **Nature Genet.** v.14: p.185-187, 1996.
- RUIZ-FLORES, P.; SINILNIKOVA, O.M.; BADZIOCH, M.; CALDERON-GARCIDUENAS, A.L.; CHOPIN, S.; FABRICE, O.; GONZALEZ-GUERRERO, J.F.; SZABO, C.; LENOIR, G.; GOLDFAR, D.E.; BARRERA-SALDANA, H.A. *BRCA1 and BRCA2 mutation analysis of early-onset and familial breast cancer cases in Mexico.* **Hum Mutat.** v. 20(6): p.474-475. Barcelona, Spain, 2002.
- SAXENA, S.; SZABO, C.I.; CHOPIN, S.; BARJHOUX, L.; SINILNIKOVA, O.; LENOIR, G.; GPLDGAR, D.E.; BHATANAGER, D.;. *BRCA1 and BRCA2 in Indian breast cancer patients.* **Hum Mutat.** v. 20(6): p.473-474. Barcelona, Spain, 2002.
- SCULLY, R.; LIVINGSTON, D. M.. *In search of the tumour-suppressor functions of BCRA1 and BCRA2.* **Nature.** v.408: p.429-432, 2000.
- SCHUTE, M.; DA COSTA, L. T.; HAHN, S. A.; MOSKALUK, C.; HOQUE, A. T. M. S.; ROZENBLUM, E.; WEINSTEIN, C. L.; BITTNER, M.; MELTZER, P. S.; TRENT, J. M.; YEO, C. J.; HRUBAN, R. H.; KERN, S. E. *Identification by representational difference analysis of a homozygous deletion in pancreatic carcinoma that lies with the BRCA2 region.* **Proc. Nat. Acad. Sci.** v. 92: p.5950-5954, 1995.
- SHARAN, S. K.; MORIMATSU, M.; ALBRECHT, U.; LIM, D.S.; REGEL, E.; DINH, C.; SANDS, A.; EICHELE, G.; HASTY, P.; BRADLEY, A. *Embryonic lethality and radiation hypersensitivity mediated by Rad51 in mice lacking Brca2.* **Nature.** v. 386: p.804-810, 1997.
- SPENCER, A. P. **Anatomia Humana Básica.** 2ª. ed. Manole. São Paulo, 1991.
- STEPHENSON, Joan. *Breast cancer risk.* **JAMA.** v. 8: p.164. Chicago, 2003.
- STRUEWING, J. P.; ABELIOVICH, D.; PERETZ, T.; AVISHAI, N.; KABACK, M. M.; COLLINS, F. S.; BRODY, L. C. 63, *The carrier frequency of the BRCA1 185delAG mutation is approximately 1 percent in Ashkenazi Jewish individuals.* **Nature Genet.** v.11: p.198-200, 1995.
- STRUEWING, J. P.; BRODY, L. C.; ERDOS, M. R.; KASE, R. G.; GIAMBARRESI, T. R.; SMITH, S. A.; COLLINS, F. S.; TUCKER, M.A. *Detection of eight BRCA1 mutations in 10 breast/ovarian cancer families, including 1 family with male breast cancer.* **Am. J. Hum. Genet.** v.57: p.1-7. Barcelona, Spain, 1995.
- STRUEWING, J. P.; HARTGE, P.; WACHOLDER, S.; BAKER, S. M.; BERLIN, M.; MCADAMS, M.; TIMMERMAN, M. M.; BRODY, L. C.; TUCKER, M. A. *The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews.* **New Eng J Med.** v.336: p.1401-1408. London, 1997.
- TAVTIGIAN, S. V.; SIMARD, J.; ROMMENS, J.; COUCH, F.; SHATTUCK-EIDENS, D.; NEUHAUSEN, S.; MERAJVER, S.; THORLACIUS, S.; OFFIT, K.; STOPPA-LYONNET, D.; BELANGER, C.; BELL, R.; and 37 others: *The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds.* **Nature Genet.** v.12: p.333-337, 1996.
- TENG, D.H.; BOGDEN, R.; MITCHELL, J.; BAUMGARD, M.; TAVTIGIAN, S.V.; JHANWAR, S. : *Baixa incidência de mutações de BRCA2 em carcinoma de mama e outros cânceres.* **Myriad Genetics, Inc.**, Salt Lake City, Utah, USA. 2002.
- TERESCHENKO, I.V.; BASHAM, V.M.; PONDER, B.A.; PHOROAH, P.D. *BRCA1 and BRCA2 mutations in Russian familial breast cancer.* **Hum Mutat.** v.19: p.184. Barcelona, Spain. 2002.
- THOMPSON, M. E.; JENSEN, R. A.; OBERMILLER, P. S.; PAGE, D. L.; HOLT, J. T. *Decreased expression of BRCA1 accelerates growth and is often present during sporadic breast cancer progression.* **Nature Genet.** v.9: p.444-450, 1995.
- VISSAC, C.; PEFFAULT, De L. M.; COMMUNAL, Y.; BIGNON, Y.J.; BERNARD-GALLON, D.J. *Expression of BRCA1 and BRCA2 in different tumor cell lines with various growth status.* **Clin Chim Acta.** v.320(1-2): p.101-110. 2002.
- WEBER, B. H. F.; BROHM, M.; STEC, I.; BACKE, J.; CAFFIER, H. *A somatic truncating mutation in BRCA2 in a sporadic breast tumor.* **Am. J. Hum. Genet.** v.59: p.962-964. London, 1996.
- WOOSTER, R.; NEUHAUSEN, S. L.; MANGION, J.; QUIRK, Y.; FORD, D.; COLLINS, N.; NGUYEN, K.; SEAL, S.; TRAN, T.; AVERILL, D.; FIELDS, P.; MARSHALL, G.; NAROD, S.; LENOIR, G. M.; LYNCH, H.; FEUNTEUN, J.; DEVILLEE, P.; CORNELISSE, C. J.; MENKO, F. H.; DALY, P. A.; ORMISTON, W.; McMANUS, R.; PYE, C.; LEWIS, C. M.; CANNON-ALBRIGHT, L. A.; PETO, J.; PONDER, B. A. J.; SKOLNICK, M. H.; EASTON, D. F.; GOLDFAR, D. E.; STRATTON, M. R. *Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13.* **Science** v.265: p.2088-2090, 1994.