

A. Cazorla\*,  
 A. Osorio\*\*,  
 A. Martínez\*\*,  
 J. Benítez\*\*,  
 J.M. San Román\*\*\*,  
 C. Rivas\*

## Morfología e inmunofenotipo del cáncer de mama y ovario en pacientes portadoras de mutaciones *BRCA-1* y *BRCA-2*

### Morphology and immunophenotype of cancer of the breast and ovary in patients with *BRCA-1* and *BRCA-2* mutations

#### SUMMARY

*The objective was to define morphology and immunophenotype in hereditary breast-ovarian carcinomas of BRCA-1-BRCA-2 germline mutation carriers. Macroscopy and optical definition were done according Bloom-Richardson score. Immunohistochemistry (IHCH) methods include ENVISION variation and heat antigen retrieval; a complete panel of monoclonal and polyclonal antibodies against hormone receptors, bcl-2, p53, proliferation (MIB-1), c-erb-2 oncogene and BRCA-1, was performed, adding CEA, Ca 19.9 and Ca 125 in ovarian tumours. Nineteen cases of hereditary breast-ovary carcinomas were reviewed, eleven BRCA-1 germline mutated (all female patients, eight breast and three ovarian tumours) and eight with BRCA-2 germline mutation (five female and two male patients, all breast tumours and one ovarian carcinoma). BRCA-1 group corresponds to young female patients with invasive ductal carcinoma (IDC), poorly differentiated (grade II-III, one medullar variant), high proliferation, low p53 expression, lack of hormonal receptors, negative c-erb-2 negative; three cases were bilateral and one multifocal. BRCA-2 group shows also predominantly invasive ductal neoplasias some with in situ component [one case corresponds to invasive lobular carcinoma (ILC)], the differentiation was poor (II-III grade), minor proliferation, variable hormonal receptor status, low p53 and weak c-erb-2 expression. Neither bilateral nor multifocal cases were found. The majority of tumours shows infiltrative margins (71% of BRCA-2 cases and 50% BRCA-1), only 25% of BRCA-1 cases had well defined contour.*

*Ovarian tumours in both groups were aggressive and poorly differentiated, with high proliferation and p53 expression. We cannot define a specific morphologic and immunohistochemical pattern in these germline-mutated neoplasias. However, all BRCA-1 cases, are poorly differentiated carcinomas with high proliferation, lack of hormonal markers, moderate expression of mutated p53 protein and c-erb-2 oncogene negative. In contrast, BRCA-2 group shows variety in morphology and immunophenotype.*

#### Palabras clave

BRCA-1. BRCA-2. Carcinoma mamario. Cáncer hereditario-familiar. Carcinoma ovárico.

#### Key words

BRCA-1. BRCA-2. Breast carcinoma. Hereditary Familiar Cancer. Ovarian carcinoma.

Fundación Jiménez Díaz (Universidad Autónoma de Madrid-UAM)

Departamentos de

\*Anatomía Patológica y \*\*\*Cirugía.

\*\*Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Laboratorio de Genética Humana. Madrid.

Correspondencia:

Dra. A. Cazorla.

Departamento de Anatomía Patológica. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid.

Avda. Reyes Católicos, 2-4. 28040 Madrid.

E-mail: crivas@fjd.es

## INTRODUCCIÓN

El 5-10% de los carcinomas mamarios son hereditarios, es decir, presentan antecedentes familiares múltiples de primero y segundo grado con un patrón de herencia autosómico dominante. En la última década se han descrito dos genes cuya mutación está relacionada con el desarrollo de un alto porcentaje de los casos hereditarios de cáncer mamario, los genes *BRCA-1* y *BRCA-2*. Se encuentran en 17q21 y 13q12-q13, codificando proteínas de 1.863 y 3.418 aminoácidos respectivamente, ambas relacionadas con la regulación del ciclo celular y la reparación de ADN<sup>1-4</sup>.

En las familias portadoras de mutación en *BRCA-1* se ha descrito carcinoma de mama en edades más jóvenes y con frecuencia bilateral, así como tumores de ovario y próstata. La mutación en *BRCA-2* lleva asociada un mayor riesgo de carcinoma de mama en hombres<sup>4-6</sup>.

El conocimiento de las características morfológicas e inmunohistoquímicas de las variantes tumorales en los portadores de ambas mutaciones podría establecer un patrón morfoclínico de identificación. Las referencias de la literatura a este respecto coinciden en que se trata de carcinomas ductales infiltrantes (CDI) poco diferenciados, con alta proliferación, variando la incidencia del subtipo medular en la mutación *BRCA-1* y de lobulillar en la *BRCA-2*<sup>5,7-10</sup>. En algunas series se comenta que el pronóstico y evolución de estos pacientes es mejor que el de aquellos sin mutación, aunque compartan datos clínicos y grado histológico<sup>5,6,11</sup>.

El propósito de este trabajo es la revisión de un grupo de pacientes de ambos sexos, con tumores de mama y ovario, portadores de ambas mutaciones, con el fin de establecer el patrón morfológico e inmunohistoquímico (IHQ). Se definirán los tipos histológicos de las neoplasias, el grado de malignidad óptico y la correlación inmunohistoquímica con un panel de estudio que incluye anticuerpos mono y policlonales relacionados con receptores hormonales, agresividad, expresión del oncogén *c-erb-2* en mama, y *BRCA-1*, añadiendo otros marcadores en los casos de carcinoma de ovario (CEA, Ca 125 y Ca 19.9).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudian 19 casos familiares de carcinoma de mama y ovario de pacientes portadores de mutación en *BRCA-1* (11 casos) o *BRCA-2* (8 casos) tras análisis genético. Quince de las enfermas fueron diagnosticadas, intervenidas y tratadas en la Fundación Jiménez Díaz

(FJD). Otros 4 casos se remitieron de otros hospitales de la Comunidad de Madrid, tras su estudio molecular en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO)<sup>12</sup>.

De los casos propios (FJD) se reconsidera el estudio histopatológico completo (tamaño tumoral, nódulos únicos o múltiples, uni o bilateralidad de la neoplasia y linfadenopatías axilares; así mismo uni o bilateralidad y extensión de los tumores ováricos). De los casos de consulta (CNIO) con estudio molecular positivo, sólo se dispone de bloque de parafina y algunos datos clínicos. De cada caso se revisaron los cortes teñidos con hematoxilina-eosina (HE), eligiendo para estudio IHQ el bloque de parafina más representativo de la lesión tumoral. El diagnóstico morfológico fue revisado por dos o más patólogos. El grado de diferenciación se valora según la escala de Bloom-Richardson<sup>13</sup> utilizada en la práctica diaria, para los CDI de mama, que considera la formación de tubos, atipias y mitosis (estas se cuantifican ópticamente en diez campos microscópicos de gran aumento [cga]).

El estudio IHQ incluye tinción con anticuerpos monoclonales para receptores estrogénicos (Novocastra, dilución 1:30, nuclear), receptores de progesterona (Novocastra, 1:30, nuclear), MIB-1 (DAKO, 1:30, nuclear), *BRCA-1* (Oncogene Res. Product, 1:50, nuclear) y el anticuerpo policlonal antioncogén *c-erb-2* (DAKO, 1:2000, membrana). Se añade la proteína del gen supresor *p53* (Novocastra-DAKO, 1:50, nuclear) para valorar una mayor agresividad si la positividad es alta y la *bcl-2* relacionada (DAKO, 1:80, citoplasma) para confirmar la positividad para receptores hormonales. En los tumores ováricos se suman otros marcadores: CEA (DAKO, 1:10000, citoplasma), Ca 19.9 (Novocastra, 1:100, membrana) y Ca 125 (Novocastra, 1:100, membrana).

Se utiliza la técnica de Estreptavidina-biotina, según variante ENVISION con el autoteñidor TECHMATE (Dako), obteniendo resultados fidedignos tanto de los marcadores nucleares como de membrana. La cuantificación de MIB-1 y *p53* se realiza tras conteo de 10 campos ópticos de gran aumento, considerándose tres grupos, los que muestran positividad en más del 50% del tumor, los que están entre 49 y 10% y aquellos que son positivos en menos de un 10% del tumor. Tanto en los marcadores nucleares como de membrana, se considera la intensidad de la tinción, siendo negativa (-), débil (+) o fuerte (++) correlacionándose además con el porcentaje de células teñidas. *C-erb-2* sólo se considera positivo si tiñe más de

TABLA 1  
RESUMEN CASOS CARCINOMA DE MAMA

	<i>BRCA-1</i>		<i>BRCA-2</i>	
	Mujeres	Mujeres	Hombres	
<b>Nº de casos</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	
<b>Edad (media)</b>	<b>29-51 (40)</b>	<b>25-46 (35,8)</b>	<b>74-67 (70,5)</b>	
Tipo				
CID	0	1 (20%)	0	
CID + CDI	1 (12,5%)	1 (20%)	2 (100%)	
CDI	7 (87,5%)	2 (40%)	0	
CLI	0	1 (20%)	0	
Otros	0	0	0	
Mitosis				
< 10/10 cga	2 (25%)	2 (40%)	1 (50%)	
10-19/10 cga	1 (12,5%)	1 (20%)	1 (50%)	
> 20/10 cga	5 (62,5%)	1 (20%)	0	
No valorable*	0	1 (20%)	0	
Grado				
I	0	0	0	
II	3 (37,5%)	0 (0%)	2 (100%)	
III	4 (50%)	2 (40%)	0	
No gradado*	1 (12,5%)	3 (40%)	0	
Márgenes				
Infiltrativo	4 (50%)	5 (71,4%)		
Nodular	2 (25%)	1 (14,3%)		
No conocido	2 (25%)	1 (14,3%)		
Tamaño	5-1,5 cm	3-0,9 cm		
Bilaterales	3 (37,5%)	0		
Multifocales	1 (12,5%)	0		

\*Casos de carcinoma *in situ*, microinfiltrantes y CLI.  
CID: carcinoma intraductal; CDI: carcinoma ductal infiltrante; CLI: carcinoma lobulillar infiltrante; cga: campos microscópicos de gran aumento.

un 70 % de las células con expresión completa en membrana.

## RESULTADOS

### Casos con mutación en *BRCA-1*

Los 11 casos con mutación en *BRCA-1*, pertenecían a mujeres, ocho presentaron carcinomas de mama y tres carcinoma de mama y ovario (tablas 1 y 2).

TABLA 2  
RESUMEN ESTUDIO IHQ

IHQ		<i>BRCA-1</i>		<i>BRCA-2</i>	
		Mama	Ovario	Mama	Ovario
RE	++	2 (25%)	1 (33,3%)	5 (71,4%)	0
	+	1 (12,5%)	2 (66,6%)	1 (14,3%)	1 (100%)
	-	5 (62,5%)	0	1 (14,3%)	0
RP	++	1 (12,5%)	0	1 (14,3%)	0
	+	2 (25%)	2 (66,6%)	4 (57,2%)	0
	-	5 (62,5%)	1 (33,3%)	2 (28,5%)	1 (100%)
MIB-1	> 50%	4 (50%)	0	1 (14,3%)	1 (100%)
	49-10%	3 (37,5%)	2 (66,6%)	1 (14,3%)	0
	< 10%	1 (12,5%)	1 (33,3%)	5 (71,4%)	0
p53	> 50%	3 (37,5%)	1 (33,3%)	0	1 (100%)
	49-10%	1 (12,5%)	1 (33,3%)	1 (14,3%)	0
	< 10%	4 (50%)	1 (33,3%)	6 (85,7%)	0
c-erb-2	+	0	0	3 (42,8%)	0
	-	8 (100%)	3 (100%)	4 (57,2%)	1 (100%)
<i>BRCA-1</i>	++	8 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	1 (100%)
Otros					
CEA +	*	2 (66,6%)	*	1 (100%)	
Ca 125 +	*	3 (100%)	*	0	
Ca 19.9 +	*	2 (66,6%)	*	0	

\*No realizada tinción.  
IHQ: inmunohistoquímico.

### Tumores de mama (tabla 3)

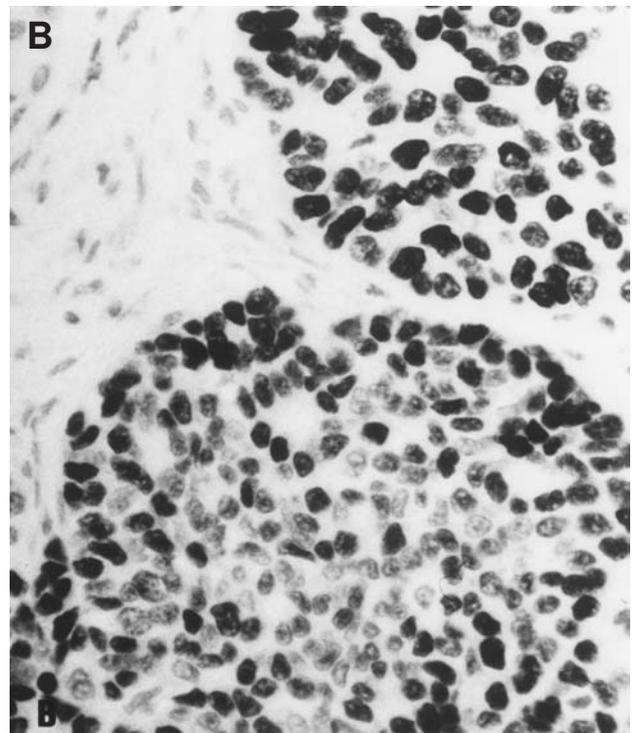
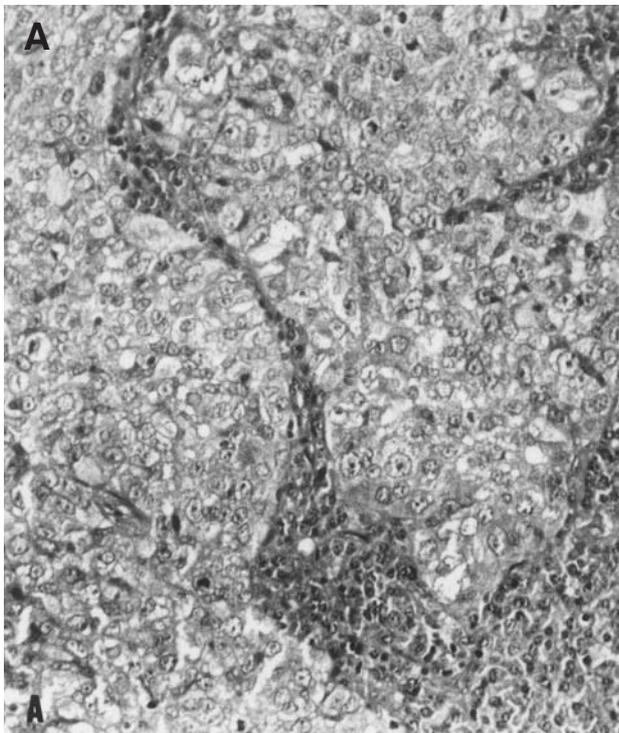
Las edades de estas pacientes estaban comprendidas entre los 29 y los 51 años, con una media de 40 años, apareciendo los tumores de mayor grado en mujeres jóvenes de 34 y 36 años; no obstante, la paciente más joven, de 29 años, mostró un CDI grado II. Cinco casos eran unilaterales y tres bilaterales. La localización fue variable, cuatro derechos, dos izquierdos, y uno bilateral simultáneo; predominando en el cuadrante superoexterno. El tamaño tumoral osciló entre 5 y 1,5 cm. Todos los casos fueron tumores únicos a excepción de un CDI grado III multifocal unilateral, midiendo el foco mayor más de 1,5 cm de diámetro. Cuatro mostraron bordes estrellados infiltrativos y dos buena delimitación. Aparecieron metástasis axilares en cuatro CDI de grados II y III.

Una de las pacientes con CDI grado III presentó simultáneamente al diagnóstico una masa en ovario izquierdo, diagnosticada de teratoma quístico maduro y no incluida en este estudio por tratarse de una neoplasia benigna de estirpe germinal, en principio no relacionada con el síndrome de carcinoma de mama-ovario hereditario.

TABLA 3  
**CARCINOMA DE MAMA EN PACIENTES CON MUTACIÓN *BRCA-1***

Caso	Origen	Mutación	Sexo	Edad	Bilateral	Pieza	Tamaño	Histología	Mitosis 10 cga	Émbolos	Patrón	Mts axila	Score Grado
1	FJD	185delAG	Mujer	34	No	M + N, CSI izqdo.	Multifocal	CDI	25	Sí	Cordonal	Sí	8, III
6	FJD	G1706E	Mujer	44	No	Tumorectomía, CSE dcha.	5 cm	CID con micro infiltración	5	No	Cribiforme, micropapilar	No	No valorable
7	FJD	185delAG	Mujer	36	No	T + N, CIE izqdo., OD	1,5 cm	CDI, teratoma maduro	15	Sí	Nidos sólidos, Cordonal	Sí	8, III
11	FJD	589delCT	Mujer	36	Sí	T + N, CSE izqdo.	3,2 cm	CDI var. Medular	55	No	Sólido	No	8, III
12	FJD	185delAG	Mujer	43	No	T + N, CCSS izqdo.	1,5 cm	CDI comedo	25	No	Comedo	No	7, II
15	FJD	5396+1G/A	Mujer	51	Sí	T + N fuera	NC	CDI en ganglio	20	Sí	Cordonal	Sí	8, III ganglio 6, II mama
18	CNIO	5272-1G/A	Mujer	29	NC	Bloque	NC	CDI en ganglio	< 10	Sí	Mts	Sí	6, II
19	CNIO	185delAG	Mujer	48	Sí	Bloque	3,7 cm	CDI	30	No	Nidos	NC	6, II

cga: campos microscópicos de gran aumento; M + N: mastectomía más niveles axilares; CSI: cuadrante inferoexterno; CSE: cuadrante superoexterno; CID: carcinoma intraductal; T + N: tumorectomía más niveles axilares; CIE: cuadrante inferoexterno; OD: ovario derecho; CDI: carcinoma ductal infiltrante; CCSS: cuadrantes superiores; Comedo: comedocarcinoma; MTS: metástasis; FJD: Fundación Jiménez Díaz; CNIO: Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas; NC: no conocido.



**Fig 1A y B.** Carcinoma de mama-ovario *BRCA-1*. A) Carcinoma ductal infiltrante (HE,  $\times 40$ ); B) carcinoma de ovario poco diferenciado (tinción para p53,  $\times 40$ ).

TABLA 4

ARGUMENTO DE MODIFICADOR DESCONOCIDO: CARCINOMA DE MAMA *BRCA-1*. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

Caso	Origen	Mutación	Tumor	Órgano	RE	RP	bcl-2	MIB-1	p53	c-erb-2	<i>BRCA-1</i>
1	FJD	185delAG	CDI, GIII	Mama	-	-	-	++ 60%	++ 70%	-	++ difuso
6	FJD	G1706E	CDI + CID	Mama	++ 80%	++ 80%	++ 90%	+ 10%	+ 3%	-	++ difuso
7	FJD	185delAG	CDI, GIII	Ganglio	-	+ 2-5%	-	++ 10-30%	++ 90%	-	++ difuso
11	FJD	589delCT	CDI, GIII	Mama	-	-	-	++ 80%	-	-	++ difuso
12	FJD	185delAG	CDI, GII	Mama	-	-	-	++ 75%	++ 90%	-	++ difuso
15	FJD	5396 + 1G/A	CDI, GIII	Ganglio	-	-	-	+ 50% focal	+ 1-2%	-	++ difuso
18	CNIO	5272-1G/A	CDI, GII	Ganglio	++ 60%	+ débil focal	++ 65-70%	++ 25-30%	++ 2%	+/+ 1-2% focal	++ difuso
19	CNIO	185delAG	CDI, GII	Mama	+ 5%	++ 5-10%	-	++ 20-15%	+ 40-65%	-	++ difuso

FJD: Fundación Jiménez Díaz; CDI: carcinoma ductal infiltrante; CID: carcinoma intraductal; CNIO: Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas.

**Microscopía óptica.** Siete de los casos fueron CDI: cuatro de grado III con alto número de mitosis (más de 20/10 cga) uno de ellos subtipo medular, tres grado II de los que dos mostraron también alto índice mitótico (entre 10-26 c.g.a.) El patrón es cordonal y en nidos sólidos (fig. 1A); cuatro presentaron émbolos tumorales linfáticos.

El restante correspondió a un carcinoma intraductal (CID) con un foco de microinfiltración, de patrón cribiforme y micropapilar con microcalcificaciones, de bajo grado nuclear con escasas mitosis.

**Inmunohistoquímica** (tabla 4). Los receptores estrogénicos (RE) fueron negativos o se expresaron débilmente en 6 casos de CDI, de grados II y III. Tan sólo existió positividad en un caso de CDI grado II y en el CID con microinfiltración. La tinción citoplásmica para el anticuerpo bcl-2 fue paralela a la tinción para RE.

Los *receptores de progesterona* (RP) fueron negativos en cuatro CDI, débilmente positivos en tres e intensamente positivos en el intraductal.

Una proliferación (MIB-1) alta, mayor del 50% existía en 4 casos (tres de grado III y uno de grado II). En los cuatro restantes era menor de 30%; el CID mostró una proliferación menor a un 10%.

La expresión de proteína p53 fue muy variable: cuatro casos mostraron positividad mayor del 50%, dos CDI grado II y dos grado III. Los otros 4 casos resultaron negativos o mostraron débil tinción en menos del 5%. La tinción para p53 no se correlaciona con la proliferación ya que dos de los casos positivos muestran baja proliferación y dos de los casos negativos muestran alta proliferación.

c-erb-2 fue negativo; sólo uno de los casos mostró tinción débil e incompleta de membrana en 1-2% de las células (no valorable).

TABLA 5

CARCINOMA DE OVARIO CON MUTACIÓN EN *BRCA-1* Y *BRCA-2*

Caso	Origen	Gen	Mutación	Edad	Mama	Clínica	Tipo histológico	Grado	Extensión
4	FJD	<i>BRCA-2</i>	936delAAAC	54	Sí (88, Ca alto grado)	Masa ovárica bilat + nódulos peritoneales	Adenocarcinoma ovárico bilateral	3, poco diferenciado	Peritoneo
9	FJD	<i>BRCA-1</i>	185delAG	55	Sí (NC)	Masa ovárica bilateral	Adenocarcinoma poco diferenciado ¿endometriode?	2-3, poco diferenciado	Metástasis óseas por carcinoma de mama
10	FJD	<i>BRCA-1</i>	G1706E	46	Sí (CDI, GIII)	Masa bilateral	Poco diferenciado, metástasis de mama	3	
13	FJD	<i>BRCA-2</i>	185delAG	53	Sí (NC)	Masa OD + implantes, ↑ CEA	Cistoadenocarcinoma papilar seroso	3	Serosas

FJD: Fundación Jiménez Díaz; CDI: carcinoma ductal infiltrante; bilat: bilateral; Ca: carcinoma mamario; OD: ovario derecho; NC: no conocido.

TABLA 6  
ESTUDIO IHQ DE CARCINOMAS OVÁRICOS CON MUTACIÓN EN *BRCA-1* Y *BRCA-2*

Caso	Origen	Mutación	Tumor	RE	RP	bcl-2	MIB-1	p53	c-erb-2	Ca 125	CEA	Ca 19.9	<i>BRCA-1</i>
4	FJD	936delAAAC <i>BRCA-2</i>	Cistoadenocarcinoma bilateral poco diferenciado	+ ocasional	-	-	++ 50%	++ 60%	-	+ focal	-	-	++ difuso
9	FJD	185delAG <i>BRCA-1</i>	Adenoma poco diferenciado	++ 70%	++ 20%	+ < 5%	++ 10%	++ 30%	-	++ mb focal	+ focal	-	+++ difuso
10	FJD	G1706E <i>BRCA-1</i>	Metástasis carcinoma	+ 40%	-	-	++ 40%	++ 60%	-	++ mb	+ focal	-	+++ difuso
13	FJD	185delAG <i>BRCA-1</i>	Carcinoma papilar seroso	++ 5% focal glandular	++ 10% focal glandular	+ 5-10%	++ 30%	+++ 75%	-	++ 30-40%	-	++ mb	+++ difuso

FJD: Fundación Jiménez Díaz; mb: membrana.

### Tumores ováricos

Presentados por 3 pacientes, todas con cáncer mamario previo, intervenidas en otros centros hospitalarios (tabla 5). La edad oscila entre 46 y 55 años. Dos fueron masas ováricas bilaterales con carcinomatosis peritoneal y la tercera una masa ovárica unilateral derecha con implantes pélvicos y abdominales.

En el estudio histológico los dos primeros casos correspondieron a adenocarcinomas poco diferenciados con alto número de mitosis, uno con histología compatible con "metástasis de tumor mamario"; el tercero, de origen celomógeno mostró un patrón de adenocarcinoma papilar seroso poco diferenciado.

En el estudio IHQ (tabla 6) los dos primeros casos mostraron positividad del 70 y 40 %, respectivamente, para RE, mientras que el carcinoma papilar seroso fue positivo focalmente (5 %) en áreas de aspecto glandular. Los RP fueron positivos débilmente en el 20 % en el primer caso de adenocarcinoma poco diferenciado, y focalmente, al igual que los estrógenos, en el papilar seroso; siendo negativos en el caso metastásico. La tinción para el anticuerpo bcl-2 fue positiva débil en el adenocarcinoma poco diferenciado y en el papilar seroso; fue negativa en el caso metastásico. El alto índice mitótico óptico se correlacionó con la expresión de MIB-1, de 10, 40 y 30 %, respectivamente. La tinción para el anticuerpo p53 demostró también positividad alta: 30, 60 y 75 % (fig. 1B). C-erb-2 fue negativo en todos los casos.

El CEA fue positivo focal en dos casos, Ca 125 así mismo positivo focal en los tres casos y Ca 19.9 positivo focal en un caso.

La tinción para *BRCA-1* fue positiva en todos los casos (mama y ovario) en núcleo, o núcleo/citoplasma sin

relación con la dilución del antisuero o con los métodos de recuperación antigénica.

### Casos con mutación en *BRCA-2*

Los 8 casos con mutación en *BRCA-2* correspondían a 6 mujeres (cinco con carcinoma mamario y una con carcinoma ovárico y mamario previo) y a dos hombres con cáncer de mama (v. tablas 1 y 2).

### Tumores de mama (tabla 7)

Las edades de las pacientes con tumores mamarios estaban comprendidas entre 25 y 46 años (media de 35,8 años). Los hombres eran de 74 y 67 años.

Ningún caso fue bilateral o multifocal. La localización fue izquierda en 3 casos y derecha en uno, dos en cuadrante superoexterno, dos inferiores y uno retroareolar. El tamaño varió entre 3 y 0,9 cm. Cinco casos mostraron contornos estrellados infiltrativos y uno bien delimitado. Sólo uno de los casos reveló metástasis ganglionares axilares.

Microscopia óptica: cinco fueron CDI (tres con componente intraductal asociado), uno carcinoma lobulillar infiltrante (CLI) y el restante CID tipo comedocarcinoma con microcalcificaciones de alto grado nuclear. De los CDI dos casos eran grado III, dos grado II y en el restante no se evaluó el grado por tratarse tan sólo de pequeño foco infiltrativo. El índice mitótico osciló entre 5 y 30/10 cga (fig. 2A-2B). Los CDI tenían un patrón de crecimiento cordonal o en nidos. El CLI presenta infiltración en hileras de células monomorfas. Todos los casos

TABLA 7  
**CARCINOMA DE MAMA EN PACIENTES CON MUTACIÓN EN *BRCA-2***

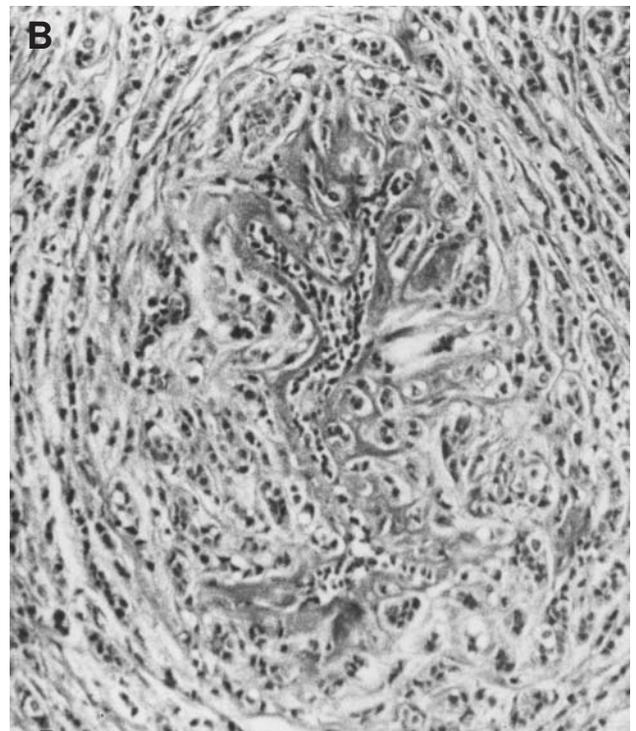
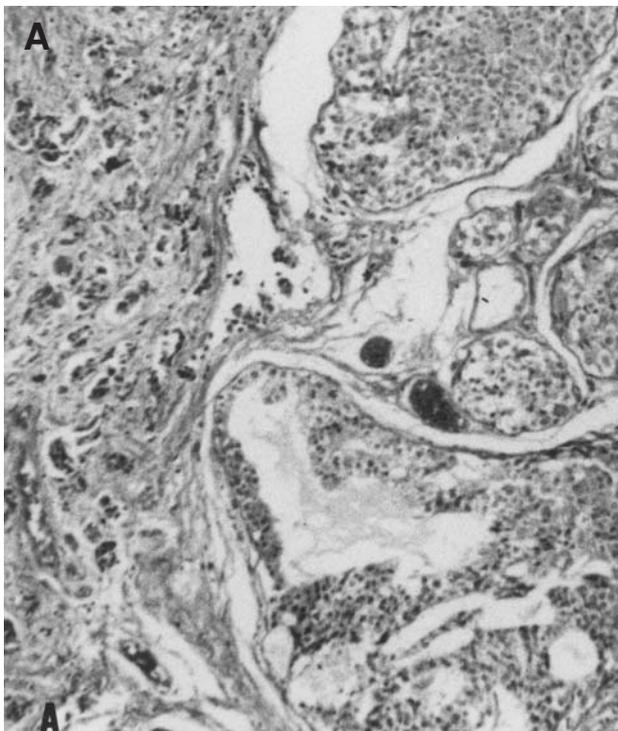
Caso	Origen	Mutación	Sexo	Edad	Bilateral	Pieza	Tamaño	Histología	Mitosis 10 cga	Émbolos	Patrón	Metástasis axila	Grado
2	FJD	3009del5	74	Hombre	No	T + N izqdo.	1,5 cm	CDI + CID micros	9	Sí	Cordonal	Sí	7, II
3	FJD	936delAAAC	33	Mujer	No	T, CCII izqdo.	> 3 cm	CDI + CID	9	Sí	Sólido, comedo	No	No gradado
5	FJD	2370delAA	67	Hombre	No	M + N retroareolar	> 2 cm	CDI + CID	20	Sí	Cordonal	No	6, II
8	FJD	936delAAAC	34	Mujer	No	T + N, CCII dcho.	2 cm	CLI	5	No	Hileras	No	No gradado
14	FJD	936delAAAC	46	Mujer	No	T + N, CSE izqdo.	1,8 cm	CDI	30	Sí	Cordonal, sólido	No	9, III
16	CNIO	vsd	25	Mujer	NC	Bloque	NC	CDI	15	Sí	Cordonal, nidos	NC	8, III
17	CNIO	936delAAAC	41	Mujer	NC	Bloque dcha.	0,9 cm	CDI micros	9	No	Sólido, comedo	No	No gradado, II núcleo

cga: campos microscópicos de gran aumento; FJD: Fundación Jiménez Díaz; CNIO: Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas; CDI: carcinoma ductal infiltrante; CID: carcinoma intraductal; micros: microcalcificaciones; CCII: cuadrantes inferiores; CLI: carcinoma lobulillar infiltrante; vsd: variante de significado desconocido; NC: no conocido; comedo: comedocarcinoma.

excepto el CID y el CLI mostraban múltiples embolizaciones tumorales linfáticas.

En la inmunohistoquímica (tabla 8) los RE mostraron positividad variable entre 20 y 95% en los CDI, intensa en dos de grado II-III y CID con microinfiltración; débil en uno grado III; un caso grado III fue negativo. Los RP fue-

ron positivos intensos en más del 80% del tumor en 1 caso de grado III, positivos débiles en menos del 20-15% en 3 casos y negativos en el mismo caso negativo para RE. La tinción para bcl-2 se correlacionó con los RE, a excepción de 1 caso.



**Fig 2A y B.** Carcinoma de mama *BRCA-2*. A) Carcinoma intraductal-carcinoma ductal infiltrante (HE,  $\times 10$ ); B) carcinoma lobulillar infiltrante (HE,  $\times 40$ ).

TABLA 8  
**CARCINOMA DE MAMA CON MUTACIÓN EN *BRCA-2*: ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO**

Caso	Origen	Mutación	Tumor	Órgano	RE	RP	bcl-2	MIB-1	p53	c-erb-2	<i>BRCA-1</i>
2	FJD	3009del5	CDI + CID, GII	Mama	++ 95%	++ 80%	+ focal	++ 5%	Ocasional débil	-	++ difuso
3	FJD	936delAAAC	CDI + CID	Mama	++ 70%	± 5-10%	++ 70%	5-10 variable	-	± mb difuso	++ difuso
5	FJD	2370delAA	CID + CDI, GII	Mama	++ 95%	++ 5-10%	++ 95%	++ 20%	+ < 2%	+ 1%	++ difuso
8	FJD	936delAAAC	CLI	Mama	++ 80%	++ 40%	++ 70%	++ 5/10%	+ ocasional	+ focal	++ difuso
14	FJD	936delAAAC	CDI, GIII	Mama	-	-	+ aislada	+ 70%	-	-	++ difuso
16	CNIO	vsd	CDI, GIII	Mama	++ 20%	++ 15-20%	++ 80%	++ 10%	++ 15%	-	++ difuso
17	CNIO	936delAAAC	CID, GIII nc	Mama	++ 85-90%	++ focal 10%	++ 90%	++ 10%	+ 5%	± 5%	++ difuso

FJD: Fundación Jiménez Díaz; CNIO: Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas; CDI: carcinoma ductal infiltrante; CID: carcinoma intraductal; mb: membrana; nc: núcleo; vsd: variante de significado desconocido.

La tinción para MIB-1 fue positiva débil, pero en más del 70% en 1 caso de grado III, mientras que en el resto oscila entre un 5-20% del tumor. p53 es positivo en el 15% del tumor en un caso de grado III; el resto muestra positividad ocasional débil o negatividad. C-erb-2 es débilmente positivo en 2 casos.

El CID muestra intensa positividad en más del 90% para RE y bcl-2, en menos del 10% para RP, una proliferación del 10%, con p53 del 5% débil y focos positivos débiles para c-erb-2.

El CLI es positivo para RE y bcl-2 en más del 75%, para RP en el 40%, muestra una proliferación del 5-10% (MIB-1), ocasional y débil tinción para p53 y focal para c-erb-2.

Los casos de carcinoma masculinos (2 y 5 de la tabla) corresponden a CDI de grado II, con intraductal asociado, émbolos linfáticos y con metástasis axilares en un caso. En el estudio IHQ uno de ellos muestra alta expresión de RE, menor de RP, proliferación del 20% (MIB-1) y ocasional p53 y c-erb-2; el otro tiene intensa positividad para receptores hormonales, con débil y focal expresión de bcl-2, baja proliferación, p53 ocasional y débil y c-erb-2 negativos.

### Tumor ovárico

El único caso de tumor ovárico asociado a mutación en *BRCA-2* pertenece a una mujer de 54 años; se trata de un carcinoma bilateral con carcinomatosis peritoneal (tabla 5) poco diferenciado, que apareció 8 años después un carcinoma mamario unilateral. Tras revisión de la punción-aspiración con aguja fina (PAAF) diagnóstica del tumor mamario, se trata de un CDI de alto grado ci-

tológico sin receptores hormonales. El estudio IHQ del carcinoma ovárico (tabla 6) reveló una proliferación del 50% y expresión de p53 de más del 60%, los RE débiles y ocasionales, los RP, bcl-2, c-erb-2, CEA y Ca 19.9 negativos y Ca 125 débilmente positivo focal.

Al igual que el grupo anterior, la tinción con el anticuerpo *BRCA-1* de este grupo, fue siempre positiva (comprobadas distintas concentraciones con controles de tejido mamario normal) e independiente de la mutación presentada, con expresión a nivel nuclear y citoplásmico, tanto del tumor como del parénquima normal acompañante. Excepcionalmente, algún caso mostraba áreas con pérdidas focales de tinción.

### DISCUSIÓN

La mutación en *BRCA-1* se presenta en un grupo de mujeres jóvenes (media de edad 40 años), con tumores unilaterales (62,5%), o bilaterales (37,5%) y con un tamaño máximo de 5 cm; predominan en cuadrantes externos y el contorno liso no infiltrativo sólo aparece en un 25%.

Desde el punto de vista histológico los más frecuentes son CDI (87,5%). En un 12,5% asociado a componente intraductal. Son poco diferenciados, grado II-III, score de Bloom 6-8, con alta proliferación (62%). Sólo existe un caso de carcinoma medular (12,5%) y no hubo ningún carcinoma lobulillar. Un 62,5% no expresa receptores hormonales. La agresividad tumoral es alta, con p53 y MIB-1 positivos en un 50 y 40%. No existe expresión de c-erb-2.

La aparición de tumores ováricos en este grupo es posterior a carcinoma de mama; son poco diferenciados, con alta agresividad, no exhiben marcadores

específicos tisulares que permitan identificarlos como primarios ováricos, y algunos, a pesar de la desdiferenciación, muestran una leve expresión de receptores hormonales, hecho que no es frecuente en los carcinomas ováricos. Parece por ello posible plantear de que se tratara de tumores secundarios o quizá multicéntricos.

Con relación a los carcinomas mamarios, los hallazgos de esta serie concuerdan con los publicados<sup>6,14,15</sup>, que resaltan más la citología y agresividad que los grados histopatológicos según la variante de Bloom Richardson, habitualmente utilizados en nuestro medio para facilitar el entendimiento entre morfológicos y terapeutas.

Los tumores mamarios en las mujeres con mutación *BRCA-2* muestran un espectro más amplio. La edad media es de 35 años (menor que en el grupo anterior). Los casos masculinos se presentan a partir de la séptima década. En ambos sexos predominan los ductales infiltrantes (71,4%), poco diferenciados (grado II-III, *score* de Bloom entre 6-9), con sólo 1 caso lobulillar infiltrante (14,3%). Todos los tumores son de alto grado citológico conservando la expresión de receptores hormonales (71,4%), bajo p53 (85,7%) y débil expresión de c-erb-2 (42,8%).

El único caso ovárico en este grupo es muy agresivo clínica y morfológicamente con alta proliferación y expresión de p53, así como negatividad para receptores hormonales y citología semejante al mamario.

Estos hallazgos concuerdan también con los publicados<sup>5,6,8</sup>, aunque en algunas series se cita un mayor número de lobulillares e intraductales y ausencia de medular en relación a los aparecidos en los casos de mutación *BRCA-1*<sup>6,16,17</sup>.

Especificando los hallazgos histológicos diferenciales, en los casos con ambas mutaciones la serie presentada no comparte la mayor incidencia de carcinoma medular descrita por otros autores<sup>6,7,9,17,18</sup> en los *BRCA-1*. Este subtipo medular exhibe características macro y microscópicas particulares. Se presenta como nódulo único de contorno liso, no infiltrativo (tumor circunscrito) y los criterios citohistológicos para su diagnóstico son muy estrictos. Por tanto, pueden existir distintos diagnósticos según diferentes patólogos y casos de carcinoma medular atípico ser interpretados como CDI de grado III, ya que ambos tipos tumorales comparten alto grado nuclear, tasa mitótica, márgenes compresivos, ausencia de componente intraductal y una mayor agresividad histológica, aunque parece que esto no conlleva peor evolución<sup>10</sup>.

En cuanto al componente no infiltrativo o *in situ* tumoral, muchas de las series afirman una menor frecuencia en los *BRCA-1* mutados y mayor en los *BRCA-2*, bien aislado o acompañando a tumores infiltrantes<sup>6,9,15,17</sup>.

Este hecho parece confirmarse en nuestros casos, con solo un CID con microinfiltración (12,5%) en *BRCA-1* y dos (uno puro y otro asociado a CDI) en los *BRCA-2* mutados (28,5%).

Los hallazgos IHQ concuerdan con los publicados<sup>16,19,20,21</sup> y definen los dos grupos tumorales. La mutación en *BRCA-1* tiene menor o nula expresión de receptores hormonales (ausencia de hormonodependencia) con alta proliferación, expresión variable de p53 y negatividad para c-erb-2. Los casos mutados en *BRCA-2* muestran inmunotinción variable preservando a veces la positividad para receptores hormonales<sup>16,19</sup>, además de expresar débilmente c-erb-2 (42%).

Ambos tipos son de crecimiento rápido, con alta proliferación tanto en óptica como en IHQ con MIB-1. Este rasgo difiere del cáncer de mama esporádico, neoplasia generalmente madura con escasas mitosis y MIB-1 entre 2-5%.

Tal vez asociado a la excesiva proliferación, se ha demostrado por citogenética<sup>5</sup> que la mutación *BRCA-1* conlleva mayor aneuploidía que los controles esporádicos así como una mayor angiogénesis<sup>22</sup>, ambas características de mayor agresividad tumoral. No obstante, no está demostrada una peor evolución de estas pacientes, muy al contrario, para algunos grupos el pronóstico es mejor en los *BRCA-1* mutados que en los casos esporádicos<sup>23</sup>.

No hay rasgos diferenciales macroscópicos entre los mutados y los esporádicos en cuanto a la forma infiltrativa predominante en ambos, la variabilidad de tamaño tumoral, la mayor unilateralidad y la localización más frecuente en cuadrantes externos. La edad de presentación es inferior a la de los carcinomas de mama-ovario en mujeres no portadoras.

En cuanto a los carcinomas mamarios del sexo masculino, los dos casos presentados son, moderadamente diferenciados, con expresión de receptores hormonales, p53 bajo y proliferación variable. Estos hallazgos coinciden con los publicados en otras series<sup>24</sup>, por lo que algunos autores sugieren incluso una patogenia y evolución<sup>25</sup> diferente a los femeninos. Este hecho no es compartido por otros, considerándolos similares en ambos sexos, aunque resaltan la expresión constante de receptores hormonales en los casos masculinos<sup>26</sup>.

Con respecto a los tumores ováricos existe uniformidad inmunomorfológicas. Son de estirpe epitelial, poco diferenciados, de alto grado citológico, elevada expresión de p53 y MIB-1 y de alta agresividad clínica. Estos datos coinciden con los publicados en la literatura donde se resalta sobre todo la sobreexpresión de la proteína mutada p53<sup>27,28</sup>. En alguno de estos estudios<sup>11,29</sup> se demuestra que la supervivencia y evolución de las pacientes con

mutación en *BRCA-1* son mejores que las no mutadas, hecho que deberá comprobarse con series más amplias.

Desde el punto de vista genético ambos genes se han relacionado con el ciclo celular y la reparación de ADN<sup>1,3</sup>. El gen *BRCA-1* sintetiza una proteína que parece intervenir en el control de la proliferación celular y la estabilidad genética, por ello su mutación provoca tumores con alto índice mitótico. El gen *BRCA-2* está relacionado además con una proteína tisular cuya alteración provoca una mala interacción celular con menor diferenciación histológica<sup>15,30-33</sup>. La oncogénesis podría además estar influenciada por la interacción<sup>4,34</sup> entre las proteínas sintetizadas por estos genes con las proteínas Rad-51 y p53.

No se ha podido demostrar una correlación genotípica-IHQ, que pueda ayudar a identificar los casos portadores en tejido. El anticuerpo anti-*BRCA-1* utilizado (AB1-MS110) es el mejor de los comercializados actualmente, tiñe en parafina, y la correcta valoración debe establecerse por la positividad nuclear. No obstante, en nuestra experiencia todos los casos (incluyendo controles y *BRCA-2*) son positivos en núcleo, o núcleo/citoplasma sin relación ni con la dilución ni con la recuperación antigénica. Son escasos los trabajos con este anticuerpo, y las valoraciones aleatorias<sup>35,36</sup>, por lo que no creemos que los resultados obtenidos sean valorables. Los anti-*BRCA-2* disponibles (AB-2) tiñen sólo en congelación por lo que no han sido utilizados en este estudio, realizado en muestras incluidas en parafina.

Los datos aportados con esta serie confirman que los carcinomas de uno y otro grupo *BRCA-1* y *2* mutados no son totalmente distintos en el fenotipo citohistológico e IHQ. Sin embargo, puede afirmarse que la mayoría de los casos con mutación en *BRCA-1* corresponde a tumores de mujeres más jóvenes, pobremente diferenciados, sin expresión de receptores hormonales, con alta reduplicación, a veces compartida con elevada expresión de p53 y sin positividad para *c-erb-2*. La mutación *BRCA-2* es menos característica, puede conservar receptores hormonales y *c-erb-2*, y sus distintos patrones morfo-IHQ recuerdan más a los carcinomas esporádicos.

No existe un marcador de identificación *a priori* ni por rasgos de morfología macro y microscópica ni por IHQ, a excepción de un grupo de portadoras de *BRCA-1*. Tal vez, trabajos posteriores amplíen el actual conocimiento, sobre todo si se cuenta con anticuerpos monoclonales específicos ante las dos mutaciones. Esto significaría poder identificar a las pacientes portadoras y proponerles un correcto estudio genético, tanto a ellas como a sus familias, para ulterior profilaxis.

## AGRADECIMIENTOS

A Trinidad Carrizosa y Alicia Barroso por las técnicas inmunohistoquímicas y moleculares. Al Banco de Tumores del CNIO por canalizar los casos de consulta.

## RESUMEN

El objetivo del trabajo ha sido el establecimiento del patrón morfo-IHQ de los carcinomas de mama y ovario familiares, asociados a mutación de los genes *BRCA-1* y *BRCA-2*.

Revisión óptica con tipificación y clasificación según grados de Bloom-Richardson de 19 casos de cáncer de mama y ovario familiares, 11 (8 tumores de mama y 3 ováricos) con mutación en *BRCA-1* y 8 (5 tumores mamaros en mujeres, 2 en hombres y 1 tumor ovárico) en *BRCA-2*. Se realiza estudio IHQ mediante variante ENVISION con recuperación antigénica por calor, que incluye tinción con anticuerpos mono y policlonales anti-receptores hormonales, *bcl-2*, *p53*, oncogén *c-erb-2*, proliferación (*MIB-1*) y *BRCA-1*, añadiendo CEA. Ca 19.9 y Ca 125 en los tumores ováricos.

En el grupo *BRCA-1* predomina el CDI mamario con escaso componente intraductal o *in situ* (CID), en edades jóvenes, de alto grado morfológico (III-II), con alta proliferación, baja expresión de *p53*, receptores hormonales y *c-erb-2* negativos. Tres son bilaterales y uno multifocal. En el grupo *BRCA-2* predominan los CDI con CID asociado con sólo un CLI, de grado II-III, de menor proliferación, expresión variable de receptores hormonales, baja expresión de *p53* y *c-erb-2* focalmente positivo; ninguno es bilateral ni multifocal. En ambas mutaciones predominan los tumores con márgenes infiltrativos (71 % en *BRCA-2* y 50 % en *BRCA-1*), sólo en un 25 % de los *BRCA-1* los nódulos están bien delimitados.

Los tumores ováricos de ambos grupos son poco diferenciados y agresivos con alta proliferación y expresión de *p53*.

En los carcinomas de mama asociados a mutación *BRCA-1* predominan los tumores poco diferenciados con alta proliferación, baja expresión de receptores hormonales y moderada de *p53*, con negatividad de *c-erb-2*. El grupo *BRCA-2* muestra un patrón más cambiante desde el punto de vista multifactorial considerado.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990;250:1684-9.
2. Easton DF, Bishop DT, Ford D, Crockford GP. Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1993;52:678-701.
3. Rebbeck TR, Couch FJ, Kant J, Calzone K, DeShano M, Peng Y, et al. Genetic heterogeneity in hereditary breast cancer: role of BRCA-1 and BRCA-2. *Am J Hum Genet* 1996;59:547-53.
4. Phillips KA. Immunophenotypic and pathologic differences between BRCA-1 and BRCA-2 hereditary breast cancers. *J Clin Oncol* 2000;18(Suppl):107-12.
5. Marcus JN, Watson P, Page DL, Narod SA, Lenoir GM, Tonin P, et al. Hereditary breast cancer: pathobiology, prognosis, and BRCA-1 and BRCA-2 gene linkage. *Cancer* 1996;77:697-709.
6. Marcus JN, Page DL, Watson P, Narod SA, Lenoir GM, Lynch HT. BRCA-1 and BRCA-2 Hereditary breast carcinoma phenotypes. *Cancer* 1997;80(Suppl):543-56.
7. Armes JE, Trute L, White D, Southey MC, Hammet F, Tesoriero A, et al. Distinct molecular pathogeneses of early-onset breast cancers in BRCA-1 and BRCA-2 mutation carriers: a population-based study. *Cancer Res* 1999;59:2011-7.
8. Lakhani SR, Jacquemier J, Sloane JP, Gusterson BA, Anderson TJ, Van de Vijver MJ, et al. Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA-1 and BRCA-2 mutations. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1138-45.
9. Eisinger F, Jacquemier J, Charpin C, Stoppa-Lyonnet D, Bressac de Paillerets B, Peyrat JP, et al. Mutations at BRCA-1: the medullary breast cancer revisited. *Cancer Res* 1998;58:1588-92.
10. Verhoog LC, Brekelmans CT, Seynaeve C, Van den Bosch LM, Dahmen G, Van Geel A, et al. Survival and tumour characteristics of breast-cancer patients with germline mutations of BRCA-1. *Lancet* 1998;351:316-21.
11. Rubin SC, Benjamin I, Behbakht K, Takahashi H, Morgan MA, Livolsi VA, et al. Clinical and pathological features of ovarian cancer in women with germ-line mutations of BRCA-1. *N Engl J Med* 1996;335:1413-6.
12. Osorio A, Barroso A, Martinez B, Cebrian A, San Roman JM, Lobo F, et al. Molecular analysis of the BRCA-1 and BRCA-2 genes in 32 breast and/or ovarian cancer Spanish families. *Br J Cancer* 2000;82:1266-70.
13. Bloom HG, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer. *Breast J Cancer* 1957;11: 359-77.
14. Lakhani SR, Gusterson BA, Jacquemier J, Sloane JP, Anderson TJ, Van de Vijver MJ, et al. The pathology of familial breast cancer: histological features in families not attributable to mutations in BRCA-1 or BRCA-2. *Clin cancer Res* 2000;6:782-9.
15. Breast Cancer Linkage Consortium. Pathology of familial cancer: differences between cancers in carriers of BRCA-1 or BRCA-2 mutations and sporadic cases. *Lancet* 1997; 349:1505-10.
16. Robson M, Rajan P, Rosen PP, Gilewski T, Hirschaut Y, Pressman P, et al. BRCA-associate breast cancer: absence of a characteristic immunophenotype. *Cancer Res* 1998;58:1839-42.
17. Armes JE, Matthew Egan AJ, Southey MC, Dite GS, McCredie MR, Giles GG, et al. The histological phenotypes of breast carcinoma occurring before age of 40 years in women with and without BRCA-1 and BRCA-2 germline mutations: a population-based study. *Cancer* 1998;83: 2335-45.
18. Shousha S. Medullary carcinoma of the breast and BRCA-1 mutation. *Histopathology* 2000;37:182-5.
19. Lynch BJ, Holden JA, Buys SS, Neuhausen SL, Gaffney DK. Pathobiologic characteristics of hereditary breast cancer. *Hum Pathol* 1998;29:1140-4.
20. Karp SE, Tonin PN, Begin LR, Martinez JJ, Zhang JC, Pollak MN, et al. Influence of BRCA-1 mutations on nuclear grade and estrogen receptor status of breast carcinoma in Ashkenazi Jewish women. *Cancer* 1997;80: 435-41.
21. Cortesi I, Turchetti D, Bertoni C, Bellei R, Mangone L, Vinceti M, et al. Comparison between genotype and phenotype identifies a high-risk population carrying BRCA-1 mutation. *Genes Chromosomes Cancer* 2000; 27:130-5.
22. Soares R, Eijk RV, Dias A, Botelho M, Costa C, Amendoeira I, et al. BRCA-1 mutation analysis in a portuguese population with early onset breast and/or ovarian cancer. *Disease Markers* 1999;15:93.
23. Verhoog, LC, Brekelmans CT, Seynaeve C, Dahmen G, Van Geel AN, Bartels CC, et al. Survival in hereditary breast cancer associated with germline mutations of BRCA-2. *J Clin Oncol* 1999;17:3396-402.
24. Clark JL, Nguyen PL, Jaszcz WB, Jatoi A, Niehans GA. Prognostic variables in male breast cancer. *Am Surg* 2000;66:502-11.
25. Pich A, Margaria E, Chiusa L. Bcl-2 expression in male breast carcinoma. *Virchows Arch* 1998;433:229-35.
26. Borgen PI, Senie RT, McKinnon WM, Rosen PP. Carcinomas of the male breast: analysis of prognosis compared with matched female patients. *Ann Surg Oncol* 1997;4:385-8.
27. Zweemer RP, Shaw PA, Verheijen RM, Ryan A, Berchuck A, Ponder BA, et al. Accumulation of p53 protein is frequent in ovarian cancers associated with BRCA-1 and BRCA-2 germline mutations. *J Clin Pathol* 1999;52: 372-5.
28. Zweemer RP, Verheijen RH, Menko FH, Gille JJ, Van Diest PJ, Coebergh JW, et al. Differences between hereditary and sporadic ovarian cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;82:151-3.
29. McGuire V, Whittemore AS, Norris R, Oakley-Girvan I. Survival in epithelial ovarian cancer patients with prior breast cancer. *Am J Epidemiol* 2000;152:528-32.
30. Schmitt FC, Reis Filho JS, Milanezi F, Soares R, Duarte F, Seixas C, et al. Patología del cancer de mama hereditario. *Rev Senología y Patol Mam* 2001;14:29-35.
31. Baiget M, Diez O, Campos B, Alonso MC. Bases moleculares del cancer de mama hereditario. *Rev Senología y Patol Mam* 2001;14:20-4.
32. Lancaster JM, Wooster R, Mangion J, Phelan CM, Cochran C, Gumbs C, et al. BRCA-2 mutations in primary breast and ovarian cancers. *Nat Genet* 1996;13: 238-40.
33. Wootter R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, et al. Localization of the breast cancer susceptibility gene, BRCA-2, to chromosome 13q12-13. *Science* 1994;265:2088-91.
34. Scully R, Chen J, Ochs RL, Keegan K, Hoekstra M, Feunteun J, et al. Dynamic changes of BRCA-1 subnuclear location and phosphorylation state are initiated by DNA damage. *Cell* 1997;90:425-35.
35. Lee WY, Jin YT, Chang TW, Lin PW, Su IJ. Immunolocalization of BRCA-1 protein in normal breast tissue and sporadic invasive ductal carcinomas: a correlation with other biological parameters. *Histopathology* 1999;34:106-12.
36. Wilson CA, Ramos L, Villaseñor MR, Anders KH, Press MF, Clarke K, et al. Localization of the human BRCA-1 and its loss in high-grade, non-inherited breast carcinomas. *Nature Genetics* 1999;21:236-49.