
Conceptos básicos en biología molecular del cáncer. Susceptibilidad genética

Basic concepts in the molecular biology of cancer. Genetic susceptibility

J. García-Foncillas, E. Bandrés, V. Catalán, F. García Amigot, N. Zabalegui

RESUMEN

En los últimos años se han producido cambios en la biología molecular que nos permiten optimizar el tratamiento de cáncer, minimizando los efectos secundarios, y actuar a nivel de la prevención a partir del estudio de los procesos biológicos que subyacen en la enfermedad. Uno de los aspectos más destacados se dirige a la capacidad con la que contamos actualmente de poder analizar el ADN y/o ARN fruto de los descubrimientos y progresos en la segunda mitad del siglo XX. Todas estas innovaciones tecnológicas y en el campo de la genética molecular preparan el camino para la comprensión y el análisis funcional que se deriva de la información contenida en el genoma humano. Asimismo el estudio de algunos de los múltiples eventos moleculares que acontecen en el proceso multifactorial del cáncer, permiten ofrecer una nueva visión de los factores pronósticos al tiempo que identifican individuos con una gran susceptibilidad de desarrollar determinados tipos de cáncer. Algunos de estos genes asociados a cáncer pueden alterarse como consecuencia de mutágenos endógenos, mutaciones a nivel de línea germinal, que ocurren durante la replicación celular y que pueden incrementar la inestabilidad genómica en células precancerosas. En la misma línea, los avances de la biotecnología ofrecen la posibilidad de contar con una visión amplia de un amplio espectro de eventos moleculares involucrados en el proceso neoplásico.

Palabras Clave: Biología Molecular. Genética. Cáncer. Susceptibilidad genética.

ABSTRACT

Profound changes brought about by discoveries in molecular biology may enable us in the future to treat cancer without causing late effects or to prevent cancer altogether. Even before that comes about, the age of molecular medicine has arrived. Molecular biology is the study of biological processes at the level of the molecule. A major aspect of molecular biology is molecular genetics, the science that deals with DNA and RNA. Most of the progress in molecular biology has been made in the second half of the 20th century. Each discovery or technological innovation has built on previous discoveries and paved the way for the next, culminating in the current effort to map, sequence, and understand the functions of the entire human genome. In the past 20 years, many pieces of the cancer puzzle have been found, showing us how the normal cellular control mechanisms go awry to cause cancer and setting the stage for genetic testing and disease treatment. Some cancer-associated genes may be altered as a consequence of endogenous mutagens, germ-line mutations, spontaneous mutations that occur during cell replication or increased genetic instability in precancerous cells. Recent advances in molecular biology and genetics have provided new tools and concepts for studying the causes of cancer.

Key words: Molecular biology. Genetics. Cancer. Genetic susceptibility.

ANALES Sis San Navarra 2000; 24 (Supl. 1): 31-52.

Laboratorio de Biotecnología. Área de Terapia Celular. Departamento de Oncología Clínica Universitaria. Universidad de Navarra

Correspondencia:

Jesús García-Foncillas
Laboratorio de Biotecnología
Departamento de Oncología
Clínica Universitaria
Avenida Pío XII, 36
31008 Pamplona

CONCEPTOS BÁSICOS EN BIOLOGÍA MOLECULAR

El ADN, localizado a nivel del núcleo de la célula, es una macromolécula de aspecto filamentosos formado por un gran número de desoxirribonucleótidos que constituyen las unidades estructurales básicas. Estos desoxirribonucleótidos están formados a su vez por una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosfato. Las bases nitrogenadas son las portadoras de la información necesaria para sintetizar las proteínas que la célula precisa en tanto que los grupos de azúcar y fosfato tienen un papel estructural. En el ADN esta información se encuentra codificada en forma de genes que se definen como las unidades elementales de información y que contienen los datos necesarios para la fabricación de una proteína. La información codificada en un gen es transmitida a una molécula intermedia, denominada ácido ribonucleico mensajero (ARNm), que es capaz de salir del núcleo y entrar en contacto con los ribosomas para iniciar la síntesis proteica. La transferencia de información genética de ADN a ARNm se denomina transcripción, el paso de ARNm a proteína traducción y el proceso global que engloba los dos previos expresión génica. El ARNm antes de salir del núcleo sufre una maduración durante la cual determinados fragmentos no útiles son eliminados en un fenómeno denominado "corte y empalme" o *splicing*. La transcripción génica está regulada por determinadas proteínas, denominadas factores de transcripción, que son capaces de unirse a unas regiones del ADN que anteceden a la secuencia de un gen y que se llaman regiones promotoras. La unión de factores de transcripción-ADN a nivel de regiones promotoras pone en marcha la expresión de un gen.

El ciclo vital de la célula está formado por cuatro etapas perfectamente diferenciadas. Normalmente la célula se encuentra en fase G1. En esta fase la célula realiza sus funciones fisiológicas y es metabólicamente muy activa. Cuando se va a dividir entra en un proceso que está constituido por las otras tres fases de su ciclo vital o celular. La primera etapa de esta división celular es la fase S o fase de síntesis.

Durante este periodo se sintetiza una copia del ADN. Al final de este periodo la célula todavía no dividida cuenta con dos copias de su ADN. Una vez completada la duplicación del ADN, proceso denominado replicación, entra en la siguiente etapa o fase G2 (intervalo 2). En este periodo se preparan los mecanismos necesarios para acometer la fragmentación celular que se desarrollará en el siguiente paso o fase de mitosis (fase M). Una vez realizada la separación de ambas células hijas cada una con su correspondiente copia de ADN, estas vuelven otra vez a fase G0 para desarrollar su actividad fisiológica concreta.

Este proceso de replicación es controlado por un grupo de proteínas que tienen por finalidad supervisar el ciclo celular de manera que una célula no entra en una nueva fase hasta no haberse superado unas comprobaciones necesarias previas denominadas puntos de chequeo (*check-point*). La finalidad de esta supervisión radica en que la célula sólo se divida cuando sea preciso y respondiendo siempre a niveles de control más elevados a nivel supracelular. Asimismo, estas comprobaciones son necesarias para asegurar que las copias del ADN que se generan sean iguales a la molécula progenitora evitando la introducción de fallos o errores en el proceso de duplicación o replicación.

Una de las proteínas más importantes en este proceso de control lo constituye la proteína p53 codificada por el gen p53. El ADN es una macromolécula con capacidad de reparación. Durante la vida de una célula puede verse sometida a agresiones externas (tóxicos, agentes infecciosos, radiaciones, ...) que pueden dañar el ADN. La proteína p53 actúa vigilando continuamente el ADN y detectando alteraciones a nivel de genes que pueden traducirse en proteínas con estructura y función alterada. Si el daño producido por el agente externo no es importante, el p53 induce mecanismos de reparación resolviendo las alteraciones observadas. Sin embargo, puede ocurrir que la lesión sea tan importante que no pueda ser reparada y en tal caso la proteína p53 pone en marcha un proceso de muerte celular activa o apoptosis. Este fenómeno de apoptosis se diferencia claramente del proceso normal de

necrosis o muerte celular en que en el primero la célula participa de forma activa en su destrucción constituyendo lo que algunos autores han denominado "suicidio celular", evitando de esta forma transmitir una información deteriorada contenida en el ADN a las células hijas.

PROCESO DE TRANSFORMACIÓN NEOPLÁSICA

El control de la proliferación celular expuesto en el epígrafe previo puede alterarse en algunos de los puntos de chequeo o comprobación del ciclo celular provocando una división desmesurada. Las causas que pueden ocasionar esta alteración en las restricciones que limitan la división celular son en la mayoría de los casos adquiridas de forma que en un momento de la vida una lesión genética importante con un fallo en los mecanismo de reparación puede desencadenar un proceso neoplásico. El proceso de carcinogénesis implica, no obstante, varios eventos. Normalmente, existe un primer suceso, denominado iniciación, donde un agente externo o un error endógeno coloca a la célula en una situación de mayor susceptibilidad o predisposición para transformarse en neoplásica. En un segundo momento se produce la conversión en célula cancerosa de una célula previamente susceptible. En el campo de la carcinogénesis por agentes externos químicos, el dimetilbenzatraccina puede hacer más sensible o susceptible a una célula produciendo un fenómeno de iniciación. No obstante, se necesita la intervención de otro producto, el 12-O-tetradecanoilforbol, para producir la promoción o transformación neoplásica de una célula ya iniciada.

Los genes que codifican las proteínas implicadas en la regulación de la división celular parecen ser los responsables de la transformación neoplásica en sus primeras fases. Los agentes exógenos o errores endógenos pueden inducir la expresión de genes cuyas proteínas activan la entrada de la célula en división celular. Estos genes se llaman oncogenes promotores, porque desencadenan una proliferación descontrolada dando lugar a una neoplasia. Entre éstos destacan el myc, jun, fos, ras, etc. Asimismo, estos mismos factores exóge-

nos o endógenos pueden simultáneamente bloquear la expresión o dañar otros genes cuyas proteínas tienen una función de inhibición de la proliferación provocando ambos mecanismos conjuntamente una pérdida de las restricciones de la división y un aumento de los factores promitóticos. Este segundo grupo de genes con actividad de supervisión y control se denominan oncogenes supresores por su papel regulador de la proliferación evitando el desarrollo de neoplasias. En este grupo el más importante es el gen p53 que actúa como "el guardian de la célula" por excelencia. Estos procesos producen por tanto un aumento muy significativo de proteínas derivadas de oncogenes promotores que tendrían que encontrarse en niveles muy reducidos o nulos y a la vez niveles bajos o alteraciones funcionales de proteínas supresoras (resultado de la traducción de oncogenes supresores).

La carcinogénesis conlleva a su vez una pérdida del reconocimiento de las células tumorales como anómalas no evidenciándose una adecuada respuesta inmunitaria. Se ha comprobado que tanto las proteínas que se encuentran anormalmente incrementadas como aquellas anómalas pueden ser incorporadas y presentadas por los complejos de histocompatibilidad tipo 1, actuar como neoantígenos y desencadenar una respuesta inmunológica. Estos antígenos tumorales presentados por los complejos de histocompatibilidad tipo 1 (MHC-1), en la superficie de las células tumorales activan a los linfocitos T cooperadores o CD4+ (T helper) provocando la liberación de citoquinas que estimulan el crecimiento y maduración de los linfocitos T citotóxicos o CD8+. Al mismo tiempo, estos linfocitos citotóxicos se unen a través de su receptor específico (TCR, *T-cell receptor*) a los antígenos presentados por los MHC-1 en la superficie de las células neoplásicas. Sin embargo, esto no es suficiente para desencadenar una respuesta de los CD8+ frente a la célula cancerosa. Hoy sabemos que estos linfocitos CD8+ precisan una co-estimulación o segundo estímulo simultáneo: la célula tumoral tiene que expresar a nivel de membrana una proteína denominada B7 capaz de interactuar a nivel de la membrana linfocitaria con el CD28 o con el

CTLA-4 y completar el estímulo originado por el TCR desencadenando por tanto la respuesta citotóxica.

Sin embargo, en la célula tumoral se ha evidenciado una disminución o ausencia de la expresión de los MHC-1 y/o de la proteína B7 impidiendo por tanto que estas células presenten antígenos que pudieran desarrollar una respuesta inmunitaria o impidiendo completar una reacción citotóxica al faltar la co-estimulación de la proteína CD28 o CTL-4 necesaria para ello.

Los puntos de control del ciclo celular son rutas reguladoras que controlan el orden y el tiempo de transición del ciclo celular, y aseguran que etapas críticas, como la replicación del DNA y la segregación de cromosomas, sean completados con alta fidelidad. Los puntos de control responden al daño con parada del ciclo celular para que la célula disponga de tiempo para la reparación e induciendo la transcripción de genes que faciliten la reparación. La pérdida de puntos de control da como resultado inestabilidad genómica y han sido implicados en la evolución de células normales en células cancerosas.

Se conocen, como ya hemos adelantado, tres estadios donde operan los puntos de control en el ciclo celular:

– Al final de la fase G1 donde el punto de control llamado punto de control de restricción R asegura que la célula antes de entrar en la fase S, tenga un tamaño adecuado. Además, la célula detecta si las condiciones intracelulares y extracelulares son idóneas (tamaño celular, presencia de nutrientes y de factores de crecimiento) para seguir adelante y comenzar la síntesis de DNA. Es el punto de control más importante.

– En la fase G2 existe un segundo punto de control llamado punto de control G2-M. En este punto la célula detecta antes de entrar en mitosis si la replicación del DNA se ha completado correctamente y si el tamaño es el adecuado para la duplicación en dos células hijas.

– Finalmente, en la mitosis existe el punto de control M. Este punto de control se localiza en la metafase y comprueba, antes de seguir adelante con la mitosis celular, que los cromosomas se han alineado correctamente sobre el huso mitótico.

REGULACIÓN DEL CICLO CELULAR

El ciclo celular es regulado por la formación secuencial, activación e inactivación de una serie de moléculas reguladoras del ciclo celular, que incluyen un grupo de subunidades reguladoras llamadas ciclinas y otro grupo de subunidades catalíticas denominadas quinasas dependientes de ciclina (CDK).

La fosforilación de proteínas implicadas en los procesos que tienen lugar a lo largo del ciclo celular, como la síntesis de DNA y la mitosis, la llevan a cabo un conjunto de proteínas quinasa, que catalizan la transferencia de grupos fosfato desde el ATP a la proteína. Estas proteínas quinasa son las CDK, que son activas enzimáticamente cuando se unen a un segundo grupo de proteínas llamadas ciclinas. Diferentes ciclinas se unen específicamente a diferentes CDK para formar una serie de complejos en fases específicas del ciclo celular y conducir a la célula de un estado del ciclo celular a otro.

Ciclinas

Las ciclinas son una familia de proteínas que, como indica su nombre, son sintetizadas y destruidas durante cada ciclo celular. Hasta la fecha se han descrito las siguientes ciclinas: A, B1, B2, C, D1, D2, D3, E, F, G1, G2, H, I, K, T1 y T2. Todas ellas contienen una región común conocida como “cyclin box”, de aproximadamente 150 aminoácidos, que es un dominio relativamente conservado y es responsable de la unión y activación de las CDK. Mutaciones en esta región inhiben tanto la unión como la activación.

Las ciclinas C, D y E (o ciclinas G1) son proteínas de vida corta que funcionan principalmente durante la fase G1 y en la transición de G1-S, siendo destruidas por la vía de la ubiquitina. La vía de la ubiquitina es ATP dependiente e implica la unión covalente de moléculas de ubiquitina a los sustratos diana. Las proteínas modificadas de esta manera son reconocidas y degradadas por el proteosoma. La proteólisis mediada por la proteína ubiquitina juega un papel crucial en el control del ciclo celular, ya que la irreversibilidad de la proteólisis provee de una fuerte direccionali-

dad al ciclo celular, forzando a seguir hacia delante en varias etapas críticas.

La síntesis de ciclina D (D1, D2, D3), como se verá más adelante, está inducida por factores de crecimiento. Cuando se expresa constantemente, sin la necesidad de factores de crecimiento, las células tienen tendencia a mantenerse en un ciclo de división constante. Se le considera como un oncogén; aunque por sí misma no es capaz de transformar una célula normal en cancerosa, colabora con otros oncogenes.

Las ciclinas A y B son ciclinas mitóticas que permanecen estables durante la interfase, pero son rápidamente proteolizadas durante la mitosis, por una vía dependiente de la ubiquitina. Se ha observado que mutaciones en la ciclina A producen la inhibición de la iniciación de la mitosis, parando las células en la fase G2.

En la actualidad se dispone de poca información acerca de las ciclinas F y G, recientemente descritas, aunque parece ser que la ciclina F actúa en la transición de la fase G2 a la fase M, y la ciclina G actúa en respuesta al daño del DNA. La ciclina H, se sabe que forma complejos con la CDK7, para producir una enzima conocida como quinasa activante dependiente de ciclina que está implicada en la activación de las quinasas CDC2 y CDK2.

Quinasas dependientes de ciclina (CDK)

Las CDK son una familia de proteínas quinasas que se unen a ciclinas específicas y son activadas por ellas.

Hasta la fecha, se han descrito al menos nueve quinasas dependientes de ciclinas: CDC2 (también llamada CDK1, p34 o MPF, -factor promotor de la fase M-), CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 y CDK9.

Las CDK4, CDK5 y CDK6 forman complejos con las ciclinas de la familia D y funcionan durante la fase G0/G1 del ciclo. Según otros autores, parece ser que se unen principalmente a CDK4, durante un periodo muy concreto, el final de la fase G1 y el inicio de la fase S. Una de las funciones de los complejos ciclina D/CDK4 es fosforilar la proteína del retinoblastoma (Rb) y

activar así la expresión de genes necesarios para la entrada en la fase S.

La CDK2 puede unirse también a miembros de la familia de la ciclina D, pero más comúnmente se asocia con las ciclinas A y E y están implicados en el inicio de la fase S, es decir, en la replicación del DNA. Así el complejo ciclina A/CDK2 parece tener un papel en el control de la elongación de la síntesis de DNA.

Como se menciona anteriormente, CDK7 se encuentra asociada con la ciclina H y tiene la capacidad de fosforilar tanto CDC2 como CDK2.

La CDC2, se une a las ciclinas mitóticas A y B. Los complejos ciclinas B y CDC2 son los más importantes. Son rápidamente activados durante la mitosis y se asocian al huso acromático en la metafase. La ciclina B se degrada en la transición de la metafase a la anafase causando la inactivación de la CDC2. Esto parece ser necesario para la finalización de la mitosis, ya que se ha visto que mutaciones en las ciclinas B, que evitan su degradación, bloquean las células en esta etapa del ciclo celular. Parece ser que el punto de control M controla la degradación de la ciclina B1.

No todas las ciclinas y CDK funcionan como reguladoras del ciclo celular. Otras funciones que se han descrito para las ciclinas y CDK han sido la regulación de la transcripción, reparación del DNA, diferenciación y apoptosis. Por ejemplo, diferentes complejos ciclina/CDK, como ciclina C/CDK8, ciclina T/CDK y ciclina H/CDK7, se sabe que son componentes de la maquinaria basal de transcripción. Por otro lado, la ciclina K forma un complejo con la RNA polimerasa II a través de la activación de una CDK no identificada.

Inhibidores de las quinasas dependientes de ciclina

Además de esta serie de reguladores positivos del ciclo celular (ciclinas y CDK) existe una familia de reguladores negativos denominados inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas, que bloquean la actividad de uno o varios complejos ciclina-CDK.

En las células animales, se dividen en dos familias distintas, que difieren en estructura, mecanismo de acción y especificidad: la familia KIP/CIP y la familia INK4. Estas proteínas inhibitoras de las CDK están implicadas en la parada del ciclo celular en respuesta a varias señales antiproliferativas como privación de factores de crecimiento, citoquinas, daño en el DNA celular, entre otras.

La familia KIP/CIP incluye tres proteínas estructuralmente relacionadas entre sí, p21, p27 y p57, y presenta una más amplia especificidad que la familia INK4, ya que sus miembros interactúan e inhiben la actividad quinasa de los complejos ciclina E/CDK2, ciclina D/CDK4, ciclina D/CDK6, ciclina A/CDK2 y ciclina B/CDC2 y actúan a lo largo del ciclo celular.

La proteína p21 (también llamada Cip 1, WAF1) fue el primer miembro aislado de la familia. Diferentes investigadores aislaron la p21 gracias a su capacidad para interactuar con CDK2, aunque puede inhibir otros complejos ciclinas conteniendo otras CDK, como la CDK4. Además, p21 también puede unirse al antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), una subunidad de la DNA polimerasa, y así inhibir directamente la síntesis de DNA.

El gen p21 fue clonado como un gen inducido por la proteína supresora de tumores p53. Cuando el DNA es dañado, se provoca un incremento de la concentración y de la actividad de la proteína p53. Cuando se activa la proteína p53 estimula la transcripción de un gen que codifica para la proteína p21. La proteína p21 bloquea el ciclo celular en la transición G1-S, uniéndose a complejos ciclina-CDK (ciclina D/CDK4 y ciclina E/CDK2), responsables de conducir a la célula a la fase S. Esta parada del ciclo celular permite a la célula reparar el DNA dañado antes de replicarse.

El gen p21, fue aislado como un gen que se acumula en células próximas a la senescencia, sugiriendo que esta proteína puede jugar un papel importante en este proceso celular.

La proteína p27 media señales inhibitoras del crecimiento como la del factor de crecimiento transformante b (TGF-b) y la inhibición por contacto. También se ha demostrado que ratones que carecen de

esta proteína, son anormalmente grandes, con hiperplasia en diferentes órganos.

La proteína p57, a diferencia de la expresión ubicua de las proteínas p21 y p27, tiene una ruta de expresión tejido-específica, lo que sugiere un papel especializado en el control de ciclo celular.

La familia INK4 incluye cinco proteínas, p14, p15 (INK4B), p16 (INK4A), p18 (INK4C) y p19 (INK4D), los cuales inhiben específicamente los complejos de ciclina D/CDK4 y D/CDK6 que están implicados en el control de la fase G1. A diferencia de las proteínas de la familia KIP/CIP, que se unen a complejos ciclina/CDK, la familia INK4 se une a subunidades monoméricas y su mecanismo de acción consiste en competir con las ciclinas por las subunidades catalíticas CDK.

La proteína p16 parece jugar un único papel en la regulación del estatus de la proteína Rb. Al igual que con el gen Rb, el gen p16 está alterado en muchos tumores humanos. A pesar de la fuerte homología que existe entre las proteínas p16 y p15, éstas parecen desempeñar diferentes funciones biológicas. Así, el nivel de la proteína p15, no parece estar afectado por la proteína Rb, aunque sí es inducido por un factor inhibidor del crecimiento como es el TGF-b. Las proteínas p18 y p19 también responden a estímulos extracelulares. Así, algunos tipos de células tratadas con el interferon se altera la expresión de la p18. Además, la interleuquina-6 induce la expresión de las proteínas p16 y p18 en células hematopoyéticas, y se correlaciona con parada del ciclo celular en G1 y diferenciación terminal.

A parte de los inhibidores de quinasas dependientes de ciclina, existen otros reguladores negativos del ciclo celular que son los formados por los productos de los genes supresores de tumores TP53 y Rb que pueden interactuar y modular las actividades de los complejos ciclina/CDK.

ONCOPROTEÍNAS CITOPASMÁTICAS TRANSMISORAS DE SEÑALES

En esencia, únicamente hay dos mecanismos bioquímicos por los que los proto-oncogenes citoplasmáticos actúan. Uno de los mecanismos implica la fosforilación de

proteínas en residuos de serina, treonina o tirosina. Diversas oncoproteínas de esta categoría, denominadas quinasas, transfieren grupos fosfato de la molécula donadora ATP a los aminoácidos mencionados en la proteína receptora. La fosforilación de proteínas tiene dos funciones fundamentales en transducción de señales. En primer lugar, puede cambiar la conformación y, como consecuencia, provocar un incremento en la actividad enzimática de la proteína fosforilada. En segundo lugar, la fosforilación de los residuos de tirosina genera sitios de reconocimiento para proteínas señalizadoras. En cualquier caso la fosforilación contribuye a la transmisión y amplificación de la señal mitogénica.

El segundo mecanismo por el que los proto-oncogenes transmiten la señal implica la actividad enzimática GTPasa. Las proteínas que se unen a GTP actúan como interruptores moleculares y se denominan proteínas G. La unión de GTP induce un cambio conformacional que mantiene la proteína G en un estado activo, capaz de transmitir la señal mediante la interacción con proteínas efectoras. La hidrólisis del GTP a GDP, catalizada por la actividad GTPasa intrínseca, devuelve la proteína G a un estado inactivo. Existen reguladores positivos que promueven la transición de la proteína G a su estado activo, unida a GTP, a través de una actividad intercambiadora de nucleótidos, y reguladores negativos o efectores que devuelven la proteína G a su estado inactivo, unida a GDP, mediante la estimulación de la actividad GTPasa intrínseca.

Proteínas con actividad GTPasa

El papel desempeñado por las proteínas con actividad GTPasa en tumorigénesis fue puesto de manifiesto gracias al descubrimiento de los oncogenes de la familia ras que codifican una forma previamente desconocida de GTPasas monoméricas pequeñas. Se han identificado tres alelos de ras, denominados H-ras, K-ras y N-ras, por su presencia en virus con actividad transformante y por ensayos de transfección de DNA. La capacidad de unir nucleótidos de guanina de las proteínas Ras fue una de las primeras actividades bioquímicas descritas

para el producto de un oncogén. El descubrimiento de una forma activada del gen ras en líneas de carcinoma de vejiga humano significó el hallazgo del primer oncogén humano, y la mutación puntual del aminoácido glicina en posición 12 por valina fue la primera mutación identificada en un oncogén humano. Más importante aún, la activación de uno de los tres genes ras es la mutación dominante más común encontrada en cánceres humanos. Este hecho refleja la crítica función que juega ras en la transducción de la señal mitogénica en numerosos tipos celulares y lo convierte en uno de los oncogenes mejor estudiados.

Ras pertenece a la conocida como superfamilia de proteínas Ras, cuyos miembros regulan numerosos procesos celulares, incluida la señalización mitogénica (Ras y proteínas relacionadas), la organización del citoesqueleto (Rho, Rac y Cdc42), funciones nucleares (Ran) y el tráfico de membranas y proteínas (Rab).

Los miembros de la familia de proteínas Ras son modificados postraduccionalmente mediante la unión de un lípido isoprenoide, el radical farnesilo, que las ancla a la cara interna de la membrana plasmática. La asociación a la membrana es esencial para la función de las proteínas Ras. Ciertos dominios de estas proteínas son homólogos de la subunidad implicada en la unión de nucleótidos de guanina en las proteínas G heterotriméricas. De hecho, las proteínas de la familia Ras se unen a nucleótidos de guanina (GTP y GDP). La capacidad de las proteínas Ras para unirse a este tipo de nucleótidos indica que funcionan de una manera semejante a otras proteínas G, y que por lo tanto se encuentran en un equilibrio entre dos conformaciones: una activa, unida a GTP, y una inactiva, unida a GDP.

En los últimos tiempos se ha elucidado una gran parte de los componentes de las vías de transducción de señales y se ha situado a las proteínas de la familia Ras como reguladores cruciales de los procesos que parten de los receptores de factores de crecimiento y controlan la proliferación y diferenciación celular. La activación de Ras en respuesta a la estimulación de los receptores de factores de crecimiento está mediada por la unión de la proteína adaptadora

Grb2, cuyo dominio SH2 reconoce residuos de tirosina fosforilados en el receptor. A su vez, Grb2 interacciona a través de sus dominios SH3 con el factor intercambiador de nucleótidos de guanina (*Guanine nucleotide Exchange Factor*, GEF) Sos, localizándolo en la membrana plasmática, donde se encuentra situado su sustrato Ras. De esta manera, Sos puede estimular el intercambio de GDP por GTP en Ras, lo que lleva a Ras desde su forma inactiva a su forma activa capaz de interactuar con diversas moléculas efectoras/sustratos. Por el contrario, la inactivación de Ras está mediada en parte por su actividad GTPasa intrínseca. Normalmente esta actividad es baja, pero puede ser estimulada por una proteína activadora de GTPasa, (*GTPase Activating Protein*, GAP), que convierte la forma activa de Ras unida a GTP en la forma inactiva unida a GDP. GAP también contiene un dominio SH2 por el que interacciona con los receptores activados localizándose en la membrana plasmática, lo que permite la regulación negativa de Ras.

Los procesos de activación e inactivación de Ras están exquisitamente orquestados. La conversión de Ras a su forma unida a GTP le permite interactuar con otras proteínas que funcionan como efectores. Un efector de Ras es la serina treonina quinasa Raf. La activación de Ras promueve su interacción con Raf y localiza a esta última en la membrana, donde es activada y ejercita su actividad. La proteína Raf así activada fosforila y activa MEK, que es una tirosina treonina quinasa. MEK a su vez fosforila las proteínas ERK que son serina treonina quinasas. Las proteínas ERK fosforilan entonces varias proteínas, entre las que cabe destacar el factor de transcripción Elk-135. Esta cascada de señalización se conoce como la ruta de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (*Mitogen Activated Protein kinases*, MAP). La respuesta celular provocada por esta ruta de señalización incluye el incremento en la transcripción de genes inmediatamente tempranos, como fos, que a su vez regulan la expresión de genes cuyos productos controlan la progresión en el ciclo celular, lo que finalmente da lugar a la síntesis de ADN y a la división celular.

Además de Raf la transformación celular inducida por formas oncogénicas de

Ras también requiere la actividad de los miembros de la superfamilia de proteínas Ras, Rho y Rac. Estas proteínas están implicadas en el reordenamiento del citoesqueleto de actina y regulan los cambios morfológicos asociados con la transformación celular inducida por el oncogén ras. Los oncogenes ras se han identificado en diversos tumores humanos. Las formas oncogénicas de ras difieren de sus formas normales por mutaciones que resultan en la sustitución de aminoácidos localizados en las posiciones 12, 13, 59 y 61 en el dominio de unión a GDP/GTP de la proteína. Estas oncoproteínas Ras están fijadas en su forma activa unida a GTP a través de un elevado intercambio de GDP por GTP o a través de la pérdida de la actividad GTPasa intrínseca.

JUN, FOS Y EL COMPLEJO TRANSCRIPCIONAL AP-1

Los genes jun y fos fueron identificados en un principio como los oncogenes v-jun y v-fos, presentes en el genoma del virus del sarcoma aviar 17 y de los virus FBJ y FBR, que producen osteosarcomas en ratón, respectivamente. Los homólogos celulares de ambos oncogenes codifican proteínas que son factores de transcripción y dimerizan para formar el complejo de transcripción denominado AP-1 (*Activating Protein-1*). Cada uno de ellos se engloba en una familia de proteínas con actividad transcripcional más amplia: la familia Jun, formada por c-Jun, JunB y JunD; y la familia Fos, formada por c-Fos, FosB, Fra-1 y Fra-2. El factor AP-1 puede estar compuesto por homodímeros formados por dos miembros de la familia Jun o por heterodímeros entre un miembro de la familia Jun y un miembro de la familia Fos. No se forman homodímeros entre miembros de la familia Fos. AP-1 es un factor de transcripción que regula la expresión de genes inducidos por factores de crecimiento y promotores tumorales, como los ésteres de forbol. El complejo AP-1 se une a la secuencia de ADN TGACTCA desde donde regula la transcripción de los genes adyacentes. Se conocen numerosos genes regulados por AP-1 fundamentales para la proliferación y la diferenciación celular, entre ellos los propios genes jun y fos. Las pro-

teínas Fos y Jun presentan claras homología estructural, como son el dominio de unión al ADN y el dominio encargado de la actividad transcripcional. El dominio de unión al ADN presenta dos subregiones, una rica en aminoácidos básicos, responsable de la unión al ADN, y otra responsable de la dimerización, denominada cremallera de leucinas.

La forma viral oncogénica de la proteína Jun difiere de la forma celular normal, además de por diversas mutaciones puntuales, por la delección de una pequeña región reguladora en el dominio aminoterminal responsable de la actividad transcripcional. v-Fos y c-Fos también difieren por ciertas sustituciones y por la delección de 50 aminoácidos en la región carboxiterminal de la oncoproteína, que no afecta su capacidad para heterodimerizar y unirse al ADN.

La actividad biológica de las proteínas Jun y Fos está regulada por fosforilación. En el caso de Jun, la fosforilación de dos serinas situadas en la región aminoterminal, junto a la región d, induce un incremento de su actividad transcripcional. Esta fosforilación está mediada por la serina/treonina quinasa JNK (*Jun N-terminal Kinase*), que interacciona con Jun precisamente en la región d, en respuesta a distintos estímulos, como factores de crecimiento, citoquinas inflamatorias y señales de estrés. La proteína Fos también es activada por fosforilación por otras quinasas activadas por factores de crecimiento, como las ERKs. Las alteraciones que presentan las formas oncogénicas de estas proteínas impiden su regulación e incrementan su nivel de expresión, dando como resultado una actividad transcripcional permanente.

LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN MYC Y MYB

El gen *myc* fue inicialmente identificado como un oncogén del virus de la mielocitometosis aviar. Posteriores estudios mostraron la existencia de una familia de proto-oncogenes con actividad transcripcional compuesta por tres miembros: c-*myc*, n-*myc* y l-*myc*, que son frecuentemente sobreexpresados en numerosos cánceres

humanos. Esta sobreexpresión se observa en neuroblastomas (n-*myc*), carcinomas microcíticos de pulmón (n-*myc* y l-*myc*), carcinomas de mama, estómago, pulmón y colon, neuroblastomas y glioblastomas (c-*myc*), como consecuencia de amplificaciones; y en los linfomas de Burkitt (c-*myc*), como consecuencia de translocaciones. En células en cultivo, la sobreexpresión de c-*myc* da lugar a una inhibición de la diferenciación, una mayor sensibilidad a factores de crecimiento y una aceleración de la proliferación. Estudios tanto en cultivos celulares como en animales muestran que existe una cooperación oncogénica entre c-*myc* y Ha-ras activado, lo que indica que ninguno de los oncogenes es totalmente oncogénico y que afectan distintos aspectos del control de la proliferación celular. Además de estar activado en tumores, C-MYC es un componente esencial de los mecanismos de señalización que median la transformación por distintas oncoproteínas, como bcr-abl, el receptor de CSF-1 y Ras. Se han detectado numerosas mutaciones puntuales en el dominio de activación transcripcional de c-*myc* en la zona implicada en las translocaciones en linfomas de Burkitt y otros linfomas relacionados con el SIDA, comparables con las mutaciones encontradas en el oncogén v-*myc*. Aunque estas mutaciones pueden afectar la actividad transcripcional de c-*myc*, son mucho menos importantes que la expresión alterada de c-*myc* que provocan las alteraciones genéticas descritas. De modo que, a diferencia de lo que ocurre con otros oncogenes, es la inapropiada regulación de la expresión de la proteína *myc*, más que mutaciones en la misma, lo que contribuye a la tumorigénesis. El nivel de expresión de c-*myc* se encuentra cuidadosamente regulado: su nivel de expresión refleja el estado de proliferación de la célula. Dicha expresión se induce rápidamente a nivel transcripcional tras la estimulación con factores de crecimiento y es casi inexistente en las células quiescentes. Durante la diferenciación, los niveles de expresión de c-*myc* decrecen, y la bajada forzada de su expresión con oligonucleótidos antisentido inhibe la proliferación e induce la diferenciación.

El producto del proto-oncogén c-*myc* se localiza en el núcleo donde interacciona

con diversas proteínas a través de varios motivos de dimerización. C-MYC posee varios dominios: un dominio compuesto por aminoácidos básicos y otro denominado de hélice-bucle-hélice, implicados en unión a ADN, y otro dominio de cremallera de leucinas por el que interacciona con Max, otro miembro de la familia MYC de proteínas reguladoras de la transcripción. Esta familia incluye también a las proteínas MAD y MXI. Los heterodímeros MYC-MAX son activadores de la transcripción y son necesarios para la oncogénesis. También se pueden formar dímeros MAX-MAX, MAD-MAX y MIX-MAX, pero éstos funcionan como represores transcripcionales opuestos a la actividad de los dímeros MYC-MAX. Todos estos dímeros interactúan con la secuencia de ADN conocida como caja E, GAGCTC, a través de la región básica de c-Myc. El nivel de transcripción de los genes regulados por C-MYC depende, por tanto, de las cantidades relativas de los distintos heterodímeros presentes en la célula, lo que explica los potentes efectos que la sobreexpresión de C-MYC puede ejercer sobre las células.

C-MYC tiene efectos llamativos tanto en la progresión por el ciclo celular, como en apoptosis. La activación del proto-oncogén c-myc en las células da lugar a su reentrada en el ciclo celular en la ausencia de factores de crecimiento, y su expresión en células crecidas con bajos niveles de nutrientes puede inducir apoptosis. Los genes regulados por C-MYC implicados en estos efectos y en la transformación celular no son totalmente conocidos. Sin embargo, diversos estudios indican que C-MYC regula la expresión del factor de transcripción E2F y de la fosfatasa responsable de la activación de las ciclinas Cdc, que están implicados en la regulación del ciclo celular. Así mismo, C-MYC regula la expresión de los genes *cad* y *odc* que son componentes necesarios del proceso de síntesis de ADN. Así pues, puede concluirse que los potentes efectos de MYC observados sobre la proliferación se deben a un efecto combinado sobre el crecimiento celular y la división celular, en concreto durante la transición desde G0/G1 a S en el ciclo celular.

El oncogén v-myb está presente en dos retrovirus que producen leucemias en aves,

el virus de la mieloblastosis aviar, AMV, y el virus E. La expresión de la forma celular normal, el proto-oncogén c-myb, se restringe a células hematopoyéticas inmaduras proliferativas en el epitelio del colon y en células neuroectodérmicas y de neuroblastoma. Sin embargo, se ha observado la expresión de c-myb en un 64% de carcinomas de mama y en algunos carcinomas de ovario. Por otro lado, se ha visto la amplificación de c-myb en leucemias, carcinomas de colon y melanomas. c-myc codifica un factor de transcripción que parece regular la expresión de genes relacionados con la proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas. La protooncoproteína C-MYB, a través de un dominio rico en triptófanos, reconoce secuencias de ADN con el motivo (C/T)AAC(G/T)G. No se conoce mucho sobre los genes cuya regulación está modulada por C-MYB, entre los que se encuentra el propio c-myb, pero, como en el caso de c-myc, su expresión está relacionada con la progresión durante las fases G1 y S del ciclo celular y la bajada en su expresión con la diferenciación celular. v-myc y diversas formas oncogénicas de c-myc mutadas codifican proteínas con una elevada actividad transcripcional, más aún la sobreexpresión de c-myb también es oncogénica.

En conclusión, la hipótesis de que los oncogenes nucleares juegan un papel central en los acontecimientos implicados en la proliferación celular concuerda con el hecho de que sus formas celulares normales se expresan normalmente durante la proliferación, y tanto su ARN mensajero como sus proteínas tienen una vida media muy corta. Por lo tanto, los cambios en la transcripción de estos genes dan lugar a rápidas fluctuaciones en los niveles de ARNm y proteína. La expresión de c-fos, c-jun, c-myc y c-myb es insignificante en células quiescentes o durante su diferenciación terminal. Cuando las células son estimuladas con suero o factores de crecimiento para entrar en la fase G1 del ciclo, se produce un incremento transitorio en la expresión de estos genes. Estos proto-oncogenes son necesarios para la transición desde el estadio G0 al estadio G1 del ciclo celular y para progresar por fases específicas del ciclo.

SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA EN CÁNCER

La mayoría de los cánceres son de origen esporádico, pero entre el 5 y el 10% de los mismos tienen un claro componente hereditario. Los cánceres hereditarios implican generalmente la predisposición al desarrollo de tumores concretos. La susceptibilidad se manifiesta en distintos individuos de un grupo familiar a través de las generaciones, con un patrón compatible con una segregación mendeliana. El cáncer hereditario suele aparecer a una edad más temprana que el esporádico, y el riesgo de desarrollarlo está relacionado con el grado de parentesco. En los individuos predispuestos es frecuente la presencia de tumores de localización multifocal, el desarrollo bilateral de la enfermedad y la asociación de múltiples neoplasias. Las neoplasias que afectan a los miembros de la familia suelen ser de un tipo concreto, pero también pueden encontrarse otros tumores o incluso una agrupación de distintos neoplasias en una misma familia. Por otra parte la incidencia elevada de casos de cáncer en una familia no implica necesariamente una base genética, sino que pueden existir factores ambientales que afecten a dicha familia en concreto.

La existencia de un cáncer hereditario se demuestra objetivamente identificando la mutación en la línea germinal en un gen concreto. Los estudios dirigidos a caracterizar los genes implicados en los síndromes de cáncer familiar, han proporcionado numerosas pruebas que apuntan a la inactivación de los genes supresores tumorales, siendo raras las alteraciones que activan oncogenes en la línea germinal. Es probable que el carácter dominante de las lesiones en los oncogenes tenga efectos letales e impida subsistir aquellos fetos que hereden una mutación de este tipo. Una excepción es el carcinoma medular de tiroides familiar y los tumores endocrinos hereditarios asociados a alteraciones en el oncogen *ret*. Hay que hacer hincapié en que en el cáncer hereditario lo que se transmite a la descendencia no es el cáncer propiamente dicho, sino un aumento en el riesgo de desarrollar la enfermedad. Esta susceptibilidad genética al desarrollo del cáncer suele heredarse como un rasgo

dominante a nivel del individuo. Sin embargo las alteraciones genéticas que confieren esta predisposición son casi siempre de carácter recesivo, manteniéndose el funcionamiento correcto mientras persista una copia normal del gen supresor de tumores.

El cáncer de mama es una enfermedad compleja y heterogénea producida por la interacción entre factores genéticos y no genéticos. Es la neoplasia más común entre las mujeres del mundo occidental, con una incidencia media aproximada del 10%. Aunque la mayoría de los cánceres de mama son esporádicos, entre el 5-10% de los mismos son familiares o hereditarios y forman parte del cuadro asociado a distintos síndromes de cáncer familiar. El carcinoma de endometrio es la neoplasia más frecuente que afecta al tracto genital femenino, mientras que el cáncer de ovario ocupa el cuarto lugar como causa de fallecimiento, por detrás de los de mama, recto-colon y pulmón.

Las mutaciones hereditarias en los genes BRCA1 y BRCA2 incrementan el riesgo de desarrollar carcinoma de mama y ovario. Otros síndromes genéticos relacionados con el desarrollo de tumores ginecológicos son el síndrome de Li-Fraumeni, asociado con carcinoma de mama y el síndrome de Lynch tipo II, asociado al desarrollo de cáncer de endometrio y ovario.

En la década de los años veinte, un equipo de patólogos identificó una familia con una elevada incidencia de tumores, que representaría el prototipo de síndrome de Lynch o cáncer colorrectal no polipósico familiar o HNPCC (*Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer*). Posteriormente Lynch realizó varios estudios en distintas familias con un historial similar al anterior, y obtuvo un patrón de enfermedad autosómica dominante caracterizada por la predisposición al desarrollo precoz de cáncer de colon proximal no polipósico y de otros tipos de cáncer. A partir de estos patrones se definieron dos síndromes: el síndrome de Lynch tipo I o cáncer colorrectal familiar de sitio específico, en aquellas familias que sólo desarrollaban cáncer colorrectal, y el síndrome de Lynch tipo II o síndrome de cáncer fami-

liar en las que también aparecían tumores en otros órganos, principalmente en el tracto genital femenino. Actualmente se cree que ambos síndromes son en realidad la misma entidad y se les denomina conjuntamente cáncer colorrectal no polipósico familiar o HNPCC. Cuando además de todos los tumores típicos del síndrome se desarrollan también distintos tipos de tumores dermatológicos, se denomina al cuadro síndrome de Muir-Torre.

El cáncer colorrectal es la manifestación principal del síndrome, aunque también hay una predisposición al desarrollo de tumores de endometrio, ovario, estómago, tracto urinario y páncreas, entre otros. Aparentemente los afectos no tienen predisposición al cáncer de pulmón, mama, próstata, vejiga, médula ósea, laringe o cerebro. El 80% de los pacientes desarrollan cáncer de colon y el 30% de las mujeres afectas desarrollan cáncer de endometrio. Otras características clínicas del síndrome son la edad temprana de diagnóstico del cáncer de colon (entre 40-50 años respecto a 60-70 años en la población general), en el 60% de los casos el cáncer colorrectal afecta a la región proximal y en el 25% se producen múltiples tumores primarios. La posibilidad de desarrollar tumores metacrónicos después del tratamiento es del 90% en el caso del cáncer de colon y del 75% en el de endometrio.

El 3-4% de todos los cánceres colorrectales se encuentran dentro del HNPCC, sin embargo, se desconoce el porcentaje de

carcinomas de endometrio y ovario debidos a este síndrome.

Predisposición genética en cáncer de mama

En los últimos años el descubrimiento de los genes ligados a la predisposición al cáncer de mama ha irrumpido en la práctica oncológica clínica creando la necesidad de poder establecer unas pautas dirigidas a poder efectuar un consejo genético no sólo de las pacientes sino de las familias. Así mismo, el estudio genético abre una esperanzadora herramienta en aquellos núcleos familiares con una elevada incidencia de cáncer de mama al poder identificar a los miembros con mayor riesgo y, por tanto, proceder a una estrategia más racional en el screening periódico y diagnóstico precoz.

Las causas de susceptibilidad son múltiples aunque efectivamente aquellas que cubren una mayor frecuencia son fundamentalmente las mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 (Breast Cancer). Cada uno de estos genes presentan una estructura genómica de gran tamaño, el BRCA1 cuenta con 24 exones (Fig. 1) y el BRCA2 con 27 exones, sin que se puedan señalar unas áreas de su secuencia con mayor concentración de mutaciones. De hecho, la distribución de mutaciones en estos dos genes se sitúa a lo largo de toda la secuencia genómica.

Desde un punto de vista clínico es necesario tener conciencia de los patrones

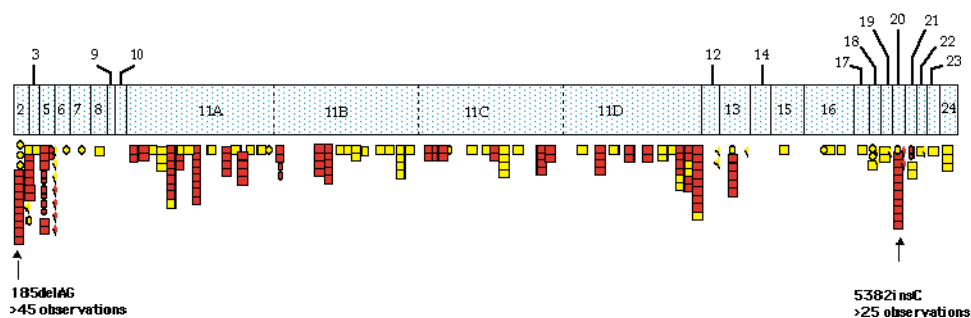


Figura 1. Mapa de la secuencia genómica del BRCA1 y localización de las mutaciones comunicadas en el Breast Information Core (BIC) del National Center for Human Genome Research (<http://www.NHGRI.nih.gov>).

específicos de cáncer de mama familiar, de los parámetros de vigilancia y seguimiento de las pacientes de riesgo así como de los aspectos psicológicos de las mujeres que creen presentar un riesgo de cáncer de mama sea éste real o percibido.

La posibilidad de determinar el riesgo de cáncer de mama ofrece una oportunidad de estructurar un adecuado plan de vigilancia y screening de las mujeres con riesgo elevado de cáncer de mama. No obstante, el estudio genético debe precederse de una adecuada evaluación de riesgo basada en criterios establecidos o en modelos epidemiológicos. Dado el tamaño y la imposibilidad de definir los potenciales *hotspot* o lugares calientes de mutaciones de estos genes el estudio sistemático de la población carece de valor coste/efectividad. En esta línea distintos programas se han desarrollado con objeto de cuantificar este nivel de riesgo de las mujeres con antecedentes familiares atendiendo también a las necesidades psicosociales y ofreciendo distintas estrategias de prevención. Este ha sido el caso del *National Surgical Adjuvant Breast Project (NSABP) Breast Cancer Prevention Trial* donde la valoración del riesgo de cáncer de mama se efectuó mediante el modelo Gail con objeto de estandarizar los criterios de inclusión. Así mismo, el reconocimiento de la susceptibilidad hereditaria para el cáncer de mama permite y facilita a las mujeres a riesgo enfrentarse y participar en campañas y programas de prevención. Por otra parte, y desde un punto de vista exclusivamente epidemiológico esta estructuración posibilita contar con una base de datos de población, punto de partida para futuros estudios y conocimiento de los patrones de genética poblacional de nuestro medio.

Inicialmente la valoración del riesgo de cáncer de mama y su consecuente consejo genético se efectuaba en unos pocos centros por equipos multidisciplinares donde estaban involucrados genetistas, psicólogos, oncólogos médicos, cirujanos y enfermeras. La disponibilidad del estudio genético no tiene por qué introducirse en todos los centros pero sí el conocimiento para estimar el riesgo asociado a una paciente concreta con objeto de remitir una mues-

tra de sangre periférica para valoración molecular a un grupo de centros de referencia a nivel nacional. En esta línea, hoy en día es necesario para cualquier unidad de oncología médica o ginecológica manejar unos patrones de identificación de las mujeres con riesgo de desarrollar cáncer de mama en función a características de la incidencia de cáncer en la familia, edad de diagnóstico, grado de parentesco entre las afectadas así como bilateralidad o multicentricidad. Así mismo, aunque la valoración genética se efectúe en un centro de referencia para dicho análisis, el seguimiento y control evolutivo a largo plazo debe desarrollarse por el centro propio de la paciente y, en este sentido, es importante consensuar algunos aspectos con objeto de ofrecer unas actitudes y recomendaciones comunes y contrastadas por la literatura.

Evaluación de familias con riesgo de cáncer de mama

Se estima que una de cada 9 mujeres que alcanza los 85 años en el mundo occidental desarrollará un cáncer de mama en algún momento de su vida. No obstante, este riesgo constituye una media poblacional en función a un grupo de factores sin que se pueda extrapolar una tendencia de central para las individualidades. Los factores que se han considerado en esta estimación poblacional incluyen historia familiar de cáncer, exposición a determinados carcinógenos (incluyendo hormonas exógenas) y la historia reproductiva. Distintos estudios epidemiológicos han identificado un número de importantes factores que podrían alterar el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, el riesgo estimado obtenido de distintos estudios no es aditivo y, por tanto, no puede ser combinado directamente a efectos de determinar el riesgo de cáncer de mama individual por varias razones: en primer lugar, el cáncer de mama tiene una etiología multifactorial, con múltiples factores genéticos y ambientales que interaccionan con el desarrollo del proceso neoplásico. En segundo lugar, la importancia relativa de estos factores en el desarrollo de cada tumor individual puede variar. En este sentido, poco se conoce sobre la interrelación de varios

factores de riesgo. Por tanto, desde un punto de vista del individuo afecto de cáncer, y este caso de la paciente con cáncer de mama, nos centraremos en el riesgo de cáncer de mama como una función de la historia familiar donde quizás en el futuro podamos añadir su interacción con otros factores de riesgo (Fig. 2).

La estimación de la proporción de cáncer de mama que se asocia con la historia familiar varía entre los distintos estudios efectuados. Dos estudios clásicos ofrecieron valores en cierta manera discrepantes: se trata del trabajo de Coldotz donde en su análisis de 2.389 cánceres de mama prospectivamente identificados entre los individuos reclutados en el *Nurses' Health Study*, y del trabajo de Slattery y Kerber en un estudio de casos-controles de la base de datos poblacional de Utah así como posteriores análisis poblacionales mediante técnicas moleculares en la búsqueda de mujeres portadoras de alteraciones en línea germinal. La estimación del porcentaje de casos de cáncer de mama en la población asociados con una historia familiar previa se encuentra entre un 17% y un 19% en la cohorte de Utah mientras que en el

Nurses' Health Study se cifra en sólo un 6%. Esta discrepancia parece que pueda deberse a aspectos metodológicos ya que en el caso de este último estudio el 6% puede traducir una infravaloración debido a la carencia de datos de la historia familiar paterna mientras que igualmente el 17-19% sobrestima la frecuencia real al incluir datos de familiares distantes. Todo ello hace pensar que la cifra real puede hallarse en un punto intermedio entre ambas estimaciones (Fig. 3).

El primer punto más importante en la identificación de personas con riesgo real cuantificable se centra en una adecuada, exacta y pormenorizada obtención e interpretación de la historia familiar. Ésta debe incluir detalles de procesos neoplásicos desarrollados tanto en parientes paternos como maternos así como la posición exacta de estos miembros en el árbol familiar considerando también familiares no afectados. No hay que olvidar que la distribución de los miembros afectados y sanos en el árbol genealógico nos va a ofrecer información sobre el patrón de herencia (dominante, recesiva,...). Siempre que sea posible, la información aportada por la familia

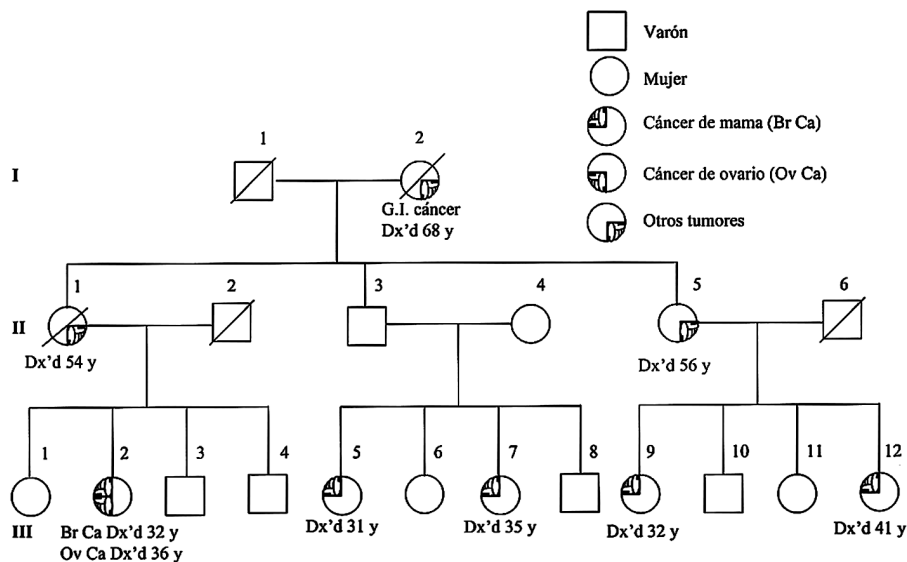


Figura 2. Ejemplo de familia con predisposición genética a cáncer de mama.

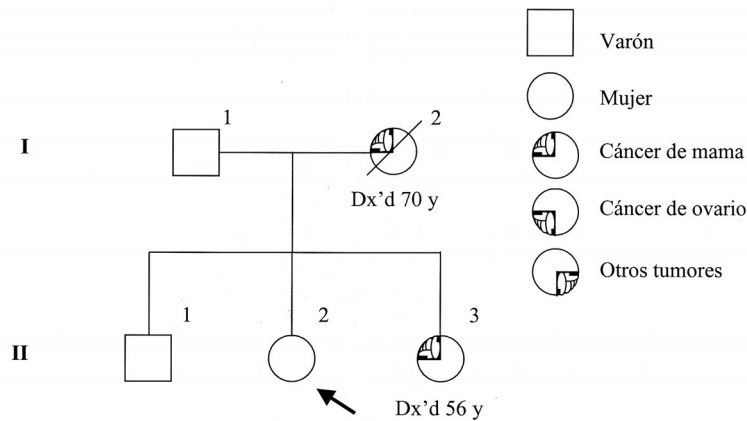


Figura 3. Pedigrí de una familia para valoración de riesgo de susceptibilidad genética a cáncer de mama.

sobre la naturaleza de los procesos mórbidos de miembros previos debe ser confirmada recurriendo al informe anatomopatológicos del centro que trató a aquellos parientes o en su defecto a informes médicos o registros de certificados de defunción.

La información deberá ser recogida en un mínimo de tres generaciones siempre que sea posible, así como contrastar los datos referidos con al menos dos miembros con objeto también de maximizar la veracidad y la cantidad de los datos obtenidos. Detalles como la edad al diagnóstico, edad de los miembros no afectados, histología del tumor, bilateralidad del proceso, lugares del tumor primario o de las metástasis deben ser recogidos lo más completamente posible. Es importante igualmente especificar la presencia de síndromes genéticos en la familia ya que algunos procesos hereditarios predisponen a los individuos afectados a una variedad de neoplasias, tal es el caso del *xeroderma pigmentosum*, la anemia de Fanconi, el síndrome de Bloom o la ataxia-telangiectasia con una elevado riesgo de cáncer de mama.

Con objeto de poder de estratificar el riesgo algunos autores han dividido a las mujeres con historia familiar de cáncer de mama en dos grupos: moderado riesgo y alto riesgo. El punto inicial para la clasificación de las familias como moderado o

alto riesgo arranca del análisis de la historia familiar con objeto de determinar el espectro de tumores presentes y evaluar los potenciales patrones de herencia de la predisposición a cáncer. Las familias con moderado riesgo de cáncer de mama se caracterizan por la ausencia de cáncer de ovario, una edad más avanzada de diagnóstico y una menor incidencia familiar de tumores, por contra de las familias con un elevado riesgo de cáncer de mama que se caracterizan por la presencia de múltiples casos de cáncer de mama en parientes muy próximos (al menos tres casos) que parecen seguir un patrón autosómico dominante de herencia. En estas familias de alto riesgo el cáncer de mama se diagnostica con frecuencia en una edad temprana (por debajo de los 45 años) con presencia en ocasiones de cáncer de ovario. En estos casos de alto riesgo la causa suele subyacer en una mutación altamente penetrante con carácter autosómico penetrante en uno de los genes de predisposición a cáncer de mama BRCA1 o BRCA2.

Identificación de familias de riesgo de cáncer de mama

La situación más frecuente con la que se enfrenta la práctica clínica viene dada por un cuadro familiar sin una incidencia muy relevante que oriente sin lugar a dudas hacia un claro cuadro de cáncer de mama familiar. En estos casos, la historia

familiar revela típicamente la presencia de uno o dos miembros con cáncer de mama (a menudo de aparición perimenopáusicas o incluso postmenopáusicas) y la ausencia de otros tumores distintos al cáncer de mama. Esta situación ofrece un espectro heterogéneo tanto a nivel molecular como en el ámbito clínico y podrían contemplarse cuatro potenciales causas subyacentes:

1. Una derivada de la combinación de distintas alteraciones genéticas (o epigenéticas) combinadas o no con agentes ambientales, cada uno confiriendo un pequeño grado sobreañadido de riesgo.

2. Otro subgrupo podría estar teóricamente explicado por la presencia de una mutación de uno de los genes BRCA1 o BRCA2 con una baja penetrancia, lo cual podría justificar una mayor incidencia de cáncer de mama en ese entorno familiar respecto a la población general; no obstante, este planteamiento no concuerda con la constatación de una elevada penetrancia de las mutaciones acaecidas en los genes BRCA.

3. Algunas familias puede presentar un síndrome de predisposición hereditaria al cáncer de mama pero quizás por tratarse de una familia pequeña o no contar con información completa o fidedigna no se expone de forma clara y florida un patrón típico de estos síndromes en toda su extensión.

4. Así mismo debemos considerar que el cáncer de mama constituye un proceso neoplásico con una amplia y creciente incidencia en la población general lo cual significa que puede acontecer en más de una ocasión en una familia sin tener ninguna relación con factores hereditarios. Estas familias con estas características se etiquetan como núcleos familiares de riesgo moderado y la estimación de riesgo se efectúa usando un modelo derivado de estudios epidemiológicos. En estos casos, este modelo de riesgo epidemiológico permite establecer una predicción basada en análisis de estudios poblacionales .

Valoración de riesgo en familias con susceptibilidad a cáncer de mama

Algunos autores han revisado recientemente los modelos más representativos

comparándolos y evaluando el nivel de predicción. Son modelos basados en diseños que utilizan distintos factores de riesgo, lo cual se traduce en estimaciones de riesgo para un individuo dado que difieren mínimamente. Estos datos de predicción ofrecen una guía útil a efectos de ofrecer posteriormente un adecuado consejo genético a los miembros a riesgo de las familias.

Las medidas más frecuentes para la evaluación del riesgo se dirigen a la estimación del riesgo relativo o el riesgo acumulativo. El primero se define como la tasa de enfermedad en un grupo expuesto a un factor de riesgo comparado a un segundo grupo no expuesto a dicho factor. Este riesgo relativo es muy útil para la valoración de la magnitud del efecto de un factor de riesgo dado. No obstante, el uso del riesgo relativo puede no ser adecuado cuando se evalúa una línea base de riesgo a nivel individual y ésta es multiplicada por el valor del riesgo relativo del factor considerado. Por eso mismo, esta aproximación es más válida en la estimación poblacional de riesgo considerándose más acertada la evaluación basada en el riesgo acumulado que aporta un dato estadístico que traduce de forma más asequible para el conjunto clínico sobre todo cuando se estratifican grupos de edades. En este sentido, esta predicción basada en riesgos acumulados posibilita un enfoque distinto al poderse dirigir el riesgo a un tiempo determinado o a una extensión de vida determinada.

Uno de los modelos más utilizados deriva del estudio "*Cancer and Steroid Hormone Study (CASH)*", analizado por Claus. Estos datos poblacionales conforman una base para la predicción de riesgo en mujeres con historia previa de cáncer de mama lo cual puede permitir la construcción de tablas detalladas para el cálculo del riesgo acumulado de cáncer de mama en una determinada edad basado en la edad de diagnóstico de los miembros de primer y segundo grado de parentesco. Cuando se usan estas tablas del modelo de Claus, los individuos considerados deben encontrarse en la misma línea (materna o paterna) pero no mezclados. Una ventaja de esta aproximación es el hecho de que maneja riesgos acumulados más que riesgos rela-

tivos, incorporando la edad de diagnóstico de los parientes afectos en el cálculo del modelo. Sin embargo, este modelo puede infraestimar significativamente el riesgo de desarrollo de cáncer de mama en mujeres portadoras de mutaciones de BRCA1 o BRCA2 en núcleos familiares pequeños, y sobrestimarlo en individuos que no hayan heredado una mutación relacionada con enfermedad donde los casos de cáncer de mama sean incidentales sin ninguna relación causal entre ellos.

El otro gran modelo considerado se refiere al de Gail que calcula el riesgo de desarrollar cáncer de mama mediante el uso de una fórmula que contempla las variables: edad de la mujer en su menarquia, edad del primer parto, número de familiares de primer grado con cáncer de mama, número de biopsias previas de mama en la mujer considerada ante lesiones de dudosa naturaleza y edad de la misma. Este modelo fue estimado a partir de los datos del estudio "Breast Cancer Detection Demonstration Project" (BCDDP). El modelo predice un riesgo acumulativo desde los 20 años hasta los 80 corrigiendo así mismo por otras causas de mortalidad. Ha sido ampliamente usado con objeto de calcular el riesgo de desarrollo de cáncer de mama en las mujeres del ensayo de quimiopreención (NSABP *Breast Cancer Chemoprevention Trial*). No obstante, los estudios de validación han mostrado que sólo predice el riesgo de forma eficiente en mujeres caucásicas sometidas a screening mamográfico que es precisamente el estrato poblacional del cual procede este modelo predictivo.

En general, para la mayoría de las mujeres atendidas en un servicio clínico, las tablas de Claus, diseñadas para predecir el riesgo en mujeres con una historia familiar de cáncer de mama, puede acoplarse mejor a las necesidades del día a día. Hay que considerar que obviamente una proporción de mujeres de la población originaria sobre la que se desarrolló este modelo son portadoras de mutaciones en uno de los genes de susceptibilidad; la inclusión de estas mujeres de una forma mayoritaria podría haber conducido a una sobrestimación del riesgo real si los factores y variables del modelo no han sido

adecuadamente equilibrados y corregidos con estudios posteriores. Sin embargo, este hecho sobre el posible ajuste de los valores proporcionales no resta entidad a los resultados obtenidos.

De alguna forma, los modelos de predicción aquí presentados así como otros disponibles en la literatura pueden manifestar una mayor eficiencia en su capacidad de inferencia en tanto en cuanto la población a la que se aplique su cálculo más se aproxime a las características de la población sobre la que se ha desarrollado el sistema. De esta forma, sobre una población de mujeres sanas sometidas a controles periódicos mamográficos sin un especial énfasis en su carga familiar de cáncer de mama puede constituir un mejor modelo el desarrollado por Gail que cualquier otro. Este modelo cuenta actualmente con programas de software diseñados para la cuantificación numérica así como para la representación gráfica del riesgo asumido por un individuo.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- ASCO. Statement of the American Society of Clinical Oncology: genetic testing for cancer susceptibility, Adopted on February 20, 1996. *J Clin Oncol* 1996; 14: 1730-1740.
- AHLBOM A, LICHTENSTEIN P, MALMSTROM H, FEYCHTING M, HEMMINKI K, PEDERSEN NL. Cancer in twins: genetic and nongenetic familial risk factors. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 287-293.
- ANDRIEU N, CLAVEL F, GAIRARD B, PIANA L, BRQMOND A, LANSAC J et al. Familial risk of breast cancer in a French case-control study. *Cancer Detect Prev* 1994; 18: 163-169.
- ANGIOLI R, ESTAPE R, MASON M, PENALVER M. Hereditary and sporadic ovarian cancer: genetic testing and clinical implications. *Int J Oncol* 1997; 12: 1029-1034.
- ANTON-CULVER H, KUROSAKI T, TAYLOR TH, GILDEA M, BRUNNER D, BRINGMAN D. Validation of family history of breast cancer and identification of the BRCA1 and other syndromes using a population-based cancer registry. *Genet Epidemiol* 1996; 13: 193-205.
- AUDRAIN J, RIMER B, CELLA D, GARBER J, PESHKIN BN, ELLIS J et al. Genetic counseling and testing for breast-ovarian cancer susceptibility: what do women want? *J Clin Oncol* 1997; 16: 133-138.
- BARON JA, HAILE RW. Protective effect of cigarette smoking on breast cancer risk in women

- with BRCA1 or BRCA2 mutations?. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 726-727.
- BELDOCK JG, POTTER CE. Physician- and counselor-tailored hybrid computer interfaces for cancer genetics risk analysis software. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 833: 154-163.
- BENICHOU J, GAIL MH, MULVIHILL JJ. Graphs to estimate an individualized risk of breast cancer. *J Clin Oncol* 1996; 14: 103-110.
- BENKENDORF JL, REUTENAUER JE, HUGHES CA, EADS N, WILLISON J, POWERS M et al. Patients' attitudes about autonomy and confidentiality in genetic testing for breast-ovarian cancer susceptibility. *Am J Med Genet* 1997; 73: 296-303.
- BERCHUCK A, CIRISANO F, LANCASTER JM, SCHILDKRAUT JM, WISEMAN RW, FUTREAL A et al. Role of BRCA1 mutation screening in the management of familial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 738-746.
- BIESECKER BB, BOEHNKE M, CALZONE K, MARKEL DS, GARBER JE, COLLINS FS et al. Genetic counseling for families with inherited susceptibility to breast and ovarian cancer. *JAMA* 1993; 269: 1970-1974.
- BIESECKER BB, GARBER JE. Testing and counseling adults for heritable cancer risk. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1995; (17): 115-118.
- BLACKWOOD MA, WEBER BL. BRCA1 and BRCA2: from molecular genetics to clinical medicine. *J Clin Oncol* 1998; 16:1969-1977.
- BONDY ML, LUSTBADER ED, HALABI S, ROSS E, VOGEL VG. Validation of a breast cancer risk assessment model in women with a positive family history. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86:620-625.
- BOTKIN JR, CROYLE RT, SMITH KR, BATY BJ, LERMAN C, GOLDFAR DE et al. A model protocol for evaluating the behavioral and psychosocial effects of BRCA1 testing. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:872-882.
- BOYD J, RUBIN SC. Hereditary ovarian cancer: molecular genetics and clinical implications. *Gynecol Oncol* 1997; 64:196-206.
- BREO DL. Altered fates-counseling families with inherited breast cancer. *JAMA* 1993; 269: 2017-2022.
- BROWN DL, COLE BF, ARRICK BA. Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 90-91.
- BRUNET JS, GHADIRIAN P, REBECK TR, LERMAN C, GARBER JE, TONIN PN et al. Effect of smoking on breast cancer in carriers of mutant BRCA1 or BRCA2 genes. *J Natl Cancer Inst* 1997; 90: 761-766.
- BURKE W, DALY M, GARBER J, BOTKIN J, KAHN MJ, LYNCH P et al. Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. II. BRCA1 and BRCA2. *Cancer Genetics Studies Consortium. JAMA* 1997; 277: 997-1003.
- CHAKRABORTY R, LITTLE MP, SANKARANARAYANAN K. Cancer predisposition, radiosensitivity and the risk of radiation-induced cancers. IV. Prediction of risks in relatives of cancer-predisposed individuals. *Radiat.Res* 1998; 149:493-507.
- CLAUS EB, RISCH N, THOMPSON WD. Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer. Implications for risk prediction. *Cancer* 1994; 73: 643-651.
- CLAUS EB, SCHILDKRAUT J, IVERSEN-ES J, BERRY D, PARMIGIANI G. Effect of BRCA1 and BRCA2 on the association between breast cancer risk and family history. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1824-1829.
- COUCH FJ, DESHANO ML, BLACKWOOD MA, CALZONE K, STOPFER J, CAMPEAU L et al. BRCA1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1997; 336:1409-1415.
- COUCH FJ, HARTMANN LC. BRCA1 testing, advances and retreats. *JAMA* 1998; 279: 955-957.
- CULL A, MILLER H, PORTERFIELD T, MACKAY J, ANDERSON ED, STEEL CM et al. The use of videotaped information in cancer genetic counselling: a randomized evaluation study. *Br J Cancer* 1997; 77: 830-837.
- CULL A, ANDERSON ED, CAMPBELL S, MACKAY J, SMYTH E, STEEL M. The impact of genetic counselling about breast cancer risk on women's risk perceptions and levels of distress. *Br J Cancer* 1997; 79: 501-508.
- DAVIS JG. Predictive genetic tests: problems and pitfalls. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 833: 42-46.
- DE-SOUZA RM, LAZZARON AR. Oral contraceptives and hereditary ovarian cancer. *N Engl J Med* 1999; 340: 59
- DE SILVA D, GILBERT F, NEEDHAM G, DEANS H, TURNPENNY P, HAITES N. Identification of women at high genetic risk of breast cancer through the National Health Service Breast Screening Programme (NHSBSP). *J Med Genet* 1995; 32:862-866.
- DORUM A, HEIMDAL K, MOLLER P. Clinical implications of BRCA1 genetic testing. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1998; 77: 458-461.

- DOVE A. Tamoxifen, raloxifene findings unlikely to encourage genetic screening for breast cancer. *Nat Med* 1998; 4: 647
- DUDOK DE WIT AC, TIBBEN A, FRETTS PG, MEIJERS-HEIJBOER EJ, DEVILLEE P, KLIJN JG et al. BRCA1 in the family: a case description of the psychological implications. *Am J Med Genet* 1997; 71: 63-71.
- DURFY SJ, BUCHANAN TE, BURKE W. Testing for inherited susceptibility to breast cancer: a survey of informed consent forms for BRCA1 and BRCA2 mutation testing. *Am J Med Genet* 1998; 75: 82-87.
- EELLES R, COLE T, TAYLOR R, LUNT P, BAUM M. Prophylactic mastectomy for genetic predisposition to breast cancer: the proband's story. *Clin Oncol* 1996; 8: 222-225.
- EGAN KM, STAMPFER MJ, ROSNER BA, TRICHOPOULOS D, NEWCOMB PA, TRENTHAM-DIETZ A et al. Risk factors for breast cancer in women with a breast cancer family history. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 7: 359-364.
- EISEN A, WEBER BL. Primary peritoneal carcinoma can have multifocal origins: implications for prophylactic oophorectomy. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 797-799.
- EISEN A, WEBER BL. Prophylactic mastectomy—the price of fear. *N Engl J Med* 1999; 340: 137-138.
- EISINGER F, ALBY N, BREMOND A, DAUPLAT J, ESPIQ M, JANIAUD P et al. Recommendations for medical management of hereditary breast and ovarian cancer: the French National Ad Hoc Committee. *Ann Oncol* 1997; 9:939-950.
- EVANS DG, BLAIR V, GREENHALGH R, HOPWOOD P, HOWELL A. The impact of genetic counselling on risk perception in women with a family history of breast cancer. *Br J Cancer* 1994; 70: 934-938.
- EVANS DG, MAHER ER, MACLEOD R, DAVIES DR, CRAUFURD D. Uptake of genetic testing for cancer predisposition. *J Med Genet* 1997; 34: 746-748.
- FARGHALY SA. BRCA1 and BRCA2 gene mutations in hereditary and sporadic ovarian cancer and the clinical implications. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 79: 1101-1102.
- FENTIMAN IS. Prophylactic mastectomy: deliverance or delusion? We don't know, so we need to start registering all cases now. *Br Med J* 1998; 317: 1402-1403.
- FORD D, EASTON DF, STRATTON M, NAROD S, GOLDGAR D, DEVILLEE P et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1997; 62: 676-689.
- FRANK TS, MANLEY SA, OLOPADE OI, CUMMINGS S, GARBER JE, BERNHARDT B et al. Sequence analysis of BRCA1 and BRCA2: correlation of mutations with family history and ovarian cancer risk. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2417-2425.
- GELLER G, BERNHARDT BA, DOKSUM T, HELZLSOUER KJ, WILCOX P, HOLTZMAN NA. Decision-making about breast cancer susceptibility testing: how similar are the attitudes of physicians, nurse practitioners, and at-risk women? *J Clin Oncol* 1997; 16: 2868-2876.
- GOELEN G, RIGO A, NEYNS B, BETZ W, DE GREVE J. Ethical aspects of genetic counseling in familial breast and ovarian cancer. Combining applied theory and reflective practice. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 833:170-172.
- GOSS PE, SIERRA S. Current perspectives on radiation-induced breast cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16: 338-347.
- GRANN VR, PANAGEAS KS, WHANG W, ANTMAN KH, NEUGUT AI. Decision analysis of prophylactic mastectomy and oophorectomy in BRCA1-positive or BRCA2-positive patients. *J Clin Oncol* 1998; 16: 979-985.
- GREEN MJ, FOST N. An interactive computer program for educating and counseling patients about genetic susceptibility to breast cancer. *J Cancer Educ* 1997; 12: 204-208.
- HALLOWELL N, MURTON F, STATHAM H, GREEN JM, RICHARDS MP. Women's need for information before attending genetic counselling for familial breast or ovarian cancer: a questionnaire, interview, and observational study. *Br Med J* 1997; 314: 281-283.
- HARTENBACH EM, SCHINK JC. The genetics of ovarian cancer: concepts in testing and counseling. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1996; 8: 339-342.
- HICKEN GJ, FRANCIS A, HARRIES SA. Hereditary breast cancer. *Br J Surg* 1998; 85: 570-571.
- HOPWOOD P. Genetic risk counselling for breast cancer families. *Eur J Cancer* 1997; 34: 1477-1479.
- HOSKINS KF, STOPFER JE, CALZONE KA, MERAJVER SD, REBBECK TR, GARBER JE et al. Assessment and counseling for women with a family history of breast cancer. A guide for clinicians. *JAMA* 1995; 273: 577-585.
- IGLEHART JD, MIRON A, RIMER BK, WINER EP, BERRY D, SHILDKRAUT MJ. Overestimation of hereditary breast cancer risk. *Ann Surg* 1998; 228: 375-384.
- Ji H, LIU YE, JIA T, WANG M, LIU J, XIAO G et al. Identification of a breast cancer-specific gene, BCSG1, by direct differential cDNA sequencing. *Cancer Res* 1997; 57: 759-764.

- JOHANSSON O, LOMAN N, BORG A, OLSSON H. Pregnancy-associated breast cancer in BRCA1 and BRCA2 germ line mutation carriers. *Lancet* 1998; 352: 1359-1360.
- JULIAN-REYNIER C, EISINGER F, CHABAL F, AURRAN Y, BIGNON YJ, NOGUEFS C et al. Cancer genetic clinics: why do women who already have cancer attend? *Eur J Cancer* 1997; 34: 1549-1553.
- KASH KM, HOLLAND JC, OSBORNE MP, MILLER DG. Psychological counseling strategies for women at risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1995; (17): 73-79.
- KOENIG BA, GREELY HT, MCCONNELL LM, SILVERBERG HL, RAFFIN TA. Genetic testing for BRCA1 and BRCA2: recommendations of the Stanford Program in Genomics, Ethics, and Society. Breast Cancer Working Group. *J Womens Health* 1998; 7: 531-545.
- LANCASTER JM, WISEMAN RW, BERCHUCK A. An inevitable dilemma: prenatal testing for mutations in the BRCA1 breast-ovarian cancer susceptibility gene. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 306-309.
- LERMAN C, HUGHES C, LEMON SJ, MAIN D, SNYDER C, DURHAM C et al. What you don't know can hurt you: adverse psychologic effects in members of BRCA1-linked and BRCA2-linked families who decline genetic testing. *J Clin Oncol* 1997; 16: 1650-1654.
- LERMAN C, CROYLE R. Psychological issues in genetic testing for breast cancer susceptibility. *Arch Intern Med* 1994; 154: 609-616.
- LERMAN C, LUSTBADER E, RIMER B, DALY M, MILLER S, SANDS C et al. Effects of individualized breast cancer risk counseling: a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 286-292.
- LERMAN C, SEAY J, BALSHEM A, AUDRAIN J. Interest in genetic testing among first-degree relatives of breast cancer patients. *Am J Med Genet* 1995; 57: 385-392.
- LERMAN C, NAROD S, SCHULMAN K, HUGHES C, GOMEZ-CAMINERO A, BONNEY G et al. BRCA1 testing in families with hereditary breast-ovarian cancer. A prospective study of patient decision making and outcomes. *JAMA* 1996; 275: 1885-1892.
- LERMAN C, BIESECKER B, BENKENDORF JL, KERNER J, GOMEZ-CAMINERO A, HUGHES C et al. Controlled trial of pretest education approaches to enhance informed decision-making for BRCA1 gene testing. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 148-157.
- LERMAN C, HUGHES C, LEMON SJ, MAIN D, SNYDER C, DURHAM C et al. What you don't know can hurt you: adverse psychologic effects in members of BRCA1-linked and BRCA2-linked families who decline genetic testing. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1650-1654.
- LLOYD S, WATSON M, WAITES B, MEYER L, EELES R, EBBS S et al. Familial breast cancer: a controlled study of risk perception, psychological morbidity and health beliefs in women attending for genetic counselling. *Br J Cancer* 1996; 74: 482-487.
- LOPEZ MJ, PORTER KA. The current role of prophylactic mastectomy. *Surg Clin North Am* 1996; 76: 231-242.
- LYNCH HT, WATSON P, CONWAY TA, LYNCH JF, SLOMINSKI-CASTER SM, NAROD SA et al. NA screening for breast/ovarian cancer susceptibility based on linked markers. A family study. *Arch Intern Med* 1993; 153: 1979-1987.
- LYNCH HT, LYNCH J, CONWAY T, SEVERIN M. Psychological aspects of monitoring high risk women for breast cancer. *Cancer* 1994; 74: 1184-1192.
- LYNCH HT, LYNCH JF. Cancer prevention, molecular genetics and hereditary cancer syndromes of colon and breast. *Eur J Cancer Prev* 1996; 5 (Suppl 2): 27-32.
- LYNCH HT, LEMON SJ, DURHAM C, TINLEY ST, CONNOLLY C, LYNCH JF et al. A descriptive study of BRCA1 testing and reactions to disclosure of test results. *Cancer* 1997; 79: 2219-2228.
- MALONE KE, DALING JR, THOMPSON JD, O'BRIEN CA, FRANCISCO LV, OSTRANDER EA. BRCA1 mutations and breast cancer in the general population: analyses in women before age 35 years and in women before age 45 years with first-degree family history. *JAMA* 1998; 279: 922-929.
- MARGARITTE-JEANNIN P, ESSIUX L, BONATI-PELLIQ C, CLERGET-DARPOUX F. Genetic counselling in breast cancer: sensitivity to parameter values and to available information. *Ann Genet* 1995; 38: 19-25.
- MOGILNER A, OTTEN M, CUNNINGHAM JD, BROWER ST. Awareness and attitudes concerning BRCA gene testing. *Ann Surg Oncol* 1997; 5: 607-612.
- MOUCHAWAR J, BYERS T, CUTTER G, DIGNAN M, MICHAEL S. A study of the relationship between family history of breast cancer and knowledge of breast cancer genetic testing prerequisites. *Cancer Detect Prev* 1997; 23: 22-30.
- MULVIHILL JJ, STADLER MP. Breast cancer risk analysis and counseling. *Clin Obstet Gynecol* 1996; 39: 851-859.

- MURDAY V. Genetic counselling in the cancer family clinic. *Eur J Cancer* 1994; 30A: 2012-2015.
- NAROD SA, RISCH H, MOSLEHI R, DORUM A, NEUHAUSEN S, OLSSON H et al. Oral contraceptives and the risk of hereditary ovarian cancer. Hereditary Ovarian Cancer Clinical Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 424-428.
- NEWMAN B, MU H, BUTLER LM, MILLIKAN RC, MOORMAN PG, KING MC. Frequency of breast cancer attributable to BRCA1 in a population-based series of American women. *JAMA* 1997; 279: 915-921.
- OFFIT K, BROWN K. Quantitating familial cancer risk: a resource for clinical oncologists. *J Clin Oncol* 1994; 12: 1724-1736.
- PANKOW JS, VACHON CM, KUNI CC, KING RA, ARNETT DK, GRABRICK DM et al. Genetic analysis of mammographic breast density in adult women: evidence of a gene effect. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 549-556.
- PARMIGIANI G, BERRY D, AGUILAR O. Determining carrier probabilities for breast cancer-susceptibility genes BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet* 1997; 62: 145-158.
- REILLY P. Physician responsibility in conducting genetic testing. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1995; (17): 59-61.
- RIMER BK, SCHILDKRAUT JM, LERMAN C, LIN TH, AUDRAIN J. Participation in a women's breast cancer risk counseling trial. Who participates? Who declines? High Risk Breast Cancer Consortium. *Cancer* 1996; 77: 2348-2355.
- ROBSON M, GILEWSKI T, HAAS B, LEVIN D, BORGES P, RAJAN P et al. RCA-associated breast cancer in young women. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1642-1649.
- ROSNER F. Genetic susceptibility testing: a therapeutic illusion?. *Cancer* 1998; 82:232-234.
- ROSSER EM, HURST JA, CHAPMAN CJ. Cancer families: what risks are they given and do the risks affect management? *J Med Genet* 1996; 33: 977-980.
- Rubin SC. Chemoprevention of hereditary ovarian cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 469-471.
- RUBIN SC, BLACKWOOD MA, BANDERA C, BEHBAKHT K, BENJAMIN I, REBBECK TR et al. BRCA1, BRCA2, and hereditary nonpolyposis colorectal cancer gene mutations in an unselected ovarian cancer population: relationship to family history and implications for genetic testing. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 670-677.
- SCHMIDT S, BECHER H, CHANG CJ. Breast cancer risk assessment: use of complete pedigree information and the effect of misspecified ages at diagnosis of affected relatives. *Hum Genet* 1998; 102: 348-356.
- SCHORGE JO, MUTO MG, WELCH WR, BANDERA CA, RUBIN SC, BELL DA et al. Molecular evidence for multifocal papillary serous carcinoma of the peritoneum in patients with germline BRCA1 mutations. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 841-845.
- SPICER DV, KRECKER EA, PIKE MC. The endocrine prevention of breast cancer. *Cancer Invest* 1995; 13: 495-504.
- STRUEWING JP, LERMAN C, KASE RG, GIAMBARRESI TR, TUCKER MA. Anticipated uptake and impact of genetic testing in hereditary breast and ovarian cancer families. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4: 169-173.
- SWERDLOW AJ, DE STAVOLA BL, SWANWICK MA, MACONOCHE NE. Risks of breast and testicular cancers in young adult twins in England and Wales: evidence on prenatal and genetic aetiology. *Lancet* 1997; 350: 1723-1728.
- TAMBOR ES, RIMER BK, STRIGO TS. Genetic testing for breast cancer susceptibility: awareness and interest among women in the general population. *Am J Med Genet* 1997; 68: 43-49.
- THOMPSON JA, WIESNER GL, SELLERS TA, VACHON C, AHRENS M, POTTER JD et al. Genetic services for familial cancer patients: a survey of National Cancer Institute cancer centers. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1446-1455.
- THORLACIUS S, STRUEWING JP, HARTGE P, OLAFSDOTTIR GH, SIGVALDASON H, TRYGGVADOTTIR L et al. Population-based study of risk of breast cancer in carriers of BRCA2 mutation. *Lancet* 1998; 352: 1337-1339.
- VASEN HF, HAITES NE, EVANS DG, STEEL CM, MOLLER P, HODGSON S et al. Current policies for surveillance and management in women at risk of breast and ovarian cancer: a survey among 16 European family cancer clinics. European Familial Breast Cancer Collaborative Group. *Eur J Cancer* 1997; 34: 1922-1926.
- WALKER LG, EREMIN O. Psychological assessment and intervention: future prospects for women with breast cancer. *Semin Surg Oncol* 1996; 12: 76-83.
- WATSON M, DUUVIER V, WADE W, ASHLEY S, DAVIDSON J, PAPAIONOMOU M et al. Family history of breast cancer: what do women understand and recall about their genetic risk? *J Med Genet* 1997; 35: 731-738.
- WEBER B. Breast cancer susceptibility genes: current challenges and future promises. *Ann Intern Med* 1996; 124: 1088-1090.

J. García-Foncillas *et al*

WHITE E, MALONE KE, WEISS NS, DALING JR. Breast cancer among young U.S. women in relation to oral contraceptive use. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 505-514.

WINTER PR, WIESNER GL, FINNEGAN J, BARTELS D, LEROY B, CHEN PL et al. Notification of a family history of breast cancer: issues of privacy and confidentiality. *Am J Med Genet* 1996; 66: 1-6.