



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**PERSPECTIVA HISTÓRICA DEL ESPECTRO DE
MUTACIONES EN LOS GENES *BRCA1* Y *BRCA2***

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

LUIS ALBERTO BRITO ELÍAS

DIRECTOR DE TESINA:

Dr. EDUARDO LÓPEZ URRUTIA

Los Reyes Iztacala, Estado de México, 2019





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El proyecto fue elaborado en el Laboratorio de Genómica Funcional del Cáncer (L-11) en la Unidad de Biomedicina (UBIMED) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (UNAM) bajo la dirección del Dr. Eduardo López Urrutia.

Este proyecto fue financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con clave IA201216.

“Nothing is so painful to the human mind as a great and sudden change”

Mary Shelly

“Science, my lad, is made up of mistakes, but they are mistakes which it is useful to make, because they lead little by little to the truth.”

Jules Verne

“We’re like children with a bottomless toy box, creating and exploring, limited only by our imaginations. We cast aside the theories of old and invent new ones beyond method or reason. Our own world...”

The Bridge

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi mamá por ser la persona que más amo y que me ha apoyado en todos los aspectos tanto académicos como personales, gracias por los consejos que me has brindado, a ella que ha sido el impulso a lo largo de mi vida para ser una mejor persona y que me ha enseñado que los sueños se hacen realidad si trabajas y te enfocas arduamente en ellos. Gracias por todos los momentos que hemos pasado juntos tanto buenos como malos y que me han ayudado a crecer, pero sobre todo gracias por no dejarte vencer aún en los momentos más difíciles, te amo mucho.

A mi abuela Elvira por el apoyo infinito que me ha brindado a través de todos estos años, por tus historias, consejos y momentos que has estado a mi lado.

A mis tíos Laura y Esteban que me ayudaron en el desarrollo académico y siempre creyeron en mí, a mis primos Frida y Santiago por los momentos alegres que hemos pasado estos años. A Elizabeth que la considero como mi hermana y a su mamá Guadalupe por enseñarme a nunca rendirme.

Al Dr. Eduardo López Urrutia por toda la enseñanza y pasión que me transmitió por la ciencia que es fundamental para el desarrollo académico y profesional, por sus consejos, humildad y un ejemplo a seguir.

Al Dr. Carlos Pérez Plasencia por permitir que formara parte del grupo de investigación y por sus consejos para desarrollarme en el ámbito científico.

A la Dra. Verónica García Castillo por enseñarme a ser comprometido con el grupo de investigación y enseñarme técnicas de biología molecular para mi desarrollo académico.

Al Dr. Elías Piedra Ibarra y Mtro. Luis Felipe Santos Cruz por ayudarme en la revisión de este trabajo.

A mis amigos del L-11 Misael, Xochitl, Samuel, Rebeca, Héctor, Carlos, David, Izamary y Jonathan por sus consejos que fueron fundamentales en mi desarrollo personal y académico. A Jossimar por todo el conocimiento que me brindaste, por tu amistad y las risas en el laboratorio. A David Marín por tus consejos, playerismos en la FES y por ser un excelente amigo.

A mis amigos Aldo, Cynthia, Facio, Janet, Jorge, Fernanda Guzman y Dánae por su amistad y compañía a través de mi formación universitaria. A Fernanda Cortes por tu increíble apoyo y conversaciones que cambiaron mi forma de pensar. Fernando Tapia, por tu magnífica amistad, todas tus enseñanzas, opiniones, tu carisma como ningún otro y humildad en esta aventura universitaria. Gino Villa por ser un gran amigo, por la confianza que me has brindado, por ser mi psicólogo en momentos difíciles, sé que puedo confiar en ti sin temor a equivocarme y por esos momentos tan alegres en nuestra formación como biólogos.

CONTENIDO

1. RESUMEN	8
2. INTRODUCCIÓN	9
2.1 CÁNCER	9
2.2 GENES SUPRESORES DE TUMORES Y ONCOGENES.....	10
2.3 REPARACIÓN DE DAÑO A DNA.....	11
2.4 INESTABILIDAD GENÓMICA	16
3. CÁNCER DE MAMA.....	16
3.1 CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE CÁNCER DE MAMA Y SUBTIPOS	17
3.2 CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE CÁNCER DE MAMA Y SUBTIPOS.....	17
3.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	18
3.3.1 INCIDENCIA Y MORTALIDAD EN HOMBRES	19
3.3.2 INCIDENCIA Y MORTALIDAD EN MUJERES.....	19
3.4 GENES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE CÁNCER DE MAMA.....	20
3.5 <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	21
4. MUTACIONES EN <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	24
4.1 DISTRIBUCIÓN DE MUTACIONES	28
4.2 REPOSITORIO DE MUTACIONES.....	29
5. HIPÓTESIS	30
6. OBJETIVO GENERAL.....	30
7. OBJETIVOS PARTICULARES	30
8. METODOLOGÍA	31
9. RESULTADOS	32
10. DISCUSIÓN.....	40
11. CONCLUSIONES	47
12. PERSPECTIVAS	48
13. REFERENCIAS	48
14. ANEXO	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Hallmarks</i> del cáncer.....	10
Figura 2. Mecanismos de reparación del DNA de una cadena.....	13
Figura 3. Mecanismos de reparación del DNA de doble cadena.....	15
Figura 4. Incidencia y mortalidad de los principales tipos de cáncer a nivel mundial en hombres y mujeres.....	18
Figura 5. Principales tipos de cáncer a nivel mundial en hombres, incidencia y mortalidad.....	19
Figura 6. Principales tipos de cáncer a nivel mundial en mujeres, incidencia y mortalidad.....	20
Figura 7. Estructura de <i>BRCA1</i>	22
Figura 8. Estructura de <i>BRCA2</i>	23
Figura 9. Mutaciones <i>Missense</i> y <i>Nonsense</i>	25
Figura 10. Mutaciones <i>Frameshift</i> , <i>Insertion</i> y <i>Deletion</i>	26
Figura 11. Mutaciones <i>Splice site</i>	27
Figura 12. Artículos por año desde 1994 a 2018.....	31
Figura 13. Cantidad total de mutaciones de 1994 a 2018 en genes <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	33
Figura 14. Mutaciones por año (1994-2018) para el gen <i>BRCA1</i>	34
Figura 15. Mutaciones por año (1994-2018) para el gen <i>BRCA2</i>	35
Figura 16. Número acumulado de mutaciones descritas desde el año 1994 hasta 2018 en <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	36
Figura 17. Metodologías empleadas para caracterizar variantes VUS en el gen <i>BRCA1</i> del año 2001 al 2018.....	39
Figura 18. Metodologías empleadas para caracterizar variantes VUS en el gen <i>BRCA2</i> del año 2001 al 2018.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

14.1 Tabla de mutaciones <i>BRCA1</i> (1994-2018).....	60
14.2 Tabla de mutaciones <i>BRCA2</i> (1995-2018).....	67
14.4 Tabla de metodologías para el estudio de mutaciones VUS en <i>BRCA1</i>	117
14.5 Tabla de metodologías para el estudio de mutaciones VUS en <i>BRCA2</i>	119

1. RESUMEN

El cáncer de mama asociado con alteraciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* es la primera causa de muerte por neoplasia en mujeres a nivel mundial, es una enfermedad multifactorial que se desarrolla a causa de factores genéticos como no genéticos. *BRCA1* y *BRCA2* son genes supresores de tumores que participan en la reparación de la doble cadena de DNA mediante recombinación homóloga para matener la estabilidad genómica. Cuando estos genes se ven alterados por mutaciones, pierden la habilidad de reparar el DNA y en su lugar se utiliza otro mecanismo de reparación llamado recombinación no homóloga con la desventaja de provocar mutaciones. En las pacientes de cáncer de mama se han detectado mutaciones deletéreas que comprometen la función de *BRCA1/2* generando proteínas no funcionales y afectando la estabilidad genómica en la célula, sin embargo existen un tipo de mutaciones denominadas de significado clínico incierto (VUS) que son controversiales debido a que pueden o no afectar la función de las proteínas *BRCA1/2* y no existe una metodología universal para el estudio de las mismas que pueda aportar información sobre su estado clínico. Se han creado diferentes bases de datos como ClinVar y BIC para almacenar la información de mutaciones caracterizadas y clasificadas a partir de diversas investigaciones permitiendo conocer su estado clínico. El objetivo del proyecto fue evaluar el estudio de las mutaciones VUS de *BRCA1* y *BRCA2* en la literatura publicada, analizar la frecuencia del estudio de mutaciones en *BRCA1/2* desde el año 1994 hasta 2018 y analizar las metodologías implicadas en el estudio de mutaciones VUS a través del tiempo. Los resultados muestran que la frecuencia de mutaciones reportadas en *BRCA1* y *BRCA2* ha incrementado desde 1994 hasta 2018 en cada una de sus categorías (VUS, *InDel*, *Missense*, *Nonsense*, *Splice site* y *Large Rearrangement*). Además, debido a una falta de consenso metodológico para el estudio de mutaciones VUS, su estudio ha decaído a través del tiempo y los artículos publicados sobre evaluación de mutaciones VUS muestran que el uso combinado de metodologías funcionales e *In silico* permiten la clasificación certera de las mismas.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 CÁNCER

El cáncer es la proliferación y propagación celular descontrolada en el cuerpo debido a alteraciones genéticas en las células dentro de las cuales se encuentra la acumulación de cambios genéticos en nucleótidos, genes o cromosomas (Sieber, Heinemann & Tomlinson, 2003) promoviendo la generación de tumores en diferentes tejidos del cuerpo humano (Cooper, 2000).

Una vez que las células tumorales se han establecido en los tejidos del cuerpo promueven la invasión y posteriormente metástasis a través de vasos sanguíneos, permitiendo a las células cancerosas esparcirse a tejidos distantes (Martin, Ye & Sanders, 2013) provocando daños y alterando la estabilidad genómica (Nik, 2019).

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial (GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators, 2016). En los hombres el cáncer de pulmón, próstata y colon son los de mayor incidencia, mientras que en mujeres son el cáncer de mama, pulmón y colon (Ferlay, Colombet & Soerjomataram, 2019). Se han identificado “*Hallmarks*” (Figura 1) que caracterizan a este tipo de células e.g. resistencia a la muerte celular, mantenimiento de la señalización proliferativa, inducción de angiogénesis, inmortalidad replicativa, evasión de supresores de crecimiento, invasión, metástasis, inflamación, evasión de la destrucción inmune e inestabilidad genómica (Hanahan & Weinberg, 2011).

A partir de los *Hallmarks* mencionados, uno de los primeros en generar una alteración en las células es la acumulación de mutaciones en el genoma debido a que estas afectan a genes supresores de tumores y proto-oncogenes lo cual permitirá a la célula evadir procesos de muerte celular o apoptosis permitiendo la proliferación celular descontrolada (Parsons *et al*, 2013). Además, se encuentra relacionada con un proceso denominado angiogénesis por medio del cual las células son capaces de generar vasos sanguíneos necesarios para la obtención de nutrientes y oxígeno (Mousa, 1998).

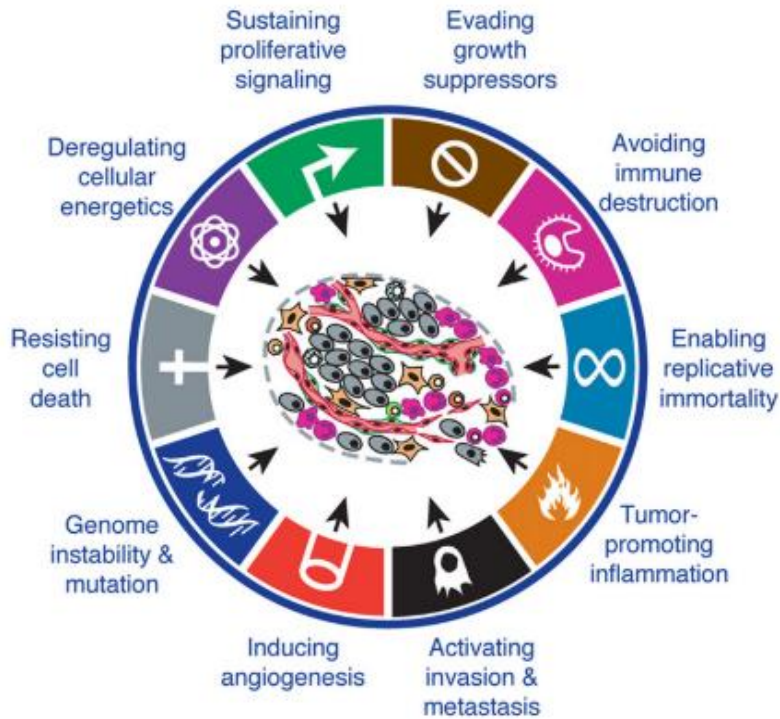


Figura 1. *Hallmarks* que caracterizan a las células cancerosas y permiten la formación de tumores en los tejidos: *Sustaining proliferative signaling* (Mantener la señalización proliferativa), *Evading growth suppressors* (Evasión de supresores de crecimiento), *Avoiding immune destruction* (Evitando la destrucción inmune), *Enabling replicative immortality* (Habilitando inmortalidad replicativa), *Tumor promoting inflammation* (Tumor que promueve la inflamación), *Activating invasión & metastasis* (Activando invasión y metástasis), *Inducing angiogenesis* (Inducción de angiogénesis), *Genome instability & mutation* (Inestabilidad genómica y mutaciones), *Resisting cell death* (Resistencia a la muerte celular), *Deregulating celular energetics* (Desregulación de energía celular) (Hanahan & Weinberg, 2011).

2.2 GENES SUPRESORES DE TUMORES Y ONCOGENES

Para desarrollar cáncer se requiere de una sucesión de eventos que necesita décadas para establecerse, durante este proceso las células cancerosas adquieren alelos mutantes de diferentes genes (Hahn & Weinberg, 2002). Estas alteraciones genómicas en las células cancerosas promueven la ganancia de función de oncogenes y pérdida de función de los genes supresores de tumores permitiendo la desregulación del ciclo celular, favoreciendo así la proliferación y formación de un tumor (Chow, 2010).

Los genes supresores de tumores o anti-oncogenes son genes que controlan la proliferación, el proceso de replicación del ciclo celular, apoptosis y estabilidad genómica (Mendelsohn *et al*, 2008) mientras que los oncogenes son versiones alteradas de los proto-oncogenes (genes no mutados implicados en procesos de la regulación celular), estos procesos se ven alterados debido a translocaciones cromosómicas y mutaciones, promoviendo la inestabilidad genómica y proliferación celular, dando como resultado carcinogénesis. Los oncogenes pueden ser activados por una sola mutación en cualquiera de los 2 alelos de un gen a diferencia de los genes supresores de tumores que son inactivados por medio de deleciones en ambos alelos del gen (Lam & Schmidt, 2012).

Estas mutaciones se originan a partir de daños en el DNA y son ocasionados por: agentes ambientales, luz ultravioleta, radiación ionizante y químicos genotóxicos o por la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que son generados durante los procesos de la respiración, peroxidación de lípidos y la hidrólisis espontánea de los nucleótidos (Giglia, Zotter & Vermeulen, 2011), por lo cual es importante reparar el DNA dañado mediante mecanismos de reparación, ya sea a una sola cadena de DNA o ambas cadenas, permitiendo recuperar la estabilidad genómica en la célula (Lindahl & Barnes, 2000; Friedberg, 2008).

2.3 REPARACIÓN DE DAÑO A DNA

Para poder reparar daños en el DNA es necesario que actúen diferentes mecanismos de reparación. Para una sola cadena se utilizan los siguientes mecanismos: *Base excision repair* (BER), *Mismatch repair* (MMR) y *Nucleotide excision repair* (NER) (Figura 2).

El mecanismo BER se encarga de reparar bases de nucleótidos dañadas, sin distorsionar de forma significativa la disposición de las cadenas de DNA, los genes asociados a este tipo de reparación son: DNA glicosilasa, *APE1*, *XRCC1*, *PNKP*, *Tdp1*, *APTX*, DNA polimerasa β , *FEN1*, DNA polimerasa γ o ϵ , *PCNA-RFC* y *PARP*. El mecanismo se inicia realizando lesiones específicas por medio de DNA glicosilasas que permiten remover la base dañada escindiendo el enlace N glucosídico de la base, permitiendo crear un sitio apurínico o apirimídico, este sitio será procesado por *APE1* generando una fosfato desoxirribosa 5' y por medio de *AP* liasa dejando un producto de eliminación 3',

posteriormente el nucleótido apropiado es insertado por medio de una DNA polimerasa β y ligado por una DNA ligasa (D'Andrea, 2008; Dexheimer, 2014).

El mecanismo MMR actúa posterior a la replicación sobre bases mal incorporadas y que no han sido corregidas por la actividad conocida como *proof reading* de las polimerasas. Los genes involucrados en este mecanismo de reparación son: *MutS* (*MSH2-MSH6*), *MutS* (*MSH2-MSH3*), *MutLalfa* (*MLH1-PMS2*), *MutLbeta* (*MLH1-PMS2*), *MutLgamma* (*MLH1-MLH3*), *Exo1* y *PCNA-RFC*. El proceso de reparación se divide en 3 pasos: reconocimiento de la base mal pareada por medio de *MutS*, escisión de la cadena que contiene el error y degradándola creando un "gap" por medio de *Exo1* y finalmente el proceso de síntesis que es llevado a cabo por la DNA polimerasa δ (Dexheimer, 2014).

NER es un mecanismo que ayuda a remover una amplia variedad de lesiones que alteran la cadena de DNA, un ejemplo de lesiones es el generado por los dímeros de pirimidina de ciclobutano (CPD) y fotoproductos 6-4 producidos por los componentes UV de los rayos solares. Este tipo de reparación es más complejo que BER, requiere alrededor de 30 diferentes proteínas para reparar lesiones en el DNA y los pasos para reparar el DNA son: reconocer el sitio de daño, abrir la doble cadena cerca del sitio de la lesión, escindir un pequeño segmento de la cadena de DNA (de 2 a 20 bases) abarcando la lesión y por último, síntesis de reparación secuencial y ligación de las cadenas. Los genes asociados a este mecanismo de reparación son: *XPC-Rad23B-CEN2*, *UV-DDB* (*DDB1-XPE*) *CSA*, *CSB*, *TFIIH*, *XPB*, *XPD*, *XPA*, *RPA*, *XPG*, *ERCC1-XPF*, DNA polimerasas γ ó ϵ (Dexheimer, 2014).

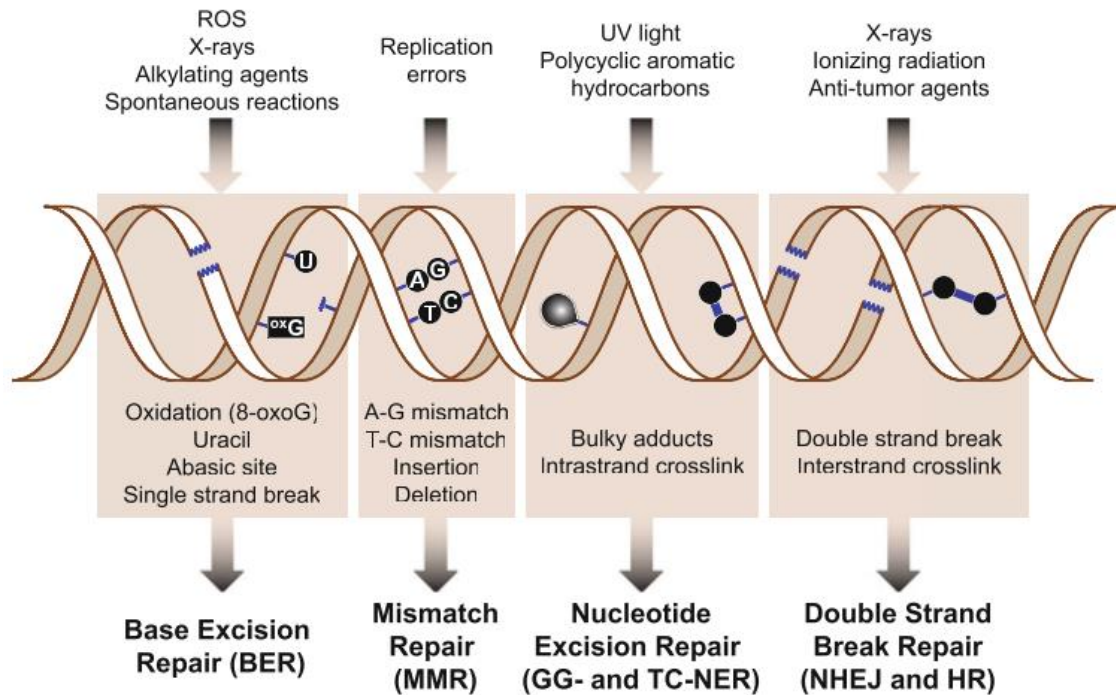


Figura 2. Mecanismos de reparación de una sola cadena de DNA y causas que originan el daño a la secuencia: *Base excision repair* (Reparación por escisión de bases) se activa por lesiones en el DNA, ya sea por ROS, rayos X, agentes alquilantes o reacciones espontáneas; *Mismatch repair* (Reparación por desapareamiento de bases) repara cuando existen errores en la replicación; *Nucleotide excision repair* (Reparación por escisión de nucleótidos) se activa por lesiones en el DNA a causa de luz UV e hidrocarburos aromáticos policíclicos. Mecanismos de reparación de doble cadena (*Double strand break repair*) NHEJ y HR, se activan por lesiones causadas por rayos X, radiación ionizante y agentes antitumorales (Dexheimer, 2014).

Para reparar daños en la doble cadena de DNA se utilizan los mecanismos: *Non Homologous Recombination* (Recombinación no homóloga) (NHEJ) y *Homologous Recombination* (Recombinación homóloga) (HR).

El mecanismo (NHEJ) (Figura 3) se lleva a cabo por factores esenciales que deben ser reclutados en los sitios donde se encuentra la alteración en la doble cadena de DNA. Inicialmente se necesita la unión del heterodímero *Ku70/Ku80* (Ku) en los sitios terminales del DNA donde se encuentra el daño, una vez unidos, el complejo Ku-DNA recluta a una subunidad llamada (DNA-PKcs) para generar la holoenzima DNA-PK la cual tiene actividad cinasa. El reclutamiento de DNA-PKcs permite la translocación de Ku a lo largo del DNA, permitiendo que el complejo DNA-PKcs tenga contacto con los sitios terminales del DNA donde se encuentra el daño. La unión de DNA-PKcs en los extremos opuestos de la rotura de doble cadena de DNA promueve la unión de las dos

moléculas de DNA y así reparar el daño en la cadena doble de DNA (Dexheimer, 2014). Este proceso tiene la desventaja de la posible generación de mutaciones (*Insertions/Deletions*) en la secuencia del DNA (Daum, Peretz & Laufer, 2018).

El mecanismo (HR) (Figura 3) consta de 3 etapas esenciales: presinapsis, sinapsis y postsinapsis. En la presinapsis, los extremos del DNA donde se encuentra la rotura 5' a 3' se lleva a cabo un proceso denominado resección del DNA donde se generan moléculas 3' de una sola cadena, el comienzo de la resección inicia por un complejo llamado *MRN (Mre-11-Rad50-Nbs1)* y *CtIP (RBBP8)* que permite eliminar los extremos 5' en cualquier lado de la rotura del DNA, generando extremos 3' cohesivos de una sola cadena (*overhangs*) (Dexheimer, 2014).

El siguiente paso es la sinapsis en la cual *RPA* se une a las hebras 3' para eliminar estructuras secundarias que pudieran afectar el mecanismo de reparación y la unión de la recombinasa *Rad51*. Una vez unida *Rad51* junto con proteínas como *Rad52*, *BRCA1*, *BRCA2* y un conjunto de proteínas denominado parálogo de *Rad51* (*RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *XRCC2* y *XRCC3*) *Rad51* busca la secuencia de DNA homóloga a la secuencia de la rotura de doble cadena del DNA, este proceso es el mecanismo central de reparación. Una vez que la secuencia ha sido localizada, *Rad51* permite la invasión de las cadenas en la cual la cadena de DNA dañada se empalma con la doble cadena de DNA molde (cromátida hermana) (Dexheimer, 2014). Por último, la etapa de síntesis o postsinapsis se lleva a cabo mediante una DNA polimerasa seguido de una ligación por DNA ligasa I creando la estructura de Holliday (Dexheimer, 2014).

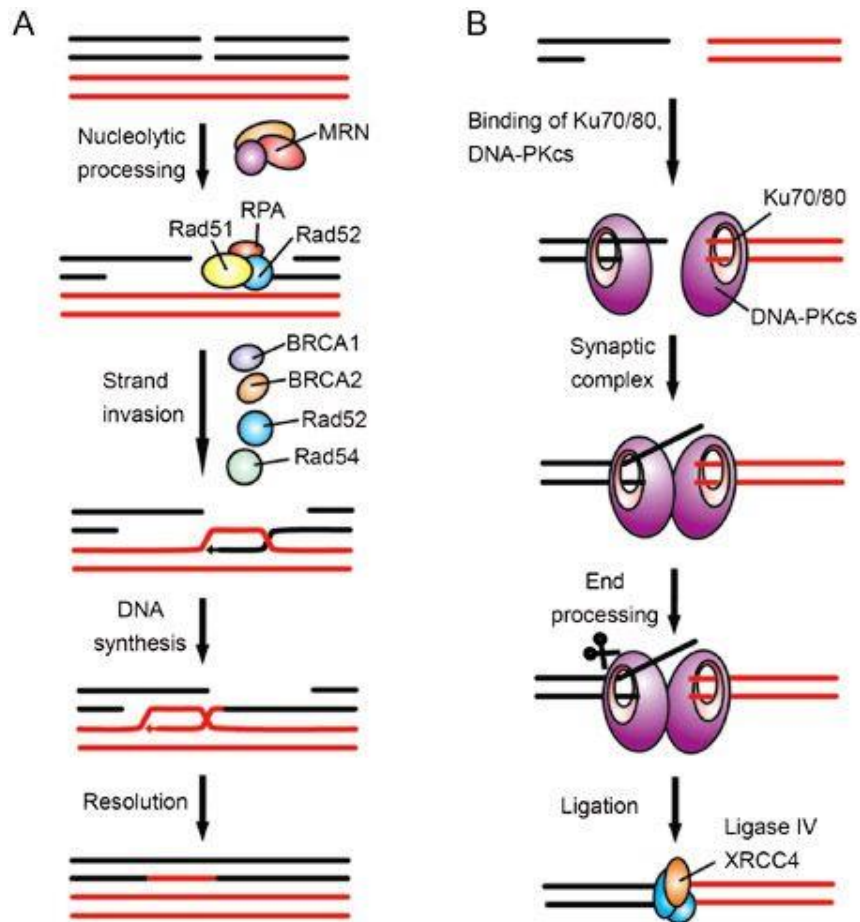


Figura 3. Mecanismos de reparación para daños en la doble cadena de DNA: A) *Homologous Recombination* (Recombinación homóloga) *Nucleolytic processing* (Procesamiento nucleolítico), *Strand invasion* (Invasión de cadena), *DNA synthesis* (Síntesis de ADN), *Resolution* (Resolución) B) *Non Homologous Recombination* (Recombinación no homóloga), *Binding of Ku70/80, DNA-PKcs* (Unión de Ku70/80 y DNA-PKcs), *Synaptic complex* (Complejo sináptico), *End processing* (Fin del procesamiento), *Ligation* (Ligación) (Weterings & Chen, 2008).

Cuando el daño al DNA, ya sea en una o ambas cadenas no logra repararse mediante los mecanismos de reparación mencionados se genera en la célula inestabilidad genómica, promoviendo mutaciones en la célula y afectando a genes esenciales para la proliferación, regulación del ciclo celular, apoptosis y promoción del desarrollo tumoral (Loeb, 1991).

2.4 INESTABILIDAD GENÓMICA

La inestabilidad genómica en las células deriva de alteraciones de un solo nucleótido por medio de mutaciones a genes supresores de tumores (Pikor, Thu, Vucic & Lam, 2013), promoviendo variaciones en el número y estructura de cromosomas, conocido como inestabilidad cromosómica (Lengauer, Kinzler & Vogelstein, 1998). Además también mutaciones que afecten a genes como *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53* y *CHEK2* en las células pueden afectar procesos importantes como reparación del DNA y ciclo celular promoviendo la inestabilidad genómica, aumentando el riesgo de generar cáncer de mama (Kwei, Kung, Salari, Holcomb & Pollack, 2010).

La integridad celular depende de la estabilidad genómica, misma que permite prevenir errores en la replicación del DNA y las respuestas a estrés genotóxico como el generado por las especies reactivas de oxígeno (ROS), el metabolismo celular y carcinógenos exógenos como luz ultravioleta, radiación ionizante o agentes químicos que dañan al DNA, esta estabilidad genómica depende de la expresión coordinada de muchos genes (Yixin Yao, 2014).

3. CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama es una enfermedad multifactorial en la cual las células de la mama proliferan de manera anormal generando un tumor, esto es debido a la interacción de factores genéticos y no genéticos (Paraskevi Apostolou, Fostira & Baudi, 2013). A nivel mundial es la principal causa de muerte por neoplasia en las mujeres (Ferlay *et al*, 2018) mientras que en hombres puede presentarse pero con una incidencia cien veces menor que en mujeres (Makki, 2015). Este tipo de cáncer afecta a casi 2.1 millones de mujeres cada año, se estima una mortalidad equivalente al 15% de todas las muertes asociadas con un tipo de cáncer (Sun *et al*, 2017). De un 100% de predisposición a cáncer de mama, alrededor del 70% pertenece a cáncer de forma esporádica (no hereditarios) 5% son hereditarios debido a mutaciones en genes como *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1*, *PALB2* y un 25% son hereditarios vinculados con mutaciones en genes específicos como *BRCA1* y *BRCA2* (Willems, 2007).

El cáncer de mama hereditario relacionado a los genes *BRCA* es más agresivo que el cáncer de mama de forma esporádica debido a que el cáncer hereditario relacionado con *BRCA1* es por lo

regular triple negativo (ausencia de receptores de estrógenos (ES), progesterona (PR) y HER2) y *BRCA2* relacionado con un grado histológico más alto que en el cáncer de mama esporádico (Armes *et al*, 1998; Lakhani *et al*, 1998; Antoniou *et al*, 2003; Southey *et al*, 2011).

3.1 CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE CÁNCER DE MAMA Y SUBTIPOS

El cáncer de mama puede categorizarse como carcinoma *in situ* y carcinoma invasivo, a su vez el carcinoma *in situ* puede sub-clasificarse en ductal o lobular. El carcinoma ductal *in situ* es más común que el carcinoma lobular *in situ*. Los tipos de carcinoma invasivo pueden clasificarse en ductal infiltrante, lobular invasivo, ductal/lobular, mucinoso (coloide), tubular, carcinoma medular y papilar. El carcinoma ductal infiltrante es uno de los subtipos más comunes con un porcentaje del 70 a 80%, este se puede sub-clasificar en grado 1 (moderadamente diferenciado), grado 2 (poco diferenciado) y grado 3 (basado en los niveles de pleomorfismo nuclear, formación glandular/tubular e índice mitótico) (Malhotra, Zhao, Band & Band, 2010).

3.2 CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE CÁNCER DE MAMA Y SUBTIPOS

La clasificación molecular toma en cuenta el tipo de receptores que presenta la célula para cada hormona: estrógeno (ER+/-) progesterona (PR+/-) y factor de crecimiento epidermal humano (HER+/-) (Perou *et al*, 2000). Divide a los tumores en subtipos: Luminal A, Luiminal B, HER2+ y *Basal-like* o triple negativo. El Luminal A se caracteriza por ser ER y/o PR positivo y HER2 negativo, Luminal B es ER y/o PR positivo y la expresión de HER2 positiva, HER2+ es positivo para receptor HER2 y negativo para receptores de estrógenos y progesterona, por último el tipo basal que es negativo para los 3 receptores ER,PR y HER2 (Makki, 2015).

3.3 EPIDEMIOLOGÍA

La incidencia a nivel mundial de los principales tipos de cáncer (Figura 4) son: ovario (6.6/100,000), tiroides (6.7/100,000), hígado (9.3/100,000), estómago (11.1/100,000), cervicouterino (13.1/100,000), colorrectal (19.7/100,000), pulmón (22.5/100,000), próstata (29.3/100,000) y cáncer de mama que es el de mayor incidencia (46.3/100,000), además es el segundo tipo de cáncer con mayor mortalidad (13.0/100,000) mientras que el tipo de cáncer con mayor mortalidad es el de pulmón (18.6/100,000) (Ferlay *et al*, 2018).

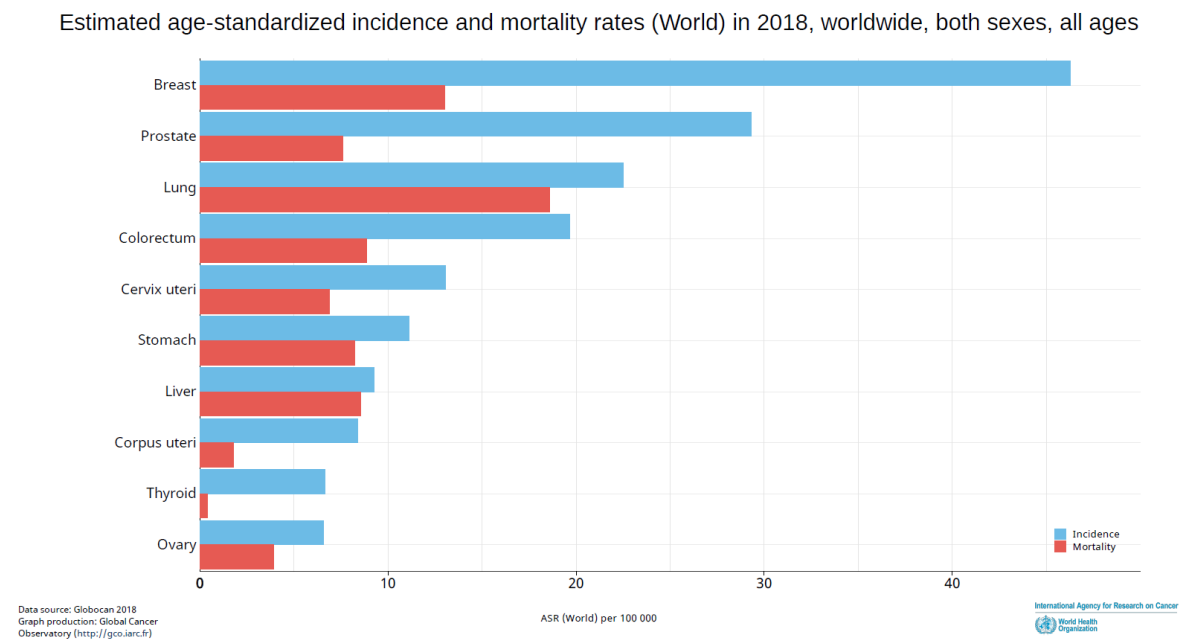


Figura 4. Incidencia y mortalidad de los principales tipos de cáncer a nivel mundial en hombres y mujeres del 2018. Cáncer de: *Breast* (Mama), *Prostate* (Próstata), *Lung* (Pulmón), *Colorectum* (Colorrectal), *Cervix uteri* (Cervicouterino), *Stomach* (Estómago), *Liver* (Hígado), *Thyroid* (Tiroides), *Ovary* (Ovario) (Ferlay *et al*, 2019).

3.3.1 INCIDENCIA Y MORTALIDAD EN HOMBRES

El tipo de cáncer con mayor incidencia en los hombres es el cáncer de pulmón, seguido del cáncer de próstata que está relacionado con mutaciones en el gen *BRCA2*. Al igual que en cáncer de próstata, *BRCA2* se encuentra alterado en cáncer de mama, por lo cual el daño en este gen no es causa de un solo tipo de cáncer (Figura 5) (Filippini & Vega, 2013).

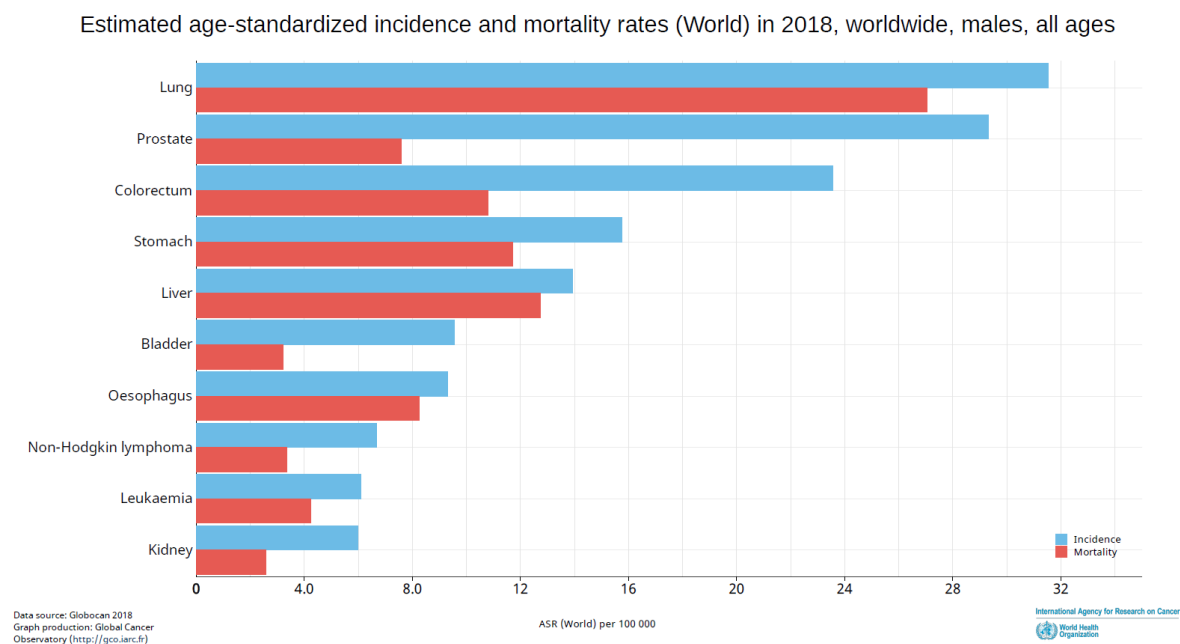


Figura 5. Principales tipos de cáncer a nivel mundial en hombres, incidencia y mortalidad. Cáncer de: *Lung* (Pulmón), *Prostate* (Próstata), *Colorectum* (Colorrectal), *Stomach* (Estómago), *Liver* (Hígado), *Bladder* (Vejiga), *Oesophagus* (Esófago), *Non Hodgkin Lymphoma* (Linfoma no Hodgkin), *Leukemia* (Leucemia), *Kidney* (Riñón) (Ferlay *et al*, 2019).

3.3.2 INCIDENCIA Y MORTALIDAD EN MUJERES

El tipo de cáncer con mayor incidencia y mortalidad en las mujeres es el cáncer de mama relacionado con alteraciones en los genes supresores de tumores *BRCA1* y *BRCA2* (Figura 6) (Filippini & Vega, 2013).

Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2018, worldwide, females, all ages

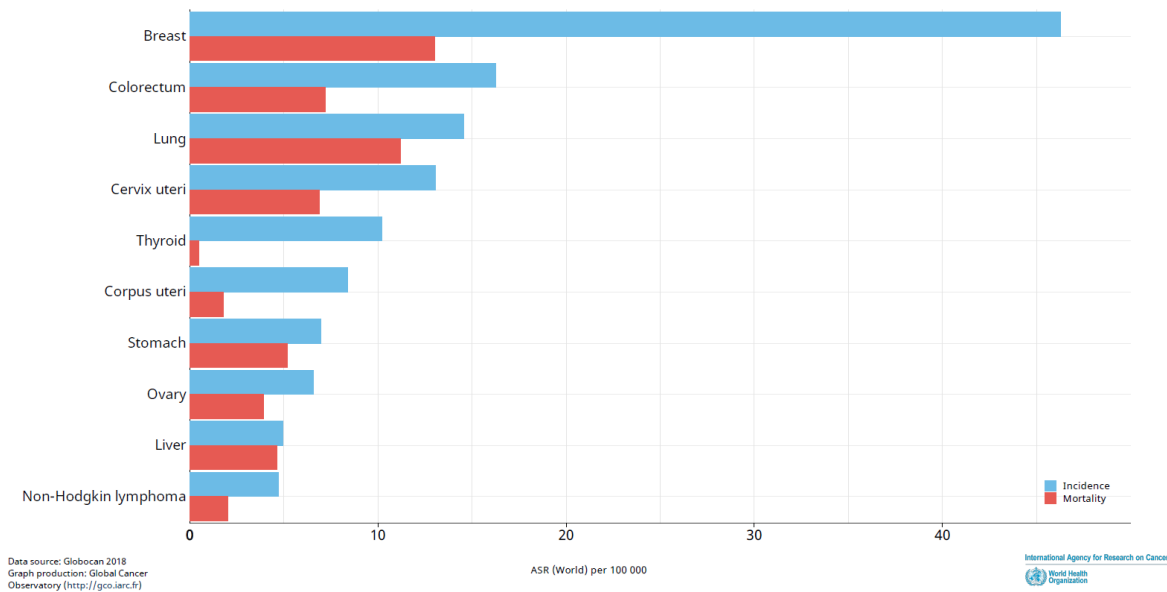


Figura 6. Principales tipos de cáncer a nivel mundial en mujeres, incidencia y mortalidad. Cáncer de: *Breast* (Mama), *Colorectum* (Colorrectal), *Lung* (Pulmón), *Cervix uteri* (Cervicouterino), *Thyroid* (Tiroides), *Corpus uteri* (Cuerpo uterino), *Stomach* (Estómago), *Ovary* (Ovario), *Liver* (Hígado) y Non Hodgkin lymphoma (Linfoma no Hodgkin) (Ferlay *et al*, 2019).

3.4 GENES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE CÁNCER DE MAMA

Los genes implicados en la predisposición al cáncer de mama pueden dividirse en baja, moderada y alta penetrancia (Filippini & Vega, 2013). Los genes de baja penetrancia son: *CASP8*, promueve la apoptosis extrínseca e inhibe la activación del factor regulador de interferón 3 (Papatriantafyllou, 2013). *TNRC9*, implicado en la modificación de la estructura de la cromatina y regula la transcripción dependiente de Ca^{+2} en las neuronas (Shan *et al*, 2013). *MAP3K1*, participa en la respuesta celular a *FAS* así como en la vía NF kappa (Morrell *et al*, 2018). *LSP1*, codifica una proteína de unión a F actina que es expresada en células hematopoyéticas y endoteliales (Tang *et al*, 2016). *FGFR2*, promueve el proceso tumorigénico mediando señales mitogénicas y de supervivencia, promueve invasión y angiogénesis (Zhu *et al*, 2018).

Los genes de moderada penetrancia son: *CHEK2*, actúa como supresor de tumores regulando el ciclo celular, apoptosis en respuesta al daño en DNA (Apostolou & Papatotiriou, 2017). *ATM*, participa en la reparación de la doble cadena de DNA inducida por radiación ionizante, estrés oxidativo y recombinación meiótica (Choi, Kipps & Kurzrock, 2016). *PALB2*, es un gen esencial en la

reparación del DNA interactuando con *BRCA2* y *RAD51*, llevando a cabo la reparación por recombinación homóloga (Nepomuceno *et al*, 2017).

Los genes de alta penetrancia son: *PTEN*, es un gen supresor de tumores, regulador negativo de la vía de señalización *PI3K/ATK*, este gen puede afectar la apoptosis y proliferación (Li *et al*, 2017). *TP53*, codifica una proteína llamada *P53* que funciona como supresor de tumores regulando la división celular, supervivencia celular e integridad genómica (Olivier *et al*, 2006). *STK11 (LKB1)*, produce una enzima llamada serina/treonina cinasa 11 que funciona como supresor de tumores manteniendo el crecimiento y división celular regulada (Filippini & Vega, 2013). *BRCA1* Y *BRCA2*, se encuentran entre los genes que participan en el proceso de recombinación homóloga manteniendo la integridad genómica celular (Capoluongo, 2016).

3.5 *BRCA1* y *BRCA2*

BRCA1 (Figura 7) es un gen supresor de tumores que codifica una proteína de 1863 aminoácidos (Petrucci, Daly & Feldman, 2010), participa en la reparación del DNA por medio de recombinación homóloga, arresto del ciclo celular e ubiquitinización de proteínas (Narod & Foulkes, 2004). El gen se localiza en el cromosoma 17 (17q21) y codifica un mRNA que contiene 24 exones (Petrucci *et al*, 2010; Wu, Wu & Liang, 2017). La proteína tiene 2 dominios funcionales, en el extremo amino presenta el dominio RING-FINGER que interactúa con la proteína *BARD1* formando un dímero cuya función es la ubiquitinización de proteínas, presenta 2 señales de localización nuclear (NLS) dónde interactúa con las proteínas *P53*, *MYC*, *RB* y *ZBRK1*. Presenta un sitio de unión a DNA el cual le permite unir y formar complejos con proteínas relacionadas a la reparación del DNA (*MRE11*, *RAD50*, *NBS1*, *MDC1*, *ATM*, *CHK2* y *CDK2*), presenta dominios *SQ-cluster* (SCDs) por medio de los cuales la proteína *ATM* fosforila a *BRCA1* y en el extremo carboxilo el dominio BRCT (*Breast C-Terminal*) que interactúa con las proteínas *BRCA2*, *P53*, RNA pol II, *BACH1* y *RB* el cual es crucial para llevar a cabo la reparación del DNA por medio de recombinación homóloga (Narod & Foulkes, 2004).

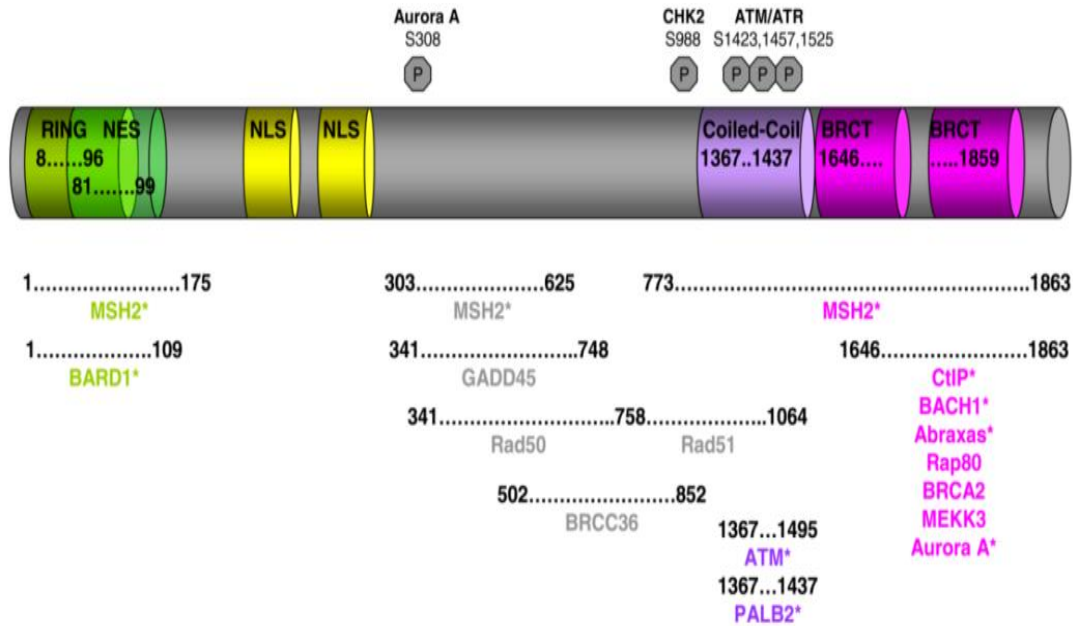


Figura 7. Estructura de *BRCA1* donde se muestran los dominios RING/NLS/BRCT y regiones de interacción con otras proteínas involucradas en la recombinación homóloga y en líneas punteadas el tamaño aproximado de aminoácidos donde interactúan proteínas para llevar a cabo la reparación del DNA (Christou & Kyriacou, 2013).

BRCA2 (Figura 8) es un gen supresor de tumores con una región codificante de 27 exones, produce una proteína de 3814 aminoácidos (Petruccioli *et al*, 2010). Este gen se encuentra localizado en el cromosoma 13 (13q12.3) (Wu *et al*, 2017), su principal función en las células es la reparación de la doble cadena de DNA mediante recombinación homóloga (Narod & Foulkes, 2004) y protección a la degradación de cadenas de DNA nacientes de la horquilla de replicación (Feng & Jasin, 2017). La proteína presenta 2 dominios, en la parte intermedia se localizan 8 repeticiones denominadas BRC por medio de las cuales interactúan con la proteína *RAD51* permitiendo llevar a cabo su función ubiquitín ligasa E3 y en la región carboxilo presenta 2 señales de localización nuclear (NLS) a las cuales se une *DSS1* formando un dímero y permitiendo que la reparación del DNA se mantenga regulada (Narod & Foulkes, 2004).

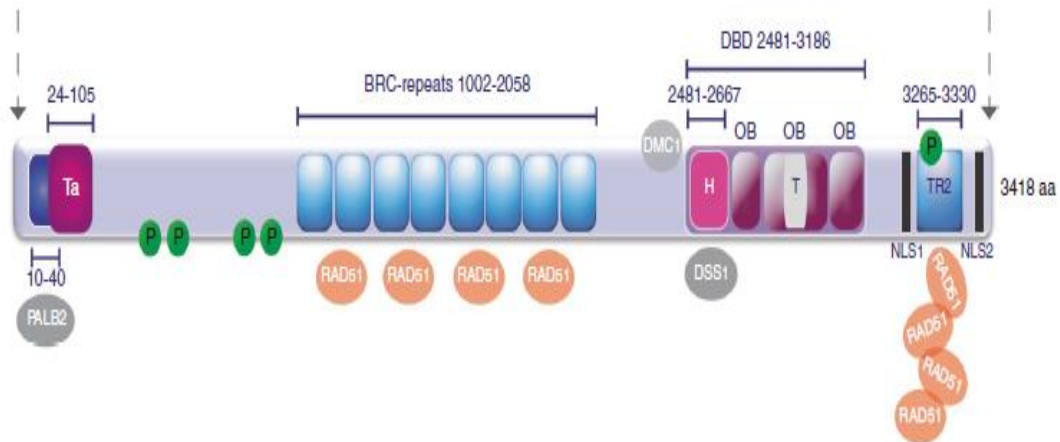


Figura 8. Estructura de *BRCA2* mostrando dominios BRC/NLS e interacción con proteínas esenciales para llevar a cabo la recombinación homóloga (Mesman *et al*, 2018).

Cuando *BRCA1/2* se ven alterados por mutaciones pierden la capacidad de llevar a cabo el mecanismo de recombinación homóloga (HR), crucial para mantener la integridad genómica. Como consecuencia, se utiliza otro proceso denominado recombinación no homóloga (NHEJ) el cual repara daños en la doble cadena de DNA pero promueve la inserción o deleción de nucleótidos en la secuencia reparada, generando inestabilidad genómica (Sishc & Davis, 2017).

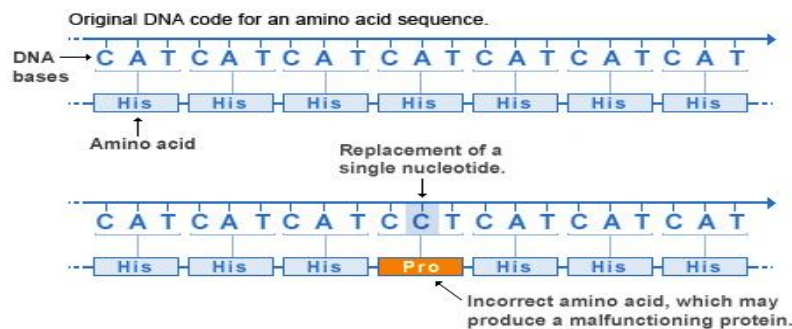
Mutaciones en el gen *BRCA1* promueven la generación de cáncer de mama con una probabilidad del 60% al 80% en las mujeres, además pueden aumentar el riesgo de desarrollar cáncer de ovario en mujeres y de próstata en los hombres. Las mutaciones en el gen *BRCA2* afectan al 35% de familias con cáncer de mama en mujeres y al igual que *BRCA1* aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de ovario en mujeres y cáncer de mama en hombres. Las mutaciones en estos genes tienen un riesgo elevado de desarrollar otros tipos de cáncer como el de colon, pancreático, melanoma y gástrico (Mehrgou & Akouchekian, 2016). Las mutaciones que pueden afectar a los genes *BRCA1* y *BRCA2* son *Missense*, *Nonsense*, *Splice site*, *Insertions*, *Deletions*, *Large Rearrangement* y *VUS* (variantes de significado clínico incierto) (Lindor, Guidugli & Wang, 2012; Karami, Mehdipour & Tari, 2013; Mehrgou & Akouchekian, 2016).

4. MUTACIONES EN *BRCA1* y *BRCA2*

Existen diferentes tipos de mutaciones que alteran estos genes, estas mutaciones pueden ser clasificadas de diferentes formas e.g. cambio de aminoácidos a nivel de proteína y cambios de nucleótidos en RNA o DNA, pueden ser caracterizadas como mutaciones intrónicas, por codones de paro (*Nonsense*), deleciones (Antonarakis, 1998; den Dunnen & Antonarakis, 2001).

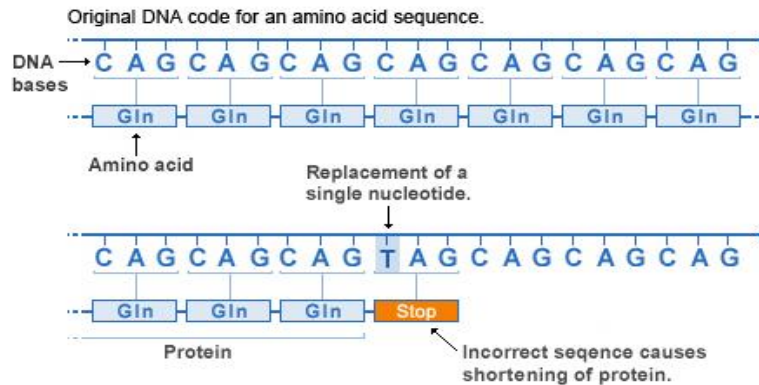
Missense: Es el cambio de un nucleótido en la secuencia de DNA, generando un cambio de aminoácido por otro diferente en la proteína producida por un gen (Figura 9-A). *Nonsense*: Es el cambio de un nucleótido, alterando el aminoácido y provocando un codón de paro prematuro, dando como resultado una proteína trunca no funcional (Figura 9-B) (National Library of Medicine, 2019).

A) Missense mutation



U.S. National Library of Medicine

B) Nonsense mutation



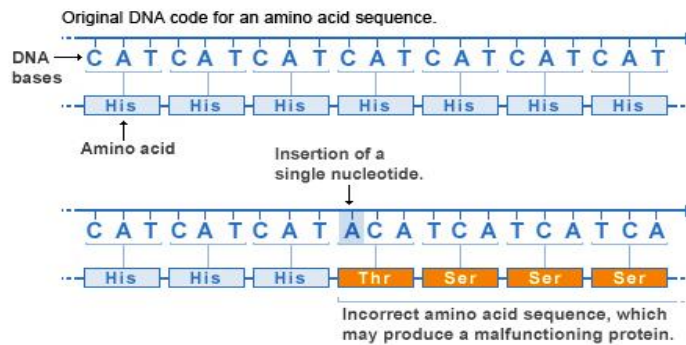
U.S. National Library of Medicine

Figura 9. Mutaciones A) *Missense* (Cambio de sentido) *Incorrect amino acid which may produce a malfunctioning protein* (Secuencia de aminoácidos incorrecta la cual puede producir una proteína no funcional) B) *Nonsense* (Sin sentido) *Incorrect sequence causes shortening of protein* (La secuencia incorrecta causa el acortamiento de la proteína). En las figuras se muestran alteraciones de un solo nucleótido en la secuencia genómica. *Original DNA code for an amino acid sequence* (Código de ADN original para una secuencia de aminoácido), *DNA bases* (Bases de ADN), *Amino acid* (Aminoácido), *Replacement of a single nucleotide* (Reemplazo de un solo nucleótido) (National Library of Medicine, 2019).

Insertion: Es la adición de una secuencia de DNA (1 a 12 nucleótidos), aumentando el número de pares de bases y generando que la proteína producida por el gen sea no funcional (Figura 10-A).
Deletion: Es la remoción de una secuencia de DNA (1 a 12 nucleótidos), disminuyendo el número de pares de bases en la secuencia y provocando que la proteína no sea funcional (Figura 10-B).
Frameshift: Es la inserción o deleción de pocos nucleótidos provocando que se recorra el marco abierto de lectura y así alterando la secuencia de aminoácidos y generando una proteína no funcional (Figura 10-C) (National Library of Medicine, 2019).

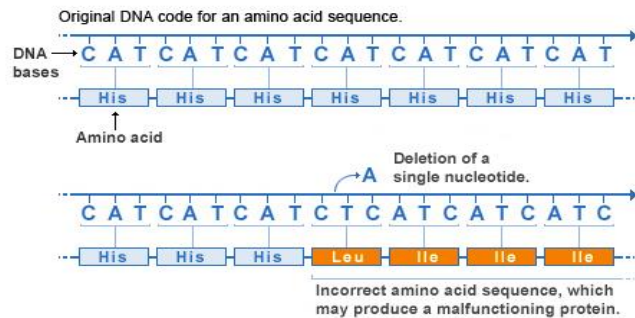
A)

Insertion mutation



U.S. National Library of Medicine

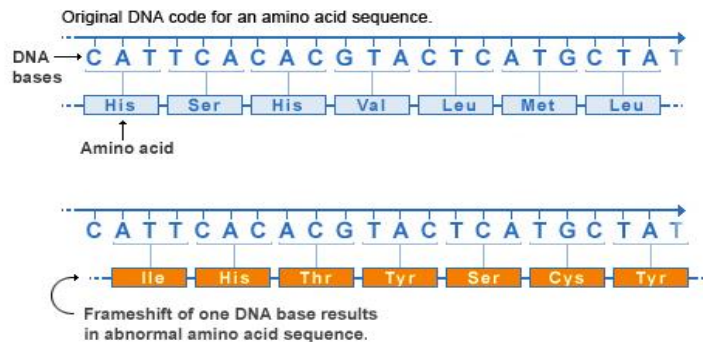
B) Deletion mutation



U.S. National Library of Medicine

C)

Frameshift mutation



U.S. National Library of Medicine

Figura 10. Variantes de un solo nucleótido que genera el desplazamiento del marco de lectura, afectando la secuencia genómica A) *Insertion* (Inserción) *Insertion of a single nucleotide* (Inserción de un solo nucleótido), *Incorrect amino acid sequence which may produce a malfunctioning protein* (Secuencia de aminoácidos incorrecta la cual puede producir una proteína no funcional) B) *Deletion* (Delección) *Deletion of a single nucleotide* (Delección de un solo nucleótido) C) *Frameshift* (Desplazamiento del marco de lectura) *Frameshift of one DNA base results in abnormal amino acid sequence* (Desplazamiento del marco de lectura de una sola base de ADN resulta en una secuencia de aminoácidos anormal).

Original DNA code for an amino acid sequence (Código de ADN original para una secuencia de aminoácido), *DNA bases* (Bases de ADN), *Amino acid* (Aminoácido) (National Library of Medicine, 2019).

Splice site: Es el cambio de un nucleótido en las secuencias donadoras yceptoras (GU/AG) en los intrones o inserciones y deleciones en las secuencias potenciadoras (ISE/ESE) o silenciadoras (ISS/ESS) tanto de intrones como de exones, provocando que los intrones y/o los exones no sean reconocidos por la maquinaria de *splicing*, dando como resultado la generación de diferentes isoformas que al ser traducidas pueden producir una proteína no funcional (Figura 11).

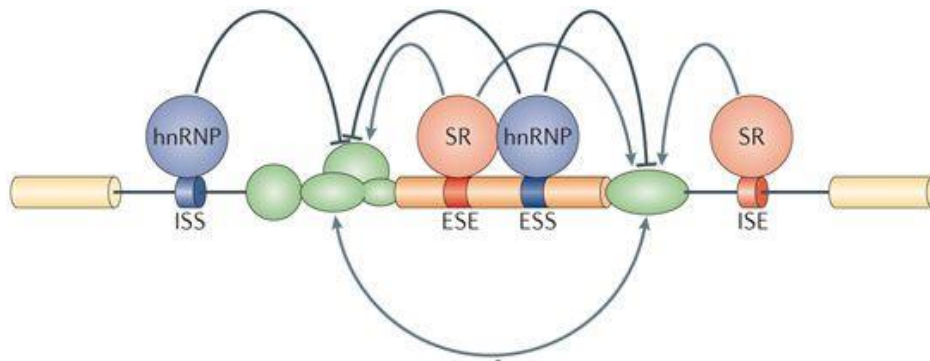


Figura 11. Alteración en secuencias (GU/AG; ISS/ISE) y (ESE/ESS) conservadas en intrones y exones, respectivamente, afectando la interacción de proteínas hnRNP y SR con secuencias intrónicas y exónicas (ISS, ESE, ESS, ISE) en el *splicing* (Kornbliht *et al*, 2013).

Large rearrangement: Es una inserción o deleción de más de 12 nucleótidos. VUS: Este tipo de mutación permanece poco clara, son denominadas variantes de significado clínico incierto en las cuales se incluyen mutaciones *Missense*, *InDel* y sinónimas (esta última no provoca un cambio en los aminoácidos), alteraciones en las secuencias intermedias no codificantes (IVS) o en las regiones exónicas sin traducir (UTRs) (Borg *et al*, 2011).

Del conjunto de mutaciones descritas, las mutaciones deletéreas más comunes asociadas a *BRCA1* son mutaciones *Frameshift* (Kais, Chiba, Ishioka & Parvin, 2012), este tipo de mutaciones se heredan a partir de la línea germinal de manera autosómica dominante las cuales contribuyen a desarrollar enfermedades hereditarias como es el cáncer de mama. No es la única forma de adquirir este tipo de mutaciones, estas pueden adquirirse a lo largo de la vida (forma esporádica)

(Wu *et al*, 2017) sin embargo el que exista una mutación en uno de estos genes no implica necesariamente desarrollar cáncer de mama.

4.1 DISTRIBUCIÓN DE MUTACIONES

Existen diferentes tipos de descendencia étnica e.g. Islandesa o Franco Canadiense que pueden presentar mutaciones en *BRCA1/2* no obstante existe otro tipo de descendencia denominada judía Ashkenazí, se caracteriza por ser más prevalente a mutaciones fundadoras en los genes *BRCA1/2*, se ha visto que estas mutaciones representan la mayor cantidad de mutaciones identificadas (Stadler *et al*, 2012; Lynce & Isaacs, 2016).

En mujeres con descendencia Ashkenazí, *BRCA1* es el principal gen involucrado en el desarrollo del cáncer de mama, mientras que en mujeres italianas el gen dominante es *BRCA2* y las mutaciones que se encuentran frecuentemente alterando estos genes son: *Insertion*, *Deletion*, *Nonsense*, *Missense* y *Splice site* (Mehrgou & Akouchejian, 2016).

Las mutaciones fundadoras más recurrentes en personas con descendencia Ashkenazí son 185delAG y 5382insC en *BRCA1* y 6174delT en *BRCA2*. La prevalencia de mutaciones en los genes *BRCA1* Y *BRCA2* difiere entre poblaciones, se ha mostrado que la prevalencia de mutaciones en *BRCA1* en pacientes con cáncer de mama finlandesas es del 0.4% mientras que en Suecia es del 7% (Teng, Zheng, & Wang, 2008).

En México se ha reportado una mutación fundadora clasificada como *Large Rearrangement* que provoca la delección del exón 9 al 12 en *BRCA1* (9-12 del *BRCA1*) (Weitzel, Lagos & Blazer , 2005). En América Latina es la primera mutación que presenta de manera importante un efecto fundador en el país (Rebbeck, Friebel & Friedman, 2018). Esta mutación se descubrió en el año 2005 estudiando a una población con ancestría mexicana en su mayoría, con riesgo de cáncer hereditario (Villareal, Álvarez & Pérez, 2015) y en el año 2014 se realizó un análisis molecular para detectar mutaciones en *BRCA1/2* en pacientes mexicanas con cáncer de mama, determinando que la mutación 9-12 del *BRCA1* presentó un 22% de frecuencia del total de mutaciones identificadas (Torres, Royer & Llacuchaqui, 2015).

De acuerdo con el BIC (base de datos que almacena mutaciones de *BRCA1/2* de todo el mundo) la mayoría de las mutaciones que afectan a los genes *BRCA1/2* generan una proteína trunca por medio de mutaciones *Nonsense*, *Frameshift* y *Splice site* (Mehrgou & Akouchekian, 2016) algunas mutaciones *Splice site* y *Large Rearrangement* no alteran el marco abierto de lectura sin embargo pueden afectar el reconocimiento de los exones y alterando la función de los genes (Borg *et al*, 2011).

Se estima que existen alrededor de 1768 variantes distintas de *BRCA1* y 1994 variantes de *BRCA2*, estas se encuentran alojadas en la base de datos BIC (Lang *et al*, 2017). En el 2001 se identificó que el 36% de todas las mutaciones en el gen *BRCA1* eran mutaciones *Missense*, personas que son portadoras de mutaciones *Missense* presentan un dilema ya que estas mutaciones pueden o no estar afectando la función de la proteína *BRCA1* (Kais *et al*, 2012).

4.2 REPOSITORIO DE MUTACIONES

Se han realizado diversas investigaciones para caracterizar las mutaciones que se encuentran en los genes *BRCA1/2* para esto se han creado bases de datos e.g. ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) y *Breast Cancer Information Core* (BIC) (<https://research.nhgri.nih.gov/bic/>) que sirven para almacenar la información de mutaciones caracterizadas y clasificadas a partir de diversas investigaciones, permitiendo conocer el estado clínico de las diferentes variantes ya sean benignas o patógenas (Wu *et al*, 2017).

La base de datos BIC presenta una compilación de datos provenientes de la literatura y de datos contribuidos por investigadores de forma directa (*online*) en todo el mundo, la base de datos incluye información de las mutaciones en los genes *BRCA1/2* identificadas en pacientes con cáncer de mama u ovario (Szabo, Masiello, Ryan, Brody & Brody, 2000).

Existen otro tipo de bases de datos como ENIGMA, que determina las variantes de significancia clínica para los genes *BRCA1* y *BRCA2* (<https://enigmaconsortium.org/>); *Leiden Open Variation Database* (LOVD) es una base de datos que almacena la clasificación de variantes de *BRCA1/2* (<http://hci-exlovd.hci.utah.edu/home.php>); *HCI Breast Cancer Genes Prior Probabilities* es una base de datos que muestra las probabilidades de sustituciones de un solo nucleótido en todos los

exones de *BRCA1/2* (<http://priors.hci.utah.edu/PRIORS/>) y por último, la base de datos A-GVGD que provee scores de las variantes *Missense* en genes como *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* y *TP53* (<http://agvgd.hci.utah.edu/>).

El cáncer de mama es la primer causa de muerte a nivel mundial en mujeres, por lo cual el estudio de mutaciones en genes *BRCA1/2* para determinar el significado clínico de las variantes como benignas o patógenas desde el año en que se secuenciaron los genes hasta la actualidad ha sido un reto en el ámbito científico, para ello se han creado diferentes bases de datos en donde se aloja el estado clínico de cada una de las variantes que se han analizado por diferentes métodos, tanto funcionales como *In silico* para entender las variantes que afectan a *BRCA1/2*.

5. HIPÓTESIS

El estudio de mutaciones en los genes *BRCA1/2* se ha modificado a través de la historia debido a la implementación de nuevas metodologías para clarificar su significado clínico

6. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el estudio de las mutaciones VUS de *BRCA1/2* en la literatura publicada

7. OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar la frecuencia del estudio de mutaciones en los genes *BRCA1/2* desde 1994 hasta 2018
- Analizar las metodologías para evaluar la patogenicidad de las mutaciones con significado clínico incierto en los genes *BRCA1/2*

8. METODOLOGÍA

En la base de datos *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) se buscaron artículos en inglés relacionados con los diferentes tipos de mutaciones (*InDel*, *Nonsense*, *Missense*, *Splice site*, *Large Rearrangement* y *VUS* (Variantes de significado clínico incierto) que afectan a los genes *BRCA1/2*, después se contaron las mutaciones en cada artículo.

Los artículos que se consideraron para el estudio fueron aquellos publicados desde 1994 hasta 2018 (el año de inicio fue establecido por el año en el cual los genes fueron secuenciados) (Figura 12).



Figura 12. Artículos por año desde 1994 a 2018 con palabras clave “*BRCA1 Missense Mutation*”

Para buscar los artículos se colocó en el buscador de PubMed el gen (*BRCA1* o *BRCA2*) seguido de la mutación de interés (*Missense*; *Nonsense*; *Splice site*; *Large Rearrangement*; *VUS*; *Insertion*; *Deletion*) y por último la palabra “*Mutation*” e.g. *BRCA1 Missense Mutation*.

Solo se consideraron las mutaciones nuevas descritas en los artículos para evitar contar más de una vez alguna mutación en los artículos recabados. Posteriormente se elaboró una base de datos con los siguientes campos para almacenar las mutaciones encontradas: año, número de mutaciones de cada tipo, referencia bibliográfica y enlace del artículo.

Se realizaron gráficas a partir de la base de datos, una de ellas fue la sumatoria de todas las mutaciones dependiendo del año y de la mutación. Se realizó una segunda gráfica de datos acumulados de las mutaciones obteniendo 2 gráficas para cada gen (*BRCA1/2*). Finalmente, se analizaron las gráficas para determinar cuál es la prevalencia de mutaciones en ambos genes.

Para determinar que metodologías se emplean en el estudio de mutaciones *VUS* en los genes *BRCA1/2*, se analizó la sección de métodos y resultados de cada artículo para comparar los

diferentes ensayos aplicados al estudio de mutaciones VUS y definir el significado clínico de las variantes, posteriormente se realizó una gráfica con el tipo de método empleado. Las metodologías se categorizaron en *In silico*, *HR assay+* (ensayo de recombinación homóloga), *Minigene+* (minigenes), *Transactivation+*, *Transactivation* (transactivación), *RTPCR+*, *RTPCR* y otros. Los signos de “+” indican que se realizaron más ensayos aparte de las metodologías mencionadas, además en la categoría “otros”, se incluyen metodologías empleadas para caracterizar mutaciones e.g. ensayo de NHEJ, ensayos con levaduras, pero la proporción de mutaciones evaluadas mediante estas metodologías es inferior a las otras metodologías iniciales para su misma evaluación.

9. RESULTADOS

A partir de los artículos analizados, se obtuvieron un total de 1314 mutaciones para el gen *BRCA1* y 1368 mutaciones para el gen *BRCA2*, siendo este último gen el que presenta mayor frecuencia de mutaciones totales (Figura 13). En la gráfica se puede observar que la mayor proporción de mutaciones para el gen *BRCA1* son variantes VUS equivalentes al 33% de las 1314 mutaciones, seguido de mutaciones *InDel* con 27% y mutaciones *Missense* con el 15%. En *BRCA2* la mayor proporción de mutaciones encontradas son mutaciones VUS con el 44%, *InDel* con 28% y mutaciones *Missense* con 14%. Los tipos de mutaciones con menor frecuencia para el gen *BRCA1* fueron *Large Rearrangement*, *Nonsense* y *Splice site* con 159 (12%), 112 (9%) y 55 (4%) respectivamente, mientras que para *BRCA2* las mutaciones de menor frecuencia son *Nonsense*, *Large Rearrangement* y *Splice site* con 108 (8%), 57 (4%) y 32 (2%) respectivamente.

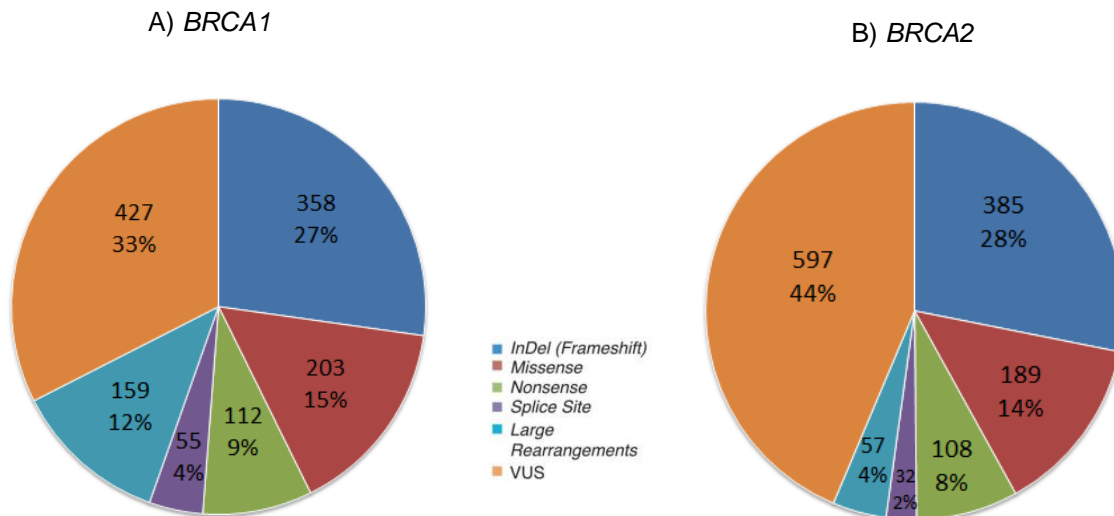


Figura 13. Cantidad total de mutaciones de 1994 a 2018 en genes A) *BRCA1*: 1314 mutaciones (100%) B) *BRCA2*: 1368 mutaciones (100%).

Del total de artículos analizados para el gen *BRCA1* (Figura 14) se observa un aumento en la cantidad de mutaciones *VUS*, *InDel*, *Large Rearrangement* y *Missense* entre los años 2006–2008 seguido de mutaciones *Splice site* y *Nonsense*, sin embargo el incremento exponencial de mutaciones *VUS* en el año 2010 fue debido al estudio realizado por (Borg *et al*, 2011) en donde por medio de estudios *In silico* detectaron un total de 128 mutaciones *VUS* para el gen *BRCA1*.

El conjunto de mutaciones nuevas descubiertas (*VUS*, *InDel*, *Nonsense*, *Missense*, *Splice site* y *Large Rearrangement*) a partir del año 2006 hasta el año 2018 muestra una tendencia estacionaria donde no se observa un aumento significativo en la cantidad de mutaciones descubiertas anualmente.

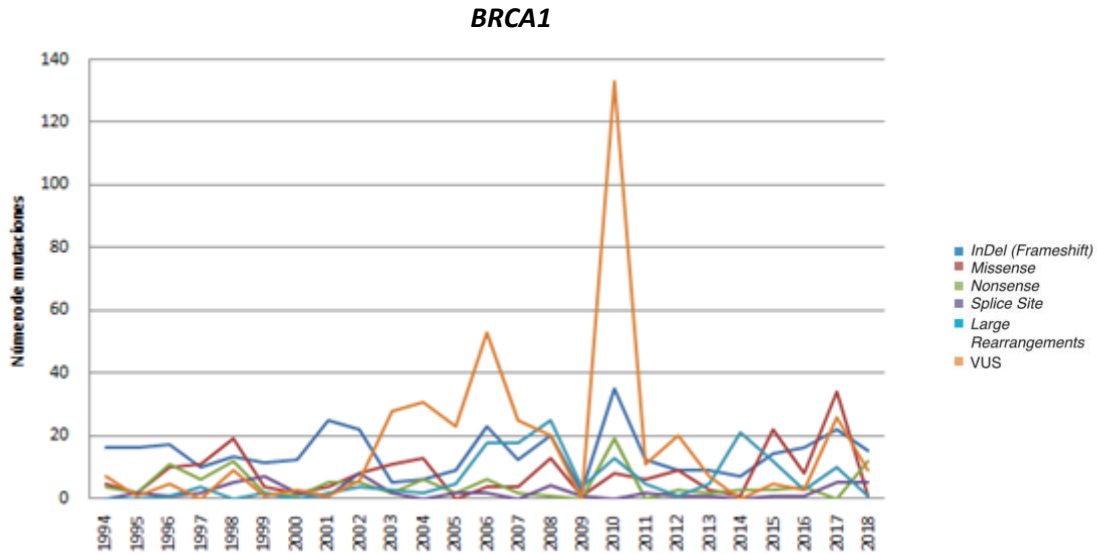


Figura 14. Mutaciones por año (1994-2018) para el gen *BRCA1*.

Del total de artículos analizados para el gen *BRCA 2* (Figura 15) se observa que existe un aumento en la cantidad de mutaciones VUS, *InDel*, *Missense* y *Nonsense* descritas en el año 2006, posterior a ese año se mantienen variables la cantidad de mutaciones descubiertas. El incremento de mutaciones VUS descritas en el año 2010 para *BRCA2* como para el gen *BRCA1* (Figura 15) es causa del estudio *In silico* realizado por (Borg *et al*, 2011). Mutaciones *Splice site* y *Large Rearrangemeant* para *BRCA 2* permanecen casi ausentes en comparación de *BRCA1* (Figura 14).

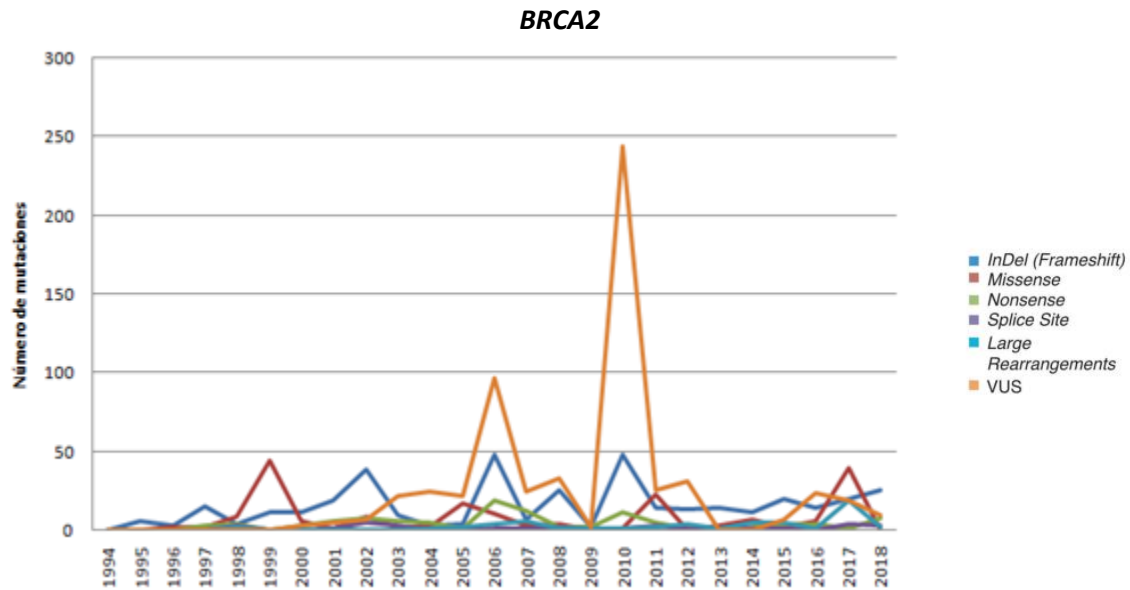
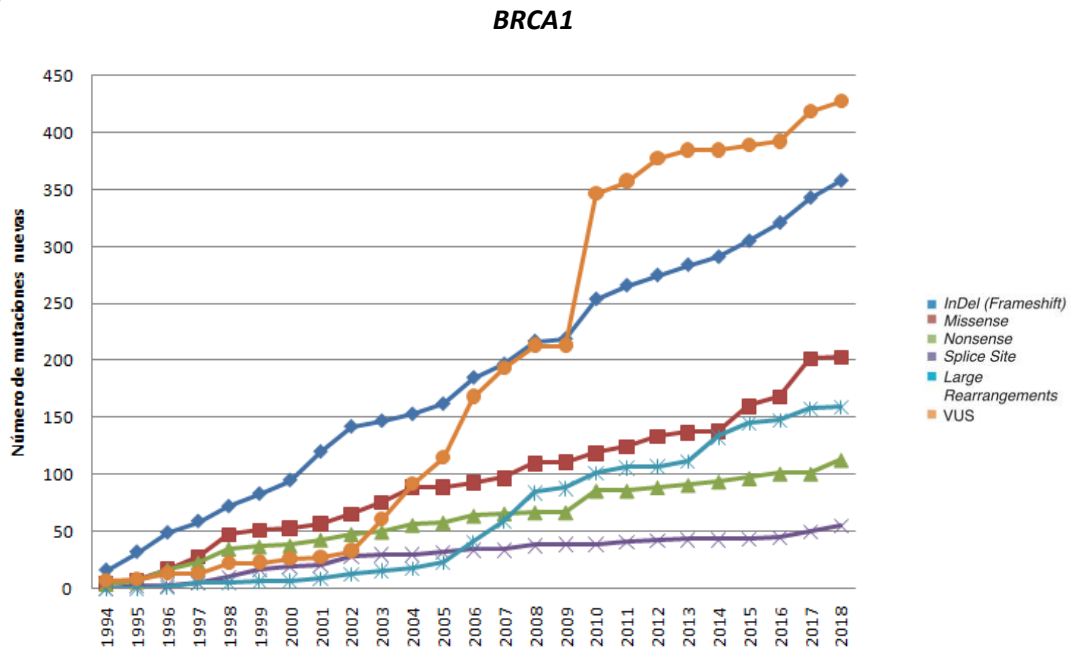


Figura 15. Cantidad de mutaciones por año (1994-2018) para el gen *BRCA2*.

En las gráficas de número acumulado para los genes *BRCA1* y *BRCA2* (Figura 16) se muestra que a través del tiempo existe un crecimiento exponencial en el número de variantes descritas para ambos genes, en donde los 3 tipos de mutaciones con mayor frecuencia a lo largo del tiempo y de las cuales su descripción ha ido en aumento tanto para *BRCA1* como *BRCA2* son mutaciones VUS (427), *InDels* (358) y *Missense* (302) en el gen *BRCA1* (Figura 16-A) y VUS (597), *InDels* (385) y *Missense* (189) para el gen *BRCA2* (Figura 16-B). La detección de mutaciones en estos genes por diferentes laboratorios fue llevada a cabo mediante el uso secuenciación de segunda generación (NGS) como *Multiple Ligation Dependent Probe Amplification* (MLPA) o amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples la cual es una técnica que puede analizar hasta 50 muestras de DNA en una sola reacción y determinar si existe alguna alteración en los genes a estudiar detectando mutaciones como *Large Rearrangement* (deleciones/duplicaciones) (Stuppia, Antonucci, Palka & Gatta, 2012) o mediante electroforesis capilar para identificar mutaciones de un solo nucleótido (SNP) (Silva *et al*, 2014).

A)



B)

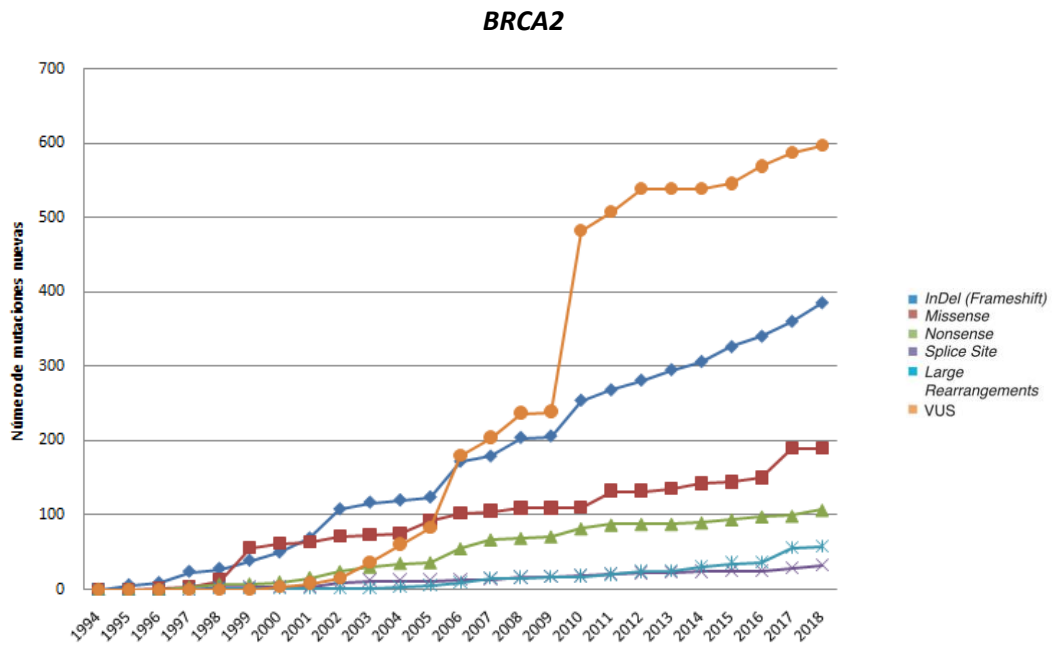


Figura 16. Número acumulado de mutaciones (nuevas) descritas desde el año 1994 hasta 2018 en A) *BRCA1* y B) *BRCA2*.

En las Figuras 17 y 18 se muestran las metodologías empleadas desde el año 2001 hasta 2018 por diferentes grupos de investigación para caracterizar variantes VUS y mediante el uso de experimentos funcionales y/o bioinformáticos lograron caracterizar un total de 824 VUS.

Al tratarse de un grupo heterogéneo de metodologías, se decidió agruparlas en RTPCR, *Transactivation*, *Minigene*, *HR assay* e *In silico* debido a que son las metodologías (funcionales/*In silico*) empleadas con mayor frecuencia. La categoría “otros” (ensayos con levaduras, formación de focos/ensayos cometa, supervivencia celular) presenta metodologías funcionales implementadas con menor frecuencia. La combinación de una metodología principal con una segunda metodología como el uso programas bioinformáticos o funcionales, tales como: ensayos funcionales con células, ensayos cometa, se especificó con el signo “+”, para generar las categorías RTPCR+, *Transactivation* +, *Minigene*+ y *HR assay*+

Mediante el análisis de transcritos a partir de muestras de sangre se logró clasificar mutaciones VUS en patógenas y/o benignas como se observa en las figuras 17 y 18 de *BRCA1* y *BRCA2* respectivamente, 6 mutaciones VUS en el gen *BRCA1* clasificadas mediante RTPCR y 93 mutaciones VUS en el mismo gen con RTPCR+ (Cheon, Mozersky & Cook, 2014) (Figura 17) en *BRCA2* logró clasificar 8 mutaciones VUS mediante RTPCR y 54 mutaciones VUS con RTPCR+ (Figura 18) y mediante el uso del ensayo *Minigene*+ para evaluar el efecto de mutaciones VUS en el *splicing* (Steffensen *et al*, 2014), logró clasificar un total de 110 mutaciones VUS en *BRCA1/2*, 45 mutaciones VUS en *BRCA1* y 65 mutaciones en *BRCA2* (Figura 17 y Figura 18).

Con el uso de ensayos bioinformáticos exclusivamente, lograron predecir la patogenicidad de 257 mutaciones VUS en *BRCA1/2* (Figura 17 y Figura 18).

Existen otro tipo de métodos utilizados para estudiar VUS e.g. mediante la creación de modelos *Knock-in* y *Knock-out* en animales (Cheon *et al*, 2014), utilizando características genéticas, epidemiológicas e histopatológicas, modelos animales, análisis *In vitro* (tejidos celulares) e *In silico* (Radice, De Summa, Caleca & Tommasi, 2011), identificación de mutaciones en pacientes que no han desarrollado algún tipo de cáncer (Pharoah, Dunning, Ponder & Easton, 2004), medir la actividad transcripcional de los dominios BRCT de *BRCA1* que contiene alteraciones VUS la cual ha demostrado que tiene una alta sensibilidad y especificidad (Lee *et al*, 2010). Esta metodología es únicamente funcional en el gen *BRCA1* debido a la capacidad de regulación transcripcional que

presenta el gen mediante el uso del dominio carboxilo terminal (BRCT) (Mullan, Quinn y Harkin, 2006) la carencia del uso de esta metodología se observa en *BRCA2* (Figura 18) en comparación con *BRCA1* (Figura 17). Este ensayo logró clasificar un total de 155 mutaciones VUS, 3 mutaciones en *BRCA1* utilizando únicamente la actividad transcripcional (*Transactivation*) y 152 mutaciones VUS mediante el uso de la misma actividad transcripcional y otra metodología funcional y/o *In silico* (*Transactivation+*) (Figura 17).

La implementación de ensayos de reparación del DNA midiendo la actividad de recombinación homóloga (Farrugia *et al*, 2008) ha mostrado ser buen método para clasificar mutaciones VUS, es específico y permite obtener un resultado certero (Lindor *et al*, 2012). El uso de esta metodología en la clasificación de mutaciones VUS logró caracterizar 98 mutaciones en *BRCA1/2* (Figura 17 y Figura 18) 55 mutaciones en *BRCA1* Y 43 mutaciones en *BRCA2*.

Por último, otro tipo de metodología empleada es crear células madre embrionarias de ratón o *Mouse embryonic stem cells* (ES) carentes del gen *BRCA1* o *BRCA2* y posteriormente inducir un gen *BRCA1* o *BRCA2* con una mutación VUS, las células son evaluadas mediante supervivencia sometiénolas a agentes que dañan el DNA (Kuznetsov, Liu & Sharan, 2008; Chang, Biswas, Martin, Stauffer & Sharan, 2009). Estos son algunos tipos de métodos utilizados para poder clasificar mutaciones VUS y determinar si son deletéreas o benignas (Cheon *et al*, 2014) capaces de desarrollar algún tipo de cáncer.

Una de las metodologías más utilizadas para clasificar mutaciones VUS en *BRCA1* es el ensayo de transactivación donde miden el % de actividad transcripcional, la base del ensayo depende de los 2 dominios C terminal de *BRCA1* (BRCT) con actividad transcripcional, estos dominios se encuentran localizados entre 1646-1736 aminoácidos a 1760-1855 (Langerud, Jarhelle, Ghelue, Ariansen, & Iversen, 2018), al encontrarse alterados estos dominios por algún tipo de mutación, pueden perder la habilidad de llevar a cabo la actividad transcripcional necesaria para fungir como un supresor tumoral. Una limitación de este ensayo es que es únicamente funcional con mutaciones que se encuentran dentro del dominio BRCT de *BRCA1*, otra limitante es que los datos de transactivación del dominio *Wild Type* (WT) no se deben de usar como un dato conclusivo al compararse con el dominio que presenta la mutación y puede o no detectar mutaciones *Missense*,

sin embargo el ensayo evalúa de manera eficaz la integridad del dominio BRCT (Langerud *et al*, 2018).

Otro de los ensayos más utilizados para clasificar mutaciones VUS en *BRCA1* y *BRCA2* es mediante la recombinación homóloga debido a que es altamente específico y sensible con mutaciones *Missense* además puede evaluar mutaciones a lo largo de las diferentes regiones de *BRCA1* y *BRCA2* en comparación de la actividad transcripcional (Toland & Andreassen, 2017). El total de las metodologías funcionales más empleadas a través del tiempo en *BRCA1* son *Transactivation+*, *RTPCR+*, *HR assay+* y *Minigene+*, caracterizando un total de 345 VUS mientras que el uso de programas bioinformáticos caracterizó 119 VUS (Figura 17).

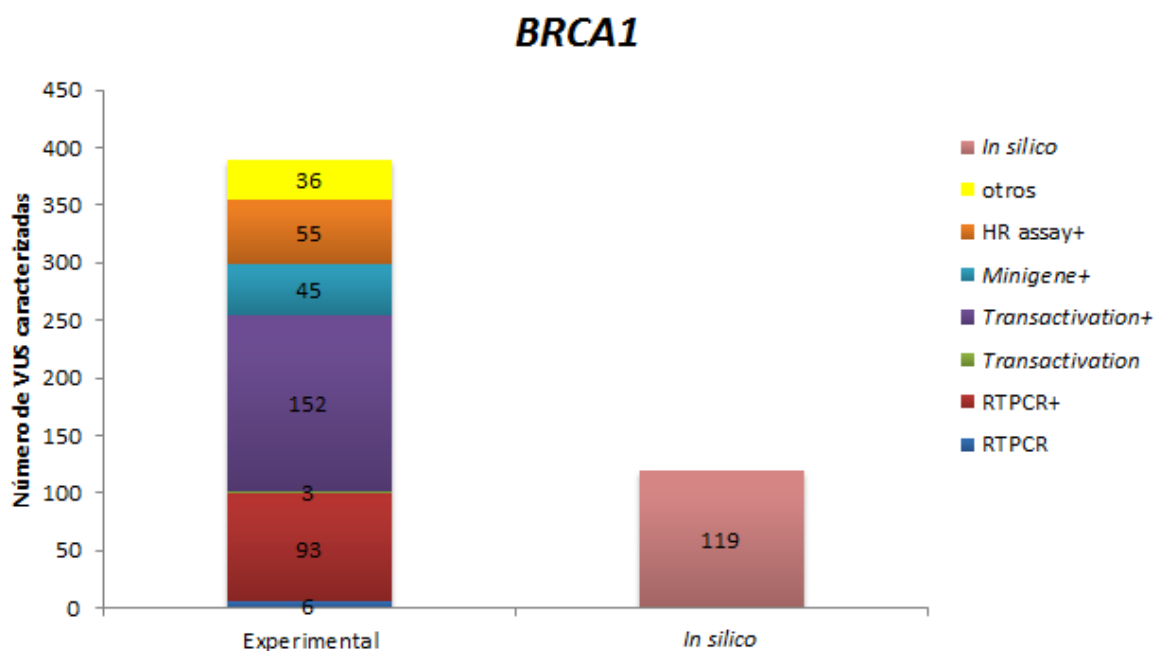


Figura 17. Metodologías empleadas para caracterizar variantes VUS en el gen *BRCA1* del año 2001 al 2018.

Las metodologías funcionales más utilizadas para la clasificación de variantes VUS en el gen *BRCA2* son *Minigene+*, *RTPCR+* y *HR assay+*, caracterizando 161 VUS mientras que con el uso de programas bioinformáticos caracterizaron 138 VUS (Figura 18).

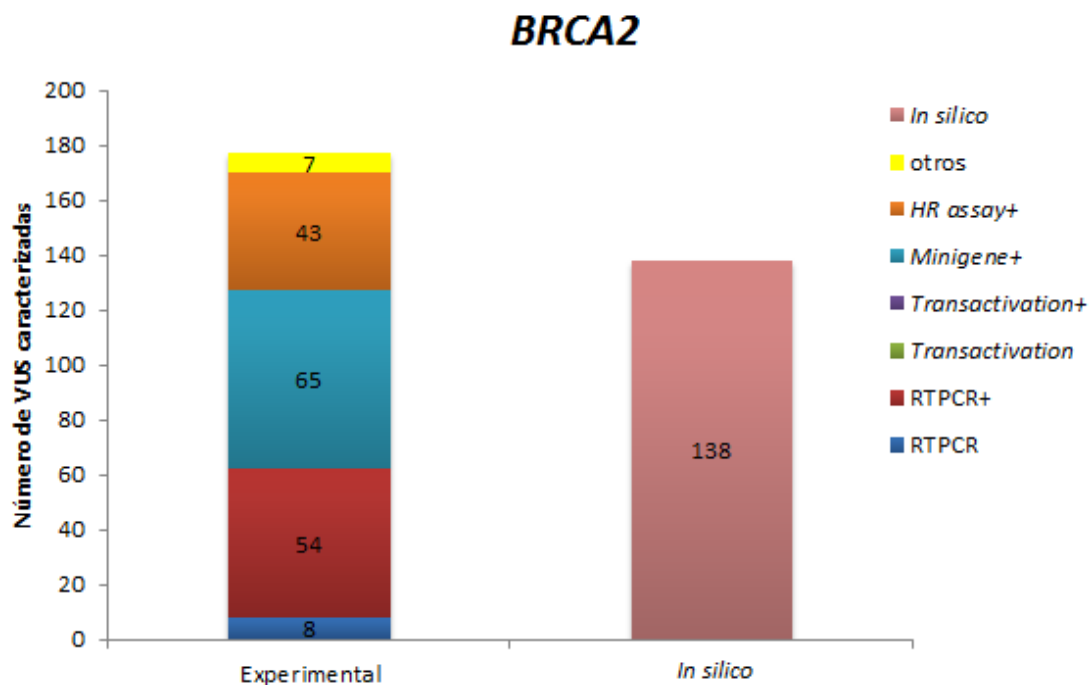


Figura 18. Metodologías empleadas para caracterizar variantes VUS en el gen *BRCA2* del año 2001 al 2018 (experimental y/o *In silico*).

Las metodologías funcionales suplementadas con una segunda metodología funcional y/o *In silico* para clasificar variantes VUS han sido los métodos que han logrado clasificar un mayor número de mutaciones a diferencia de las que únicamente utilizan un solo método funcional e.g. el uso de RTPCR+ clasificó 93 mutaciones respecto a RTPCR la cual clasificó 6 mutaciones en *BRCA1* (Figura 17) mientras que en *BRCA2*, RTPCR+ clasificó 54 mutaciones a comparación de RTPCR con 8 mutaciones VUS (Figura 18).

10. DISCUSIÓN

En este trabajo revisamos la literatura que describe mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* desde su primera publicación hasta la fecha. Encontramos una alta prevalencia de mutaciones VUS, así como un incremento constante en la identificación de nuevas mutaciones en ambos genes.

Un aumento en el *screening* en genes *BRCA1/2* ha promovido la detección e incremento del número de mutaciones VUS (Toland, Brody & BIC Steering Committee, 2019) mismo que se

observa desde 1995 hasta el 2018 en la cantidad de mutaciones nuevas reportadas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* (Figura 16). La frecuencia de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* que se muestra en la figura 13 es muy heterogénea esto es debido a las características de cada persona que desarrolla cáncer de mama e.g. una edad temprana al comienzo de la enfermedad o tener un historia familiar con predisposición al cáncer de mama (factor genético) (Ricks *et al*, 2017; Liang *et al*, 2018). Otro aspecto que influye de manera importante es la heterogeneidad de poblaciones, las cuales pueden presentar un amplio espectro de mutaciones, o bien, que un reducido grupo étnico en específico presente un tipo de mutación en mayor frecuencia debido a un efecto fundador (Ferla *et al*, 2007), factores ambientales o genéticos (Liang *et al*, 2018). Es por esto que a través del tiempo se han empleado diferentes metodologías de secuenciación para determinar la cantidad de mutaciones que se encuentran alterando estos genes.

En el año 2006 se realizó un *screening* de mutaciones para los genes *BRCA1/2*, *CHEK2* y *TP53* mediante MLPA a 300 personas, de las cuales 52 presentaban mutaciones que no se habían detectado anteriormente, dentro de estas, 35 pertenecían a la categoría *Large Rearrangement* afectando a genes *BRCA 1* o *BRCA 2*, 22/35 mutaciones no habían sido descrito antes y además fueron consideradas como mutaciones raras (Walsh *et al*, 2006).

Mediante el uso de la técnica MLPA y secuenciación capilar en el 2014 se realizó un *screening* de mutaciones en genes *BRCA1/2*, *CHEK2* para la mutación 1100delC y *TP53* con la mutación R337H en 120 pacientes con cáncer de mama, 31 presentaban algún tipo de mutación germinal, 20 pacientes presentaban mutaciones para el gen *BRCA1* (64.5%) 7 pacientes con mutaciones en el gen *BRCA2* (22.5%). *BRCA1* presentó 18 mutaciones con diferentes categorías, *Nonsense*, *Frameshift*, *Splice site* y *Missense*, junto con 5 mutaciones nuevas y en *BRCA2* presentó 6 diferentes mutaciones en las categorías *Nonsense* y *Frameshift* además de 2 mutaciones patógenas nuevas (Silva *et al*, 2014). Hasta ese mismo año, mediante los datos obtenidos de *BRCA1* (Figura 16-A), la menor frecuencia de mutaciones pertenece a la categoría *Splice site* y la mayor a mutaciones VUS, siendo las mutaciones *Frameshift* el segundo tipo con mayor frecuencia comparándose a la cantidad de mutaciones *Frameshift* obtenidas en el estudio del 2014 mientras que la menor frecuencia de mutaciones para el gen *BRCA2* fue la categoría *Splice site* y la mayor para mutaciones VUS, mutaciones *Frameshift* fueron la segunda categoría de mutaciones con mayor frecuencia (Figura 16-B).

En el estudio del 2014 las mutaciones de mayor incidencia fueron *Frameshift* y *Nonsense* mientras que en *BRCA2* (Figura 16-B) las mutaciones *Frameshift* son el segundo tipo de mutación con mayor frecuencia y las mutaciones *Nonsense* es el cuarto tipo de mutación con mayor frecuencia.

En el 2017 se realizó un *screening* en los genes *BRCA1* y *BRCA2* a 2991 pacientes que presentaban cáncer de mama mediante secuenciación de siguiente generación (NGS) obteniendo 175 mutaciones en *BRCA1/2* (77 para *BRCA1* y 98 para *BRCA2*) de este conjunto de mutaciones, 26 (3 *Nonsense* y 23 *Frameshift*) en *BRCA1* y 44 (14 *Nonsense* y 30 *Frameshift*) en *BRCA2* fueron descubiertas por primera vez. La cantidad de mutaciones nuevas *Frameshift* ha aumentado drásticamente a 350 al igual que la cantidad de mutaciones *Nonsense* en donde se observa un incremento de 100 mutaciones tanto para el año 2016 como para el año 2017 en el gen *BRCA1*, además se puede observar que la mayor proporción de mutaciones *Frameshift* sobre mutaciones *Nonsense* (Lang *et al*, 2017).

Finalmente en el año 2018, mediante el uso de NSG en 595 personas con cáncer de mama, 48 presentaron 42 mutaciones deletéreas (17 en *BRCA1* y 25 en *BRCA2*), donde la mayoría de mutaciones se categorizaron como *Frameshift* o *Nonsense*, 10 mutaciones *Frameshift* y 17 *Nonsense* para *BRCA1* mientras que 16 *Frameshift* y 9 *Nonsense* en *BRCA2*, además de 6 y 13 mutaciones patógenas nuevas en *BRCA1/2* respectivamente, finalmente 9 mutaciones nuevas fueron reportadas en el estudio, 4 en *BRCA1* y el resto en *BRCA2* (Liang *et al*, 2018). Se obtuvo una mayor frecuencia de mutaciones en el gen *BRCA2*, además el exón 11 de cada gen fue donde se identificaron más de la mitad de las mutaciones obtenidas, denominándolo como una “*Hot region*” en los genes supresores de tumores, entonces un mayor incremento de mutaciones en *BRCA2* a diferencia de *BRCA1* observando las Figuras 13 y 16 , es debido a que *BRCA2* es un gen más grande que *BRCA1* ya que *BRCA2* codifica para una proteína de 3418 aminoácidos mientras que en *BRCA1* codifica para 1863 aminoácidos (Mehrgou & Akouchekian, 2016).

A partir de estos datos podemos observar que a través del tiempo el número de mutaciones nuevas descubiertas en genes *BRCA1/2* para todas las categorías (*InDel*, *Missense*, *Nonsense*, *Splice Site*, *Large Rearrangemnts* y *VUS*) ha ido en aumento debido al uso de técnicas de secuenciación de segunda generación en una mayor cantidad de personas que padecen cáncer de

mama, dando como resultado un incremento en la frecuencia de mutaciones VUS sobre otras categorías de mutaciones en ambos genes *BRCA1/2*, esto es de importancia en el ámbito clínico debido a la incertidumbre que existe al identificar mutaciones VUS y su relación con el posible desarrollo de cáncer de mama.

Este incremento en el número de mutaciones se observa en dos bases de datos, BIC y ClinVar. La cantidad total de mutaciones en ClinVar en el 2017 alojaba 5200 mutaciones en *BRCA1* y 6800 en *BRCA2* y la cantidad de mutaciones VUS oscilaba en 1300 para *BRCA1* y 2300 para *BRCA2* (Toland & Andreassen, 2017). Lo mismo ocurre con los datos más recientes en ClinVar (22 julio 2019) donde se reportan 6102 mutaciones en *BRCA1* y 8608 en *BRCA2*, de las cuales 2624 y 2043 son patógenas en *BRCA1* y *BRCA2* respectivamente, mientras que en la base de datos BIC (22 julio 2019) se reportaron 15311 mutaciones en *BRCA1* y 14914 en *BRCA2* (los datos en el BIC dejaron de actualizarse desde marzo del 2019); cabe resaltar que no se analizaron todas las mutaciones reportadas en el BIC y sólo se reportaron las mutaciones nuevas encontradas en cada artículo publicado en la base de datos PUBMED a través del tiempo.

Las mutaciones *Frameshift* son el segundo tipo de mutación con mayor incidencia (Figura 13), se ha reportado que una de las mutaciones fundadoras más frecuentes albergada en el BIC es la mutación 5382insC, este tipo de mutación perteneciente a la clasificación *Frameshift* es la segunda más frecuente y su prevalencia se ha reportado en diferentes partes del mundo como Rusia, Polonia, República Checa, Lituania, Hungría, Grecia, Alemania, Francia, Italia, Canadá y España (Fackenthal & Olopade, 2007) además esta misma mutación ha sido reportada en países de Latino América como Argentina y Brazil (Ossa & Torres, 2016) siendo el segundo tipo de mutación más frecuente en el BIC y prevalente en diferentes países. Encontrar una alta frecuencia mutaciones pertenecientes a la categoría *Frameshift* en este estudio (Figura 13) puede deberse a que exista una amplia gama de mutaciones fundadoras prevaleciendo en diferentes partes del mundo y así aumentando su frecuencia.

Esta misma prevalencia de mutaciones se ha reportado en la base de datos BIC del 2015 donde la mayoría de mutaciones patógenas pertenecen a la clasificación *Frameshift* (cerca del 70%) mientras que mutaciones menos frecuentes pertenecen a las categorías *Missense* y *Nonsense*, un 10% para cada una de las mutaciones (Dodova *et al*, 2015) sin embargo en este estudio,

mutaciones *Missense* son el tercer tipo de mutación más prevalente en ambos genes (Figura 13) 15% y 14% en *BRCA1* y *BRCA2* respectivamente, lo cual nos indica un aumento significativo en los últimos 3 años para este tipo de mutación. En el caso de mutaciones *Nonsense*, se obtuvo una menor frecuencia con 9% y 8% de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*, que coincide con el porcentaje de mutaciones *Nonsense* reportado por el BIC en el 2015 (Figura 13) su frecuencia sigue permaneciendo baja a comparación de categorías como *VUS/InDel/Missense*. Por último, los tipos de mutaciones con menor frecuencia fueron las categorías *Splice site* y *Large Rearrangement* (Figura 13). Se ha reportado que la prevalencia de mutaciones *Large Rearrangements* en *BRCA2* es menor que en *BRCA1* en familias que presentan cáncer de mama u ovario de alto riesgo (Palma *et al*, 2008) lo cual es consistente con lo reportado en este estudio, donde la frecuencia de mutaciones *Large Rearrangement* en *BRCA1* es más alta que en *BRCA2* (Figura 13) no obstante, la frecuencia de mutaciones *Large Rearrangement* puede variar entre poblaciones (Thomassen, Gerdes, Cruger, Jensen & Kruse, 2006). Además se ha reportado que existe una mayor incidencia de duplicaciones/delecciones (*Large Rearrangements*) en *BRCA1* sobre *BRCA2* en un 42% y un 20% respectivamente debido a la acumulación de secuencias Alu que presenta *BRCA1* (Karami *et al*, 2013).

La frecuencia predominante en los genes *BRCA1* y *BRCA2* pertenece a mutaciones *VUS*, 427 en *BRCA1* y 597 en *BRCA2*, (Figura 13). En el año 2016 se reportó que la frecuencia de mutaciones *VUS* es menor si la ancestría es hispánica o caucásica (20% y 22% respectivamente) y es mayor si existe ancestría asiática o africano-americana (37% y 39%) (Susswein *et al*, 2016). Posteriormente, en el año 2017 se volvió a observar un incremento en la prevalencia de mutaciones *VUS* en personas con cáncer de mama de alto riesgo con descendencia africana en un 78% comparado con personas de descendencia europea en un 61% (Ricks *et al*, 2017) con lo cual podemos decir que la alta frecuencia de mutaciones *VUS* en ambos genes en este estudio es debido a la ancestría asiática o africana.

Las mutaciones de significado clínico incierto representan un problema potencial para los pacientes y un reto para los grupos de investigación científica (Macklin, Durand, Atwal & Hines, 2018) debido a que se desconoce si estas pueden inactivar a los genes supresores de tumores *BRCA1/2* y por lo tanto no se logren clasificar como patógenas o benignas (Cheon *et al*, 2014). En su mayoría son mutaciones *Missense*, es decir, cambios de un solo nucleótido que dan como

resultado un aminoácido diferente, aunque también pueden ser pequeñas deleciones o inserciones (*in frame small deletion/insertion*) que pueden recorrer el marco de lectura alterando la secuencia de aminoácidos, o bien, mutaciones silenciosas donde el cambio de un nucleótido genera el mismo aminoácido. Este tipo de mutaciones pueden modificar sitios canónicos de *splicing* (GU/AG) o sitios de unión de factores auxiliares de *splicing* en los intrones afectando la regulación del *splicing* alternativo, o bien, la regulación de la traducción (Lindor *et al*, 2012).

Es esencial clasificar mutaciones VUS para determinar el significado clínico que presentan, para esto existen diversas formas de poder clasificar variantes (Slavin, Manjarrez, Pritchard, Gray & Weitzel, 2019) e.g. la guía de *The American Collage of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology (ACMG/AMP)* clasifica las variantes en 5 niveles, benigna (*benign*), probablemente benigna (*likely benign*), variantes de significado incierto (VUS), probablemente patógena (*likely pathogenic*) y por último patógena (*pathogenic*) (Richards *et al*, 2015) donde las 3 primeras *benign*, *likely benign* y VUS las categorizan como mutaciones no activas mientras que las últimas 2, *likely pathogenic* y *pathogenic* se categorizan como mutaciones activas (Slavin *et al*, 2018). En cambio, para el continente Europeo, las guías utilizadas se encuentran diseñadas por la *European Society of Human Genetics* (Claustres *et al*, 2014). Además con respecto a la terminología del estado clínico de las mutaciones se ha propuesto que la palabra “*likely*” se refiera a que existe una certeza mayor al 90% de que una mutación sea causante (*pathogenic*/patógena) de una enfermedad o no lo sea (*benign* /benigna) (Richards *et al*, 2015) aumentando los criterios para definir el estado clínico de las mutaciones VUS. A partir de la revisión de las guías se puede mostrar que no existe una guía universal que permita la clasificación de variantes de significado clínico incierto (VUS).

Además del uso de las guías, existe una alta cantidad de metodologías tanto funcionales como *In silico* para poder clasificar mutaciones VUS, actualmente no existe una metodología o enfoque universal que nos ayude a clasificar variantes de significado clínico incierto en genes *BRCA1/2* (Toland *et al*, 2019) es necesario compartir los datos obtenidos como las secuencias o datos fenotípicos obtenidos por diferentes laboratorios en el mundo, esto es esencial para progresar en la comprensión de las mutaciones VUS que afectan a los genes supresores de tumores *BRCA1/2*.

Entre las metodologías funcionales, una de las más eficaces es el ensayo de minigenes, consiste en construir versiones reducidas de genes, inducir la mutación a estudiar y cotransfectarlos a células HeLa para evaluar el resultado del *splicing* del transcrito generado por la mutación, este ensayo ha mostrado ser un método válido para el análisis de diferentes mutaciones VUS que puedan alterar el *splicing*, ha mostrado un 100% de concordancia con mutaciones en *BRCA1* que fueron analizadas mediante RTPCR a partir de RNA de muestras de sangre y líneas celulares linfoblastoides (Steffensen *et al*, 2014; Ahlborn *et al*, 2015). No obstante existen limitaciones en este tipo de ensayo e.g. el uso reducido de exones y flanqueado por una cierta cantidad de intrones comparado a la cantidad total de exones e intrones que se localizan en *BRCA1/2* (Ahlborn *et al*, 2015). Mediante los ensayos funcionales revisados en este trabajo, se logró reclasificar un total de 567 mutaciones VUS en los genes *BRCA1/2*, 390/567 pertenecen a *BRCA1* y 177/567 en *BRCA2* (Figura 17 y Figura 18), en el cual la metodología que reclasificó un mayor número de mutaciones VUS fue el ensayo de *Transactivation+* en *BRCA1* y el ensayo de *Minigene+* en *BRCA2*. Con lo cual se puede observar que la implementación de este tipo de metodologías funcionales para la reclasificación de mutaciones VUS, si bien no son las únicas metodologías, son de las más utilizadas por su eficiencia y especificidad al momento de estudiar mutaciones VUS además a diferencia del ensayo de transactivación, el ensayo con minigenes es implementado para el estudio de mutaciones tanto en *BRCA1* como *BRCA2* (Figura 17 y Figura 18).

Al comparar el número de ensayos funcionales implementados contra el uso de programas bioinformáticos realizados desde el año 2001 hasta 2018 para la reclasificación de mutaciones VUS en *BRCA1* y *BRCA2* (Figura 17 y Figura 18) observamos un decremento en la cantidad de mutaciones VUS reclasificadas usando programas de predicción, con un total de 119 mutaciones reclasificadas en el gen *BRCA1* y 138 mutaciones en el gen *BRCA2*, este resultado es debido a que el uso de programas de predicción no son altamente sensibles cuando son utilizados de manera aislada, además la predicción de mutaciones VUS donde la mayor frecuencia de mutaciones son *Missense* tienden a sobre predecir el cambio del aminoácido (resultado de la mutación) clasificándolas como patógenas (Toland & Andreassen, 2017).

Es necesario continuar el desarrollo de los programas bioinformáticos para aumentar su sensibilidad y especificidad al momento de predecir la patogenicidad de las mutaciones VUS. Para poder llevarse a cabo, es necesario una gran cantidad de datos obtenidos de los análisis

funcionales y que estos se encuentren disponibles para crear posteriormente los algoritmos de predicción más eficientes (Toland & Andreassen, 2017) y que nos permitan predecir de forma certera la patogenicidad de las mutaciones VUS involucradas en el desarrollo del cáncer de mama.

Existen trabajos recientes combinando análisis funcionales como *In silico* para clasificar variantes. En un estudio del 2016 clasifican mutaciones VUS en los genes *BRCA1* y *BRCA2* utilizando ensayos funcionales mediante el análisis de la secuenciación de cDNA a partir de transcritos de RNA maduros y análisis *In silico* (Rodríguez *et al*, 2016). En otro estudio más reciente, mediante el ensayo de recombinación homóloga en *BRCA2* y el método basado en la secuencia Align-GVGD en el modelo VarCall logró clasificar el 75% (79/105) de VUS en el estudio, atribuyendo además que el uso de un solo tipo de ensayo funcional y/o *In silico* no provee una evaluación puntual de las mutaciones VUS (Guidugli *et al*, 2018) lo cual es coherente con las metodologías empleadas al reclasificar mutaciones VUS (Figura 17 y Figura 18) donde se puede observar que todas las metodologías funcionales a excepción de RTPCR tanto en *BRCA1* como *BRCA2* utilizan un ensayo funcional más un ensayo (bioinformático, funcional o ambos).

Una metodología de notable desarrollo implementada recientemente es la edición genómica de saturación, que consiste en cotransfectar exones de *BRCA* en líneas celulares HAP1 y una librería de brazos homólogos alojando todas las posibles mutaciones puntuales de un solo nucleótido, para después provocar recombinación homóloga y evaluar la frecuencia de mutaciones retenida. Esta metodología ha mostrado predecir la patogenicidad de 3893 mutaciones de un solo nucleótido (*Single Nucleotide Variant/SNV*) que comprenden el 96.6% de mutaciones posibles afectando exones vinculados a dominios RING y BRCT de *BRCA1* (Findlay *et al*, 2018).

11. CONCLUSIONES

-La frecuencia de mutaciones reportadas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* ha incrementado desde 1994 hasta 2018 en todas sus categorías *VUS/InDel/Missense/Nonsense/Splice Site/Large Rearrangements*; de ellas, la categoría con un mayor incremento es VUS.

-Debido a la falta de un consenso metodológico para la reclasificación de mutaciones VUS, su estudio se ha mantenido en niveles bajos a través del tiempo.

-Los trabajos publicados en los que se obtuvieron resultados certeros sobre estas mutaciones controversiales emplean una combinación de ensayos tanto funcionales como *In silico* e.g. combinar el ensayo de minigenes con análisis *In silico*.

12. PERSPECTIVAS

-Analizar la incidencia de mutaciones VUS/*InDel*/*Missense*/*Nonsense*/*Splice site*/*Large Rearrangement* de *BRCA1/2* en diferentes grupos étnicos

-Clasificar variantes en genes con predisposición a cáncer mediante la edición genómica de saturación

13. REFERENCIAS

- 1) Ahlborn, L. B., Dandanell, M., Steffensen, A. Y., Jønson, L., Nielsen, F. C & Hansen, T. V. O. (2015). Splicing analysis of 14 BRCA1 missense variants classifies nine variants as pathogenic. *Breast Cancer Research and Treatment*, 150(2), 289–298. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3313-7>
- 2) Antonarakis, S. E. (1998). Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. *Human Mutation*, 11(1), 1–3. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1998\)11:1<1::AID-HUMU1>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1998)11:1<1::AID-HUMU1>3.0.CO;2-O)
- 3) Antoniou, A., Pharoah, P. D. P., Narod, S., Risch, H. A., Eyfjord, J. E., Hopper, J. L & Easton, D. F. (2003). Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *American Journal of Human Genetics*, 72(5), 1117–1130. <https://doi.org/10.1086/375033>
- 4) Apostolou, P., Fostira, F & Baudi, F. (2013). Hereditary Breast Cancer: The Era of New Susceptibility Genes. *BioMed Research International*, 2013, 11. <https://doi.org/10.1155/2013/747318>

- 5) Apostolou, P & Papatiriu, I. (2017). Current perspectives on CHEK2 mutations in breast cancer. *Breast Cancer (Dove Medical Press)*, 9, 331–335. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S111394>
- 6) Armes, J. E., Egan, A. J., Southey, M. C., Dite, G. S., McCredie, M. R., Giles, G. G & Venter, D. J. (1998). The histologic phenotypes of breast carcinoma occurring before age 40 years in women with and without BRCA1 or BRCA2 germline mutations: a population-based study. *Cancer*, 83(11), 2335–2345. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9840533>
- 7) Baretta, Z., Mocellin, S., Goldin, E., Olopade, O. I & Huo, D. (2016). Effect of BRCA germline mutations on breast cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (United States)*, 95(40), e4975. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004975>
- 8) Bérout, C., Letovsky, S. I., Braastad, C. D., Caputo, S. M., Beaudoux, O., Bignon, Y. J & Strom, C. M. (2016). BRCA Share: A Collection of Clinical BRCA Gene Variants. *Human Mutation*, 37(12), 1318–1328. <https://doi.org/10.1002/humu.23113>
- 9) Borg, A., Haile, R. W., Malone, K. E., Capanu, M., Diep, A., Törngren, T & Bernstein, J. L. (2010). Characterization of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations and variants of unknown clinical significance in unilateral and bilateral breast cancer: the WECARE study. *Human Mutation*, 31(3), E1200-40. <https://doi.org/10.1002/humu.21202>
- 10) Capoluongo, E. (2016). BRCA to the future: towards best testing practice in the era of personalised healthcare. *European Journal of Human Genetics*, 24(S1). <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.92>
- 11) Chang, S., Biswas, K., Martin, B. K., Stauffer, S & Sharan, S. K. (2009). Expression of human BRCA1 variants in mouse ES cells allows functional analysis of BRCA1 mutations. *Journal of Clinical Investigation*, 119(10), 3160–3171. <https://doi.org/10.1172/JCI39836>
- 12) Cheon, J. Y., Mozersky, J & Cook, D. R. (2014). Variants of uncertain significance in BRCA: a harbinger of ethical and policy issues to come?. *Genome Medicine*, 6(12), 121. <https://doi.org/10.1186/s13073-014-0121-3>
- 13) Choi, M., Kipps, T & Kurzrock, R. (2016). ATM Mutations in Cancer: Therapeutic Implications. *Molecular Cancer Therapeutics*, 15(8), 1781–1791. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0945>

- 14) Chow, A. Y. (2010). Cell Cycle Control by Oncogenes and Tumor Suppressors: Driving the Transformation of Normal Cells into Cancerous Cells. *Nature Education*, 3(9), 7. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/cell-cycle-control-by-oncogenes-and-tumor-14191459>
- 15) Christou, C & Kyriacou, K. (2013). BRCA1 and Its Network of Interacting Partners. *Biology*, 2(1), 40–63. <https://doi.org/10.3390/biology2010040>
- 16) Claustres, M., Kožich, V., Dequeker, E., Fowler, B., Hehir, K. J. Y., Miller, K & European Society of Human Genetics. (2014). Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic). *European Journal of Human Genetics*, 22(2), 160–170. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.125>
- 17) Cooper, G. M. (2000). *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9839/>
- 18) D’Andrea, A. D. (2008). DNA Repair Pathways and Human Cancer. *The Molecular Basis of Cancer*, 39–55. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-141603703-3.10004-4>
- 19) Daum, H., Peretz, T & Laufer, N. (2018). BRCA mutations and reproduction. *Fertility and Sterility*, 109(1), 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.12.004>
- 20) Den Dunnen, J & Antonarakis, S. (2001). Nomenclature for the description of human sequence variations. *Human Genetics*, 109(1), 121–124. <https://doi.org/10.1007/s004390100505>
- 21) Dexheimer, T. S. (2014). DNA repair pathways and mechanisms. In *DNA Repair of Cancer Stem Cells*, 19–32, Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4590-2_2
- 22) Dodova, R. I., Mitkova, A. V., Dacheva, D. R., Hadjo, L. B., Vlahova, A. I., Hadjieva, M. S. T & Kaneva, R. P. (2015). Spectrum and frequencies of BRCA1/2 mutations in Bulgarian high risk breast cancer patients. *BMC Cancer*, 15, 523. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1516-2>
- 23) Fackenthal, J. D & Olopade, O. I. (2007). Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations. *Nature Reviews Cancer*, 7(12), 937–948. <https://doi.org/10.1038/nrc2054>
- 24) Farrugia, D. J., Agarwal, M. K., Pankratz, V. S., Deffenbaugh, A. M., Pruss, D., Frye, C & Couch, F. J. (2008). Functional Assays for Classification of BRCA2 Variants of Uncertain Significance. *Cancer Research*, 68(9), 3523–3531. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1587>

- 25) Feng, W & Jasin, M. (2017). BRCA2 suppresses replication stress-induced mitotic and G1 abnormalities through homologous recombination. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00634-0>
- 26) Ferla, R., Calò, V., Cascio, S., Rinaldi, G., Badalamenti, G., Carreca, I & Russo, A. (2007). Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 18(6), vi93-8. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdm234>
- 27) Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D.M., Piñeros, M., Znaor, A & Bray, F. (2019). Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, 144(8), 1941–1953. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>
- 28) Filippini, S. E & Vega, A. (2013). Breast cancer genes: beyond BRCA1 and BRCA2. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 18, 1358–1372. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23747889>
- 29) Findlay, G. M., Daza, R. M., Martin, B., Zhang, M. D., Leith, A. P., Gasperini, M & Shendure, J. (2018). Accurate classification of BRCA1 variants with saturation genome editing. *Nature*, 562(7726), 217–222. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0461-z>
- 30) Friedberg, E. C. (2008). A brief history of the DNA repair field. *Cell Research*. 18, 3–7. <https://doi.org/10.1038/cr.2007.113>
- 31) GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. (2016). Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet (London, England)*, 388(10053), 1459–1544. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31012-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31012-1)
- 32) Giglia, M. G., Zotter, A & Vermeulen, W. (2011). DNA damage response. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(1), 1–19. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000745>
- 33) Guidugli, L., Shimelis, H., Masica, D. L., Pankratz, V. S., Lipton, G. B., Singh, N & Couch, F. J. (2018). ARTICLE Assessment of the Clinical Relevance of BRCA2 Missense Variants by Functional and Computational Approaches. *The American Journal of Human Genetics*, 102, 233–248. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.12.013>
- 34) Hahn, W. C & Weinberg, R. A. (2002). Rules for Making Human Tumor Cells. *New England Journal of Medicine*, 347(20), 1593–1603. <https://doi.org/10.1056/NEJMra021902>

- 35) Hanahan, D & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- 36) Kais, Z., Chiba, N., Ishioka, C & Parvin, J. D. (2012). Functional differences among BRCA1 missense mutations in the control of centrosome duplication. *Oncogene*, 31(6), 799–804. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.271>
- 37) Karami, F., Mehdipour, P & Tari, A. M. (2013). A Comprehensive Focus on Global Spectrum of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Breast Cancer. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/928562>
- 38) Kornblihtt, A. R., Schor, I. E., Alló, M., Dujardin, G., Petrillo, E & Muñoz, M. J. (2013). Alternative splicing: a pivotal step between eukaryotic transcription and translation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 14(3), 153–165. <https://doi.org/10.1038/nrm3525>
- 39) Kwei, K. A., Kung, Y., Salari, K., Holcomb, I. N & Pollack, J. R. (2010). Genomic instability in breast cancer: pathogenesis and clinical implications. *Molecular Oncology*, 4(3), 255–266. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2010.04.001>
- 40) Kuznetsov, S. G., Liu, P & Sharan, S. K. (2008). Mouse embryonic stem cell–based functional assay to evaluate mutations in BRCA2. *Nature Medicine*, 14(8), 875–881. <https://doi.org/10.1038/nm.1719>
- 41) Lakhani, S. R., Jacquemier, J., Sloane, J. P., Gusterson, B. A., Anderson, T. J., van de Vijver, M. J & Easton, D. F. (1998). Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations. *Journal of the National Cancer Institute*, 90(15), 1138–1145. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9701363>
- 42) Lam, D. K & Schmidt, B. L. (2012). Molecular Biology of Head and Neck Cancer: Therapeutic Implications. In *Current Therapy in Oral and Maxillofacial Surgery*, 92–101. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-2527-6.00010-4>
- 43) Lang, G. T., Shi, J. X., Hu, X., Zhang, C. H., Shan, L., Song, C. G & Shao, Z.M. (2017). The spectrum of BRCA mutations and characteristics of BRCA-associated breast cancers in China: Screening of 2,991 patients and 1,043 controls by next-generation sequencing. *International Journal of Cancer*, 141(1), 129–142. <https://doi.org/10.1002/ijc.30692>
- 44) Langerud, J., Jarhelle, E., Ghelue, M. Van, Ariansen, S. L & Iversen, N. (2018). Trans-activation-based risk assessment of BRCA1 BRCT variants with unknown clinical significance. *Human Genomics*, 12(1), 51. <https://doi.org/10.1186/S40246-018-0183-1>

- 45) Lee, M. S., Green, R., Marsillac, S. M., Coquelle, N., Williams, R. S., Yeung, T & Glover, J. N. M. (2010). Comprehensive Analysis of Missense Variations in the BRCT Domain of BRCA1 by Structural and Functional Assays. *Cancer Research*, 70(12), 4880. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-4563>
- 46) Lengauer, C., Kinzler, K. W & Vogelstein, B. (1998). Genetic instabilities in human cancers. *Nature*, 396(6712), 643–649. <https://doi.org/10.1038/25292>
- 47) Liang, Y., Yang, X., Li, H., Zhu, A., Guo, Z & Li, M. (2018). Prevalence and Spectrum of BRCA1/2 Germline Mutations in Women with Breast Cancer in China Based on Next-Generation Sequencing. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 24, 2465–2475. <https://doi.org/10.12659/msm.905812>
- 48) Li, G., Guo, X., Tang, L., Chen, M., Luo, X., Peng, L & Wang, J. (2017). Analysis of BRCA1/2 mutation spectrum and prevalence in unselected Chinese breast cancer patients by next-generation sequencing. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 143(10), 2011–2024. <https://doi.org/10.1007/s00432-017-2465-8>
- 49) Li, S., Shen, Y., Wang, M., Yang, J., Lv, M., Li, P & Yang, J. (2017). Loss of PTEN expression in breast cancer: association with clinic pathological characteristics and prognosis. *Oncotarget*, 8(19), 32043–32054. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16761>
- 50) Lindahl, T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 362, 709–715. <https://doi.org/10.1101/sqb.2000.65.127>
- 51) Lindor, N. M., Guidugli, L., Wang, X., Vallée, M. P., Monteiro, A. N. A., Tavtigian, S & Couch, F. J. (2012). A review of a multifactorial probability based model for classification of BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance (VUS). *Human Mutation*, 33(1), 8–21. <https://doi.org/10.1002/humu.21627>
- 52) Loeb, L. A. (1991). Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis. *Cancer Research*, 51, 3075–3079. <https://doi.org/10.1101/sqb.2000.65.127>
- 53) López, U., Salazar, V., Brito, L., Coca, M., Silva, J., Sánchez, D & Pérez, C. (2019). BRCA mutations: is everything said?. *Breast Cancer Research and Treatment*, 173(1), 49–54. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4986-5>
- 54) Lynce, F & Isaacs, C. (2016). Population-Based BRCA1/2 Testing in Ashkenazi Jews: Ready for Prime Time. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN*, 14(6), 809–812. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2016.0081>

- 55) Macklin, S., Durand, N., Atwal, P & Hines, S. (2018). Observed frequency and challenges of variant reclassification in a hereditary cancer clinic. *Genetics in Medicine*, 20(3), 346–350. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.207>
- 56) Makki, J. (2015). Diversity of breast carcinoma: Histological subtypes and clinical relevance. *Clinical Medicine Insights: Pathology*, 8(1), 23–31. <https://doi.org/10.4137/CPath.s31563>
- 57) Malhotra, G. K., Zhao, X., Band, H & Band, V. (2010). Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biology and Therapy*, 10(10), 955–960. <https://doi.org/10.4161/cbt.10.10.13879>
- 58) Martin, A., Ye, L., Sanders, A. J., Lane, J & Jiang, WG. (2013). Cancer Invasion and Metastasis: Molecular and Cellular Perspective. In: Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK164700/>
- 59) Mehrgou, A & Akouchekian, M. (2016). The importance of BRCA1 and BRCA2 genes mutations in breast cancer development. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 30 (369), 1–12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4972064/>
- 60) Mendelsohn, J., Howley, P. M., Israel, M. A., Gray, J. W., Thompson, C. B., Levine, A. J & Feng, Z. (2008). Tumor Suppressor Genes. *The Molecular Basis of Cancer*, 31–38. <https://doi.org/10.1016/B978-141603703-3.10003-2>
- 61) Mesman, R. L. S., Calléja, F. M. G. R., Hendriks, G., Morolli, B., Misovic, B., Devilee, P & Vreeswijk, M. P. G. (2018). The functional impact of variants of uncertain significance in BRCA2. *Genetics in Medicine*, 0(0), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0052-2>
- 62) Morrell, E. D., Shane, D., Glavan, B. J., Harju, S., Nguyen, C., Gunderson S & Wurfel, M. M. (2018). Genetic Variation in MAP3K1 Associates with Ventilator-Free Days in Acute Respiratory Distress Syndrome. *American Journal of Respiratory Cell Molecular Biology*, 58(1), 117–125. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2017-0030OC>
- 63) Mousa, S. A. (1998). Mechanisms of angiogenesis in vascular disorders: Potential therapeutic targets. *Drugs of the Future*, 23(1), 51. <https://doi.org/10.1358/dof.1998.023.01.858340>
- 64) Mullan, P. B., Quinn, J. E & Harkin, D. P. (2006). The role of BRCA1 in transcriptional regulation and cell cycle control. *Oncogene*, 25(43), 5854–5863. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209872>

- 65) National Library of Medicine. (2019). What kinds of gene mutations are possible?. Recuperado el 15 de agosto de 2019 de <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/mutationsanddisorders/possiblemutations>
- 66) Narod, S. A & Foulkes, W. D. (2004). BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nature Reviews Cancer*, 4(9), 665–676. <https://doi.org/10.1038/nrc1431>
- 67) Nepomuceno, T. C., De Gregoriis, G., de Oliveira, F. M. B., Suarez, K. G., Monteiro, A. N & Carvalho, M. A. (2017). The Role of PALB2 in the DNA Damage Response and Cancer Predisposition. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(9). <https://doi.org/10.3390/ijms18091886>
- 68) Nik, Z. S. (2019). From genome integrity to cancer. *Genome Medicine*, 11(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0617-y>
- 69) Olivier, M., Langerød, A., Carrieri, P., Bergh, J., Klaar, S., Eyfjord, J & Børresen, A. L. (2006). The Clinical Value of Somatic TP53 Gene Mutations in 1,794 Patients with Breast Cancer. *Clinical Cancer Research*, 12(4), 1157–1167. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-1029>
- 70) Ossa, C. A & Torres, D. (2016). Founder and Recurrent Mutations in BRCA1 and BRCA2 Genes in Latin American Countries: State of the Art and Literature Review. *The Oncologist*, 21(7), 832–839. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2015-0416>
- 71) Papatrifiantayllou, M. (2013). Innate immunity: Caspase 8 prevents inflammasome activation. *Nature Reviews Immunology*, 13(2), 68–69. <https://doi.org/10.1038/nri3387>
- 72) Palma, M. D., Domchek, S. M., Stopfer, J., Erlichman, J., Siegfried, J. D., Tigges, C. J & Nathanson, K. L. (2008). The relative contribution of point mutations and genomic rearrangements in BRCA1 and BRCA2 in high-risk breast cancer families. *Cancer Research*, 68(17), 7006–7014. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-0599>
- 73) Parsons, M. J., Mc cormick, L., Janke, L., Howard, A., Bouchier, L & Green, D. R. (2013). Genetic deletion of caspase-2 accelerates MMTV/c-neu-driven mammary carcinogenesis in mice. *Cell Death and Differentiation*, 20. <https://doi.org/10.1038/cdd.2013.38>
- 74) Petrucelli, N., Daly, M. B & Feldman, G. L. (2010). Hereditary breast and ovarian cancer due to mutations in BRCA1 and BRCA2. *Genetics in Medicine*, 12(5), 245–259. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181d38f2f>

- 75) Perou, C. M., Sørile, T., Eisen, M. B., Van De Rijn, M., Jeffrey, S. S., Renshaw, C. A & Botstein, D. (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 406(6797), 747–752. <https://doi.org/10.1038/35021093>
- 76) Pharoah, P. D. P., Dunning, A. M., Ponder, B. A. J & Easton, D. F. (2004). Association studies for finding cancer-susceptibility genetic variants. *Nature Reviews Cancer*, 4(11), 850–860. <https://doi.org/10.1038/nrc1476>
- 77) Pikor, L., Thu, K., Vucic, E & Lam, W. (2013). The detection and implication of genome instability in cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 32(3–4), 341–352. <https://doi.org/10.1007/s10555-013-9429-5>
- 78) Radice, P., De Summa, S., Caleca, L & Tommasi, S. (2011). Unclassified variants in BRCA genes: guidelines for interpretation. *Annals of Oncology*, 22 (1), 18–23. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq661>
- 79) Rebbeck, T. R., Friebel, T. M., Friedman, E., Hamann, U., Huo, D & Kwong, A. (2018). Mutational spectrum in a worldwide study of 29,700 families with BRCA1 or BRCA2 mutations. *Human Mutation*, 39(5), 593–620. <https://doi.org/10.1002/humu.23406>
- 80) Ricks, S. L., McDonald, J. T., Gold, B., Dean, M., Thompson, N., Abbas, M & Dunston, G. (2017). Next Generation Sequencing Reveals High Prevalence of BRCA1 and BRCA2 Variants of Unknown Significance in Early-Onset Breast Cancer in African American Women. *Ethnicity & Disease*, 27(2), 169–178. <https://doi.org/10.18865/ed.27.2.169>
- 81) Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier, J & ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 17(5), 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- 82) Rodríguez, M., Roig, B., Martorell, L., Melé, M., Salvat, M., Vilella, E & Gumà, J. (2016). In silico, in vitro and case-control analyses as an effective combination for analyzing BRCA1 and BRCA2 unclassified variants in a population-based sample. *Cancer Genetics*, 209(11), 487–492. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2016.09.003>
- 83) Shan, J., D, Souza, S. P., Bakhru, S., Al, A. E. K., Ascierto, M. L., Sastry, K. S & Chouchane, L. (2013). TNRC9 downregulates BRCA1 expression and promotes breast cancer

- aggressiveness. *Cancer Research*, 73(9), 2840–2849. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-4313>
- 84) Sieber, O. M., Heinemann, K & Tomlinson, I. P. M. (2003). Genomic instability the engine of tumorigenesis?. *Nature Reviews Cancer*, 3(9), 701–708. <https://doi.org/10.1038/nrc1170>
- 85) Silva, F. C., Lisboa, B. C., Figueiredo, M. C., Torrezan, G. T., Santos, E. M., Krepischi, A. C & Carraro, D. M. (2014). Hereditary breast and ovarian cancer: assessment of point mutations and copy number variations in Brazilian patients. *BMC Medical Genetics*, 15, 55. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-15-55>
- 86) Sishc, B. J & Davis, A. J. (2017). The Role of the Core Non-Homologous End Joining Factors in Carcinogenesis and Cancer. *Cancers*, 9(7), E81. <https://doi.org/10.3390/cancers9070081>
- 87) Slavin, T. P., Van Tongeren, L. R., Behrendt, C. E., Solomon, I., Rybak, C., Nehoray, B & Weitzel, J. N. (2018). Prospective Study of Cancer Genetic Variants: Variation in Rate of Reclassification by Ancestry. *Journal of the National Cancer Institute*, 110(10), 1059–1066. <https://doi.org/10.1093/jnci/djy027>
- 88) Slavin, T. P., Manjarrez, S., Pritchard, C. C., Gray, S & Weitzel, J. N. (2019). The effects of genomic germline variant reclassification on clinical cancer care. *Oncotarget*, 10(4), 417–423. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26501>
- 89) Southey, M. C., Ramus, S. J., Dowty, J. G., Smith, L. D., Tesoriero, A. A., Wong, E & Hopper, J. L. (2011). Morphological predictors of BRCA1 germline mutations in young women with breast cancer. *British Journal of Cancer*, 104, 903–909. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.41>
- 90) Stadler, Z. K., Salo, M. E., Patil, S. M., Pietanza, M. C., Vijai, J., Saloustros, E & Robson, M. E. (2012). Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jewish families with breast and pancreatic cancer. *Cancer*, 118(2), 493–499. <https://doi.org/10.1002/cncr.26191>
- 91) Steffensen, A. Y., Dandanell, M., Jønson, L., Ejlertsen, B., Gerdes, A. M., Nielsen, F. C & Hansen, T. O. (2014). Functional characterization of BRCA1 gene variants by mini-gene splicing assay. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 22(12), 1362–1368. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.40>
- 92) Stuppia, L., Antonucci, I., Palka, G & Gatta, V. (2012). Use of the MLPA Assay in the Molecular Diagnosis of Gene Copy Number Alterations in Human Genetic Diseases.

International Journal of Molecular Science, 13, 3245–3276.
<https://doi.org/10.3390/ijms13033245>

- 93) Susswein, L. R., Marshall, M. L., Nusbaum, R., Vogel Postula, K. J., Weissman, S. M., Yackowski, L & Chung, W. K. (2016). Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10,000 patients referred for next-generation cancer panel testing. *Genetics in Medicine*, 18(8), 823–832. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.166>
- 94) Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y & Zhu, H. P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 13(11), 1387–1397. <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>
- 95) Szabo, C., Masiello, A., Ryan, J. F., Brody, L. C & Brody, L. C. (2000). The Breast Cancer Information Core: Database design, structure, and scope. *Human Mutation*, 16(2), 123–131. [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(200008\)16:2<123::AID-HUMU4>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/1098-1004(200008)16:2<123::AID-HUMU4>3.0.CO;2-Y)
- 96) Tang, J., Li, H., Luo, J., Mei, H., Peng, L & Li, X. (2016). The LSP1 rs3817198 T > C polymorphism contributes to increased breast cancer risk: A meta-analysis of twelve studies. *Oncotarget*, 7(39), 63960–63967. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11741>
- 97) Teng, L. S., Zheng, Y & Wang, H. H. (2008). BRCA1/2 associated hereditary breast cancer. *J Zhejiang UnivSci B*, 9(2), 85–89. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0710617>
- 98) Thomassen, M., Gerdes, A. M., Cruger, D., Jensen, P. K. A & Kruse, T. A. (2006). Low frequency of large genomic rearrangements of BRCA1 and BRCA2 in western Denmark. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 168(2), 168–171. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2005.12.016>
- 99) Toland, A. E & Andreassen, P. R. (2017). DNA repair-related functional assays for the classification of BRCA1 and BRCA2 variants: a critical review and needs assessment. *Journal of Medical Genetics*, 54(11), 721–731. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2017-104707>
- 100) Toland, A. E., Brody, L. C & BIC Steering Committee. (2019). Lessons learned from two decades of BRCA1 and BRCA2 genetic testing: the evolution of data sharing and variant classification. *Genetics in Medicine*, 21(7), 1476–1480. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0370-4>
- 101) Torres, G., Royer, R., Llacuachaqui, M., Akbari, M. R., Giuliano, A. R., Martinez, L & Narod, S. A. (2015). Recurrent BRCA1 and BRCA2 Mutations in Mexican Women with Breast

- Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 24(3), 498–505.
<https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-13-0980>
- 102) Villarreal, G. C., Álvarez, G. R. M., Pérez, P. C., Herrera, L. A., Herzog, J., Castillo, D & Weitzel, J. N. (2015). Significant clinical impact of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Mexico. *Cancer*, 121(3), 372–378. <https://doi.org/10.1002/cncr.29058>
- 103) Walsh, T., Casadei, S., Coats, K. H., Swisher, E., Stray, S. M., Higgins, J & King, M. C. (2006). Spectrum of Mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in Families at High Risk of Breast Cancer. *JAMA*, 295(12), 1379. <https://doi.org/10.1001/jama.295.12.1379>
- 104) Weitzel, J. N., Lagos, V., Blazer, K. R., Nelson, R., Ricker, C., Herzog, J & Neuhausen, S. (2005). Prevalence of BRCA Mutations and Founder Effect in High-Risk Hispanic Families. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 14(7), 1666–1671. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0072>
- 105) Weterings, E & Chen, D. J. (2008). The endless tale of non-homologous end-joining. *Cell Research*, 18(1), 114–124. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.3>
- 106) Willems, P. J. (2007). Susceptibility genes in breast cancer: more is less? *Clinical Genetics*, 72(6), 493–496. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00909.x>
- 107) Wu, H., Wu, X & Liang, Z. (2017). Impact of germline and somatic BRCA1/2 mutations: Tumor spectrum and detection platforms. *Gene Therapy*, 24(10), 601–609. <https://doi.org/10.1038/gt.2017.73>
- 108) Yixin, Y & Wei, D. (2014). Genomic Instability and Cancer. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*, 5. <https://doi.org/10.4172/2157-2518.1000165>
- 109) Zhu, B., Wang, J., Qin, L., Wang, L., Zheng, Y., Zhang, L & Wang, W. (2018). FGFR2 gene polymorphism rs2981582 is associated with non-functioning pituitary adenomas in Chinese Han population: a case-control study. *Bioscience Reports*, 38(6). <https://doi.org/10.1042/BSR20181081>

14. ANEXO

14.1 TABLA DE MUTACIONES *BRCA1* (1994-2018)

MUTACIONES <i>BRCA1</i>							
Año	<i>InDel</i>	<i>Missense</i>	<i>Nonsense</i>	<i>Splice site</i>	<i>Large Rearrangement</i>	VUS	Cita de referencias 14.3
1994	2	1	1				(Miki <i>et al</i> , 1994)
1994	6	2	1				(Friedman <i>et al</i> , 1994)
1994	4	2	2				(Castilla <i>et al</i> , 1994)
1994	4						(Simard <i>et al</i> , 1994)
1994						7	(Friedman <i>et al</i> , 1994)
1995	4	2					(Struewing <i>et al</i> , 1995)
1995	5		1				(Hogervorst <i>et al</i> , 1995)
1995	3		1	2			(Friedman <i>et al</i> , 1995)
1995	4					1	(Takahashi <i>et al</i> , 1995)
1996	5	1	1				(Montagna <i>et al</i> , 1996)
1996	6	1	1	1			(Johannsson <i>et al</i> , 1996)
1996		1					(Barker <i>et al</i> , 1996)
1996	3	2					(Caligo <i>et al</i> , 1996)
1996		5	8			5	(Durocher <i>et al</i> , 1996)
1996	3		1				(Phelan <i>et al</i> , 1996)
1996					1		(Tangir <i>et al</i> , 1996)
1997				1			(Hamann <i>et al</i> , 1997)
1997		1	2				(Sobczak <i>et al</i> , 1997)
1997	10	9	2				(Stoppa <i>et al</i> , 1997)
1997		1	1				(Hakansson <i>et al</i> , 1997)
1997			1				(Laplace <i>et al</i> , 1997)
1997					1		(Puget <i>et al</i> , 1997)
1997					1		(Swensen <i>et al</i> , 1997)
1997				1	2		(Petrij <i>et al</i> , 1997)
1998	1	1					(Satnarosa <i>et al</i> , 1998)
1998	1		4			4	(Wagner <i>et al</i> , 1998)
1998			1				(Eisinger <i>et al</i> , 1998)
1998	2	2				4	(Newman <i>et al</i> , 1998)
1998	1	8	1	2			(Katagiri <i>et al</i> , 1998)
1998	4		2	2		1	(Debatin <i>et al</i> , 1998)
1998			1				(Worsham <i>et al</i> , 1998)
1998			1				(Markoff <i>et al</i> , 1998)
1998				1			(Bergthorsson <i>et al</i> , 1998)
1998	1						(Presneau <i>et al</i> , 1998)
1998		8					(Greenman <i>et al</i> , 1998)
1998	1						(Ottini <i>et al</i> , 1998)
1998	1						(Schofield & Maties 1998)

1998	1		2				(Tartaglino <i>et al</i> , 1998)
1999	2	2		2			(Díez <i>et al</i> , 1999)
1999	4		1				(Laplace <i>et al</i> , 1999)
1999		1					(Janezic <i>et al</i> , 1999)
1999	1			1			(Claes <i>et al</i> , 1999b)
1999				1			(Scholl <i>et al</i> , 1999)
1999					1		(Puget <i>et al</i> , 1999)
1999			1				(Li <i>et al</i> , 1999)
1999				1			(Pyne <i>et al</i> , 1999)
1999					1		(Montagna <i>et al</i> , 1999)
1999	1	1		2		1	(Lallas <i>et al</i> , 1999)
1999	1						(Claes <i>et al</i> , 1999a)
1999	1						(Dangel <i>et al</i> , 1999)
1999	1						(Tesoriero <i>et al</i> , 1999)
2000		2					(Shiri <i>et al</i> , 2000)
2000	1					1	(Ozdogan <i>et al</i> , 2000)
2000	1					1	(Gao <i>et al</i> , 2000)
2000	3					1	(Shen <i>et al</i> , 2000)
2000	4		1	1			(Kiechle <i>et al</i> , 2000)
2000	1						(Hegde <i>et al</i> , 2000)
2000	1						(Spitzer <i>et al</i> , 2000)
2000	1			1			(Soares <i>et al</i> , 2000)
2001	2	1					(Machackova <i>et al</i> , 2001)
2001	13	1	1	1		1	(Sekine <i>et al</i> , 2001)
2001	1						(Steinmann <i>et al</i> , 2001)
2001	1	2					(Ricevuto <i>et al</i> , 2001)
2001	1						(Vaziri <i>et al</i> , 2001)
2001	7		4				(Ikeda <i>et al</i> , 2001)
2001					1		(Gada <i>et al</i> , 2001)
2001					1		(Gadb <i>et al</i> , 2001)
2002	2	1				2	(Patmasiriwat <i>et al</i> , 2002)
2002	1						(Phelan <i>et al</i> , 2002)
2002				2			(Saxena <i>et al</i> , 2002)
2002	1		2				(Kang <i>et al</i> , 2002)
2002	1	2				1	(Lort <i>et al</i> , 2002)
2002	1	1					(Kumar <i>et al</i> , 2002)
2002			1				(Palmieri <i>et al</i> , 2002)
2002	2						(Yassaee <i>et al</i> , 2002)
2002	2	1		3			(De la Hoya <i>et al</i> , 2002)
2002					1		(Frolov <i>et al</i> , 2002)
2002					3		(Casili <i>et al</i> , 2002)
2002		1					(Krigen <i>et al</i> , 2002)
2002						2	(Arnold <i>et al</i> , 2002)

2002	11	1	2	3			(Meindl, 2002)
2002	1	1				1	(Zhi <i>et al</i> , 2002)
2003		4				6	(Lee <i>et al</i> , 2003)
2003	1						(Rajkumar <i>et al</i> , 2003)
2003					3		(Hogervorst <i>et al</i> , 2003)
2003	3		1	2		9	(Meyer <i>et al</i> , 2003)
2003	1						(Manguoğlu <i>et al</i> , 2003)
2003						1	(Martínez <i>et al</i> , 2003)
2003		1	1				(Rostagno <i>et al</i> , 2003)
2003		6				5	(Valarmathi <i>et al</i> , 2003)
2003						4	(Hamann <i>et al</i> , 2003)
2003						3	(Campos <i>et al</i> , 2003)
2004	1	3					(Hedau <i>et al</i> , 2004)
2004	1						(Hadjisvvas <i>et al</i> , 2004)
2004			1				(Muller <i>et al</i> , 2002)
2004		4					(Coupier <i>et al</i> , 2004)
2004	2		1			1	(Choi <i>et al</i> , 2004)
2004	2	4	2			4	(Reeves <i>et al</i> , 2004)
2004					1	1	(Belogianni <i>et al</i> , 2004)
2004			1			13	(Seo <i>et al</i> , 2004)
2004		2				3	(Zuhlke <i>et al</i> , 2004)
2004					1		(Tancredi <i>et al</i> , 2004)
2004						1	(Malander <i>et al</i> , 2004)
2004						2	(Brose <i>et al</i> , 2004)
2004			1			6	(Valarmathi <i>et al</i> , 2004)
2005	1					1	(Frost <i>et al</i> , 2005)
2005					1		(Ward <i>et al</i> , 2005)
2005	1						(Janatova <i>et al</i> , 2005)
2005						7	(Kataki <i>et al</i> , 2005)
2005	4		1		1		(Bergman <i>et al</i> , 2005)
2005	2			2		8	(Song <i>et al</i> , 2005)
2005	1						(Tommasi <i>et al</i> , 2005)
2005						4	(Velasco <i>et al</i> , 2005)
2005						3	(McKean <i>et al</i> , 2005)
2005					3		(Woodward <i>et al</i> , 2005)
2005			1				(Pal <i>et al</i> , 2005)
2006					2		(Preisler <i>et al</i> , 2006)
2006					7		(Walsh <i>et al</i> , 2006)
2006	3					18	(Saxena <i>et al</i> , 2006)
2006	2	3	1			3	(Kim <i>et al</i> , 2006)
2006	2		1		1	1	(Peixoto <i>et al</i> , 2006)
2006		1				1	(Capalbo <i>et al</i> , 2006)
2006						3	(Kuperstein <i>et al</i> , 2006)

2006			1			8	(Maillet <i>et al</i> , 2006)
2006						2	(Giannini <i>et al</i> , 2006)
2006	2			2		3	(Song <i>et al</i> , 2006)
2006						2	(Salazar <i>et al</i> , 2006)
2006	3		1			6	(Han <i>et al</i> , 2006)
2006	2					1	(Infante <i>et al</i> , 2006)
2006						2	(Chen <i>et al</i> , 2006)
2006	8		2			3	(van der Hout <i>et al</i> , 2006)
2006	1						(Elstrodt <i>et al</i> , 2006)
2006					1		(Thomassen <i>et al</i> , 2006)
2006					7		(De la Hoya <i>et al</i> , 2006)
2007						6	(Beristain <i>et al</i> , 2007)
2007		1			1	3	(Ang <i>et al</i> , 2007)
2007		2	1				(Vinodkumar <i>et al</i> , 2007)
2007						3	(Eachkoti <i>et al</i> , 2007)
2007			1			10	(Awadelkarim <i>et al</i> , 2007)
2007		1				3	(Loizidou <i>et al</i> , 2007)
2007	1						(Konecny <i>et al</i> , 2007)
2007	1				1		(Machado <i>et al</i> , 2007)
2007	8				6		(Ramus <i>et al</i> , 2007)
2007	2						(Tikhomirova <i>et al</i> , 2007)
2007					5		(Vasckova <i>et al</i> , 2007)
2007					2		(Lim <i>et al</i> , 2007)
2007					2		(Armaou <i>et al</i> , 2007)
2007					1		(Zikan <i>et al</i> , 2008)
2008	1					2	(Miramar <i>et al</i> , 2008)
2008	4		1			4	(Esteban <i>et al</i> , 2008)
2008					1		(Palanca <i>et al</i> , 2008)
2008					2		(Krajc <i>et al</i> , 2008)
2008					12		(Engert <i>et al</i> , 2008)
2008	1						(Konecny <i>et al</i> , 2008)
2008					1		(Pylkas <i>et al</i> , 2008)
2008					7		(Staaf <i>et al</i> , 2008)
2008	1	1		3		9	(Thirthagiri <i>et al</i> , 2008)
2008						1	(Cvok <i>et al</i> , 2008)
2008	1				2		(Ratajska <i>et al</i> , 2008)
2008		9				1	(Haitian <i>et al</i> , 2008)
2008				1			(Malik <i>et al</i> , 2008)
2008	2	1				3	(De Silva <i>et al</i> , 2008)
2008	10	2					(Machackova <i>et al</i> , 2008)
2009	2	1					(Vaidyanathan <i>et al</i> , 2009)
2009					2		(Hansen <i>et al</i> , 2009)
2009					1		(Marino <i>et al</i> , 2009)

2009					1		(Seong <i>et al</i> , 2009)
2009				1			(Zhou <i>et al</i> , 2009)
2010					5		(Ticha <i>et al</i> , 2010)
2010					1		(Zhang <i>et al</i> , 2010)
2010	1						(Hansen <i>et al</i> , 2010)
2010						1	(Aktas <i>et al</i> , 2010)
2010					3		(Del Valle <i>et al</i> , 2010)
2010	3		2				(Hannessy <i>et al</i> , 2010)
2010					2	4	(Cherbal <i>et al</i> , 2010)
2010	31	8	16			128	(Borg <i>et al</i> , 2010)
2010					2		(Sharifah <i>et al</i> , 2010)
2010			1				(Lyevleva <i>et al</i> , 2010)
2011					1		(Del Valle <i>et al</i> , 2011)
2011	1						(Diez <i>et al</i> , 2011)
2011					2		(Sanchez <i>et al</i> , 2011)
2011						3	(Ratanaphan <i>et al</i> , 2011)
2011					1		(Kwong <i>et al</i> , 2011)
2011						3	(Konecny <i>et al</i> , 2011)
2011						2	(Lheureux <i>et al</i> , 2011)
2011					1		(Sluiter <i>et al</i> , 2011)
2011	9	4		2		1	(Hansen <i>et al</i> , 2011)
2011		2				2	(Keshavarzi <i>et al</i> , 2011)
2011	2						(De Leeneer <i>et al</i> , 2012)
2012	1	3					(Saleh <i>et al</i> , 2012)
2012	1					1	(Tazzite <i>et al</i> , 2012)
2012							(Ruiz <i>et al</i> , 2012)
2012				1			(Mahfoudh <i>et al</i> , 2012)
2012	1						(Silva <i>et al</i> , 2012)
2012					1		(Herman <i>et al</i> , 2012)
2012						1	(Cortesi <i>et al</i> , 2012)
2012	1	6					(Zhang <i>et al</i> , 2012)
2012						4	(Kuo <i>et al</i> , 2012)
2012						11	(Cherbal <i>et al</i> , 2012)
2012			1				(Novakovic <i>et al</i> , 2012)
2012			1				(Noh <i>et al</i> , 2012)
2012	2					3	(Vaca <i>et al</i> , 2012)
2013	2						(De Juan <i>et al</i> , 2013)
2013					1		(Rudnicka <i>et al</i> , 2013)
2013					1		(Yassaee <i>et al</i> , 2013)
2013	1						(Holzmann <i>et al</i> , 2013)
2013	1						(Salgado <i>et al</i> , 2013)
2013				1			(Berzina <i>et al</i> , 2013)
2013	1						(Campos <i>et al</i> , 2013)

2013		1					(Chakraborty <i>et al</i> , 2013)
2013			1			6	(Laraqu <i>et al</i> , 2012)
2013	1	2			1		(Weitzel <i>et al</i> , 2013)
2013			1				(Stordal <i>et al</i> , 2013)
2013						1	(Stavropoulou <i>et al</i> , 2013)
2013					1		(Palanca <i>et al</i> , 2013)
2013	3				1		(Pal <i>et al</i> , 2014)
2014					3		(Seong <i>et al</i> , 2014)
2014					1		(Bell <i>et al</i> , 2014)
2014					1		(Cho <i>et al</i> , 2014)
2014					13		(Jackson <i>et al</i> , 2014)
2014					1		(Fachal <i>et al</i> , 2014)
2014	1						(Kim <i>et al</i> , 2014)
2014	1						(Concolino <i>et al</i> , 2014)
2014		1					(Yadav <i>et al</i> , 2014)
2014	1						(Jia <i>et al</i> , 2014)
2014	3				2		(Janavičius <i>et al</i> , 2014)
2014	1		1				(Bensam <i>et al</i> , 2014)
2014			1				(Gabaldó <i>et al</i> , 2014)
2014			1				(Biunno <i>et al</i> , 2014)
2015	1	1					(Yu <i>et al</i> , 2015)
2015	1		1				(Francies <i>et al</i> , 2015)
2015							(Gambino <i>et al</i> , 2015)
2015	8	4			3		(Villarreal <i>et al</i> , 2015)
2015		15					(Lu <i>et al</i> , 2015)
2015	1		1		1		(Wong <i>et al</i> , 2015)
2015	2						(Dodova <i>et al</i> , 2015)
2015	1						(Friedman <i>et al</i> , 2015)
2015				1			(Fleury <i>et al</i> , 2015)
2015			1				(Jeon <i>et al</i> , 2015)
2015		2				5	(Pal <i>et al</i> , 2015)
2015					3		(Kwong <i>et al</i> , 2015)
2015					5		(James <i>et al</i> , 2015)
2016					2	1	(Hackmann <i>et al</i> , 2016)
2016		3	2				(Mucaki <i>et al</i> , 2016)
2016	1					2	(Maistro <i>et al</i> , 2016)
2016	4	1					(Li <i>et al</i> , 2016)
2016			1				(Zorrieh <i>et al</i> , 2016)
2016		2					(Mundhofir <i>et al</i> , 2016)
2016	2		1				(Koczkowska <i>et al</i> , 2016)
2016				1			(Esposito <i>et al</i> , 2016)
2016	2						(Fernandes <i>et al</i> , 2016)
2016	7	2			1		(Mannan <i>et al</i> , 2016)

2017				1			(Yoon <i>et al</i> , 2017)
2017	1						(Jeong <i>et al</i> , 2017)
2017	1	1					(Gabaldó <i>et al</i> , 2017)
2017	1						(Kim <i>et al</i> , 2017)
2017	2	6				1	(Atshemyan <i>et al</i> , 2017)
2017				1			(Krivokuca <i>et al</i> , 2018)
2017	1	8		2		7	(Jarhelle <i>et al</i> , 2017)
2017					2		(Rashid <i>et al</i> , 2017)
2017						2	(Park <i>et al</i> , 2017)
2017					4		(Qian <i>et al</i> , 2017)
2017	5	5					(Rummel <i>et al</i> , 2017)
2017	6	5					(Santonocito <i>et al</i> , 2017)
2017						2	(Cock <i>et al</i> , 2018)
2017					2		(Preobrazhenskaya <i>et al</i> , 2017)
2017					2		(McVeigh <i>et al</i> , 2017)
2017		1					(Capone <i>et al</i> , 2018)
2017	3	2				8	(Zanella <i>et al</i> , 2017)
2017	1	6				1	(Cherdyntseva <i>et al</i> , 2017)
2017	1			1		5	(Yang <i>et al</i> , 2017)
2018	3	1	1		1		(Mehta <i>et al</i> , 2018)
2018	1			2			(Shah <i>et al</i> , 2018)
2018				1			(Jansen <i>et al</i> , 2018)
2018	1		3			2	(Apeossos <i>et al</i> , 2018)
2018				1			(Yang <i>et al</i> , 2018)
2018	1						(Wang <i>et al</i> , 2018)
2018	2		1				(Pajares <i>et al</i> , 2018)
2018	2		4			2	(Liang <i>et al</i> , 2018)
2018	3					5	(Cardoso <i>et al</i> , 2018)
2018	2						(Alhuqail <i>et al</i> , 2018)
2018			2				(Kim <i>et al</i> , 2018)
2018				1			(Krivokuca <i>et al</i> , 2018)

14.2 TABLA DE MUTACIONES BRCA2 (1995-2018)

MUTACIONES BRCA2							
Año	InDel	Missense	Nonsense	Splice site	Large Rearrangement	VUS	Cita de referencias 14.3
1995	6						(Wooster <i>et al</i> , 1995)
1996	1	1					(Lancaster <i>et al</i> , 1996)
1996	2	1					(Miki <i>et al</i> , 1996)
1997	1	1					(Osorio <i>et al</i> , 1997)
1997	2		1				(Inoue <i>et al</i> , 1997)
1997	2	1					(Mavraki <i>et al</i> , 1997)
1997	8		2				(Håkansson <i>et al</i> , 1997)
1997	2						(Schubert <i>et al</i> , 1997)
1998	2	7	1	3			(Katagiri <i>et al</i> , 1998)
1998	2	1	3				(Ganguly <i>et al</i> , 1998)
1998					1		(Nordling <i>et al</i> , 1998)
1998					1		(Savelyeva <i>et al</i> , 1998)
1999	3	44					(Wagner <i>et al</i> , 1999)
1999	1						(Claes <i>et al</i> , 1999b)
1999	2						(Li <i>et al</i> , 1999)
1999	4						(Csokay <i>et al</i> , 1999)
1999	1						(Claes <i>et al</i> , 1999a)
2000		5					(Shiri <i>et al</i> , 2000)
2000	1						(Ozdogan <i>et al</i> , 2000)
2000	3						(Gao <i>et al</i> , 2000)
2000						2	(Sinclair <i>et al</i> , 2000)
2000	3		1				(Kiechle <i>et al</i> , 2000)
2000	1		2				(Ottini <i>et al</i> , 2000)
2000	1	1					(Plaschke <i>et al</i> , 2000)
2000	2						(Grzybowska <i>et al</i> , 2000)
2000						1	(Spitzer <i>et al</i> , 2000)
2001	2						(Machackova <i>et al</i> , 2001)
2001	3						(Sekine <i>et al</i> , 2001)
2001	1						(Steinmann <i>et al</i> , 2001)
2001	1						(Vaziri <i>et al</i> , 2001)
2001	10		6	1		4	(Ikeda <i>et al</i> , 2001)
2001	2	1				1	(Kwiatkowska <i>et al</i> , 2001)
2002	2					2	(Patmasiriw <i>et al</i> , 2002)
2002	1		1				(Kang <i>et al</i> , 2002)
2002	4	1		1			(Lort <i>et al</i> , 2002)
2002	3						(De la Hoya <i>et al</i> , 2002)
2002	3		1				(Tereschenko <i>et al</i> , 2002)

2002		1				2	(Kwiatkowska <i>et al</i> , 2002)
2002						1	(Murphy <i>et al</i> , 2002)
2002	1	3				2	(Hu <i>et al</i> , 2002)
2002	1	3					(Jakubowska <i>et al</i> , 2002)
2002	17		5	4			(Meindl, 2002)
2002	1						(El Harit <i>et al</i> , 2002)
2002	4		1				(Hilton <i>et al</i> , 2002)
2002	2						(Yassae <i>et al</i> , 2002)
2003	1		2	1		4	(Meyer <i>et al</i> , 2003)
2003	1	2					(Manguoğlu <i>et al</i> , 2003)
2003	1		1	1		1	(Martínez <i>et al</i> , 2003)
2003				1		1	(Claes <i>et al</i> , 2003)
2003	2					1	(Hamann <i>et al</i> , 2003)
2003	2					10	(Kanaan <i>et al</i> , 2003)
2003	2		2				(Duran <i>et al</i> , 2003)
2003			1			5	(Hadjisavvas <i>et al</i> , 2003)
2004		1	1			8	(Hadjisavvas <i>et al</i> , 2004)
2004	2	1	1			2	(Choi <i>et al</i> , 2004)
2004	1					11	(Seo <i>et al</i> , 2004)
2004					1		(Martínez <i>et al</i> , 2004)
2004			3			3	(Valarmathi <i>et al</i> , 2004)
2005						2	(Kataki <i>et al</i> , 2005)
2005	1						(Bergman <i>et al</i> , 2005)
2005		1				4	(Song <i>et al</i> , 2005)
2005						13	(Velasco <i>et al</i> , 2005)
2005	1						(Purnomosari <i>et al</i> , 2005)
2005	1						(Pietschmann <i>et al</i> , 2005)
2005	1	16				3	(Chen <i>et al</i> , 2005)
2005					2		(Woodward <i>et al</i> , 2005)
2005			1				(Pal <i>et al</i> , 2005)
2006	2				2		(Walsh <i>et al</i> , 2006)
2006	6					11	(Saxena <i>et al</i> , 2006)
2006	2	10	1			11	(Kim <i>et al</i> , 2006)
2006	3		1			2	(Peixoto <i>et al</i> , 2006)
2006	1		2	1		11	(Capalbo <i>et al</i> , 2006)
2006			3			10	(Maillet <i>et al</i> , 2006)
2006	1		1			9	(Giannini <i>et al</i> , 2006)
2006						3	(Song <i>et al</i> , 2006)
2006	1		1			5	(Salazar <i>et al</i> , 2006)
2006	2		1			21	(Han <i>et al</i> , 2006)
2006	3		2			2	(Infante <i>et al</i> , 2006)

2006						2	(Chen <i>et al</i> , 2006)
2006	27		7			8	(van der Hout <i>et al</i> , 2006)
2006						2	(Bonatti <i>et al</i> , 2006)
2006					2		(Casili <i>et al</i> , 2006)
2007			2			5	(Beristain <i>et al</i> , 2007)
2007		2	7			1	(Ang <i>et al</i> , 2007)
2007		1	2			3	(Awadelkarim <i>et al</i> , 2007)
2007	1					2	(Loizidou <i>et al</i> , 2007)
2007	1					4	(Monne <i>et al</i> , 2007)
2007	2		1				(Machado <i>et al</i> , 2007)
2007	1				1		(Ramus <i>et al</i> , 2007)
2007					4		(Gutiérrez <i>et al</i> , 2007)
2007					1		(Lim <i>et al</i> , 2007)
2007						1	(Kwong <i>et al</i> , 2008)
2007	2					8	(Syamala <i>et al</i> , 2007)
2007				1			(Smith <i>et al</i> , 2008)
2008	1						(Miramar <i>et al</i> , 2008)
2008	3		2			9	(Esteban <i>et al</i> , 2008)
2008					1		(Staaf <i>et al</i> , 2008)
2008	6	2				17	(Thirthagiri <i>et al</i> , 2008)
2008						7	(Cvok <i>et al</i> , 2008)
2008	2						(Ratajska <i>et al</i> , 2008)
2008				1			(Hansen <i>et al</i> , 2008)
2008	11	2					(Machackova <i>et al</i> , 2008)
2008				1			(Smith <i>et al</i> , 2008)
2008	2						(Akbari <i>et al</i> , 2008)
2009	1						(Vaidyanathan <i>et al</i> , 2009)
2009			1				(Torres <i>et al</i> , 2009)
2009					1		(Hansen <i>et al</i> , 2009)
2009				1			(Pensabene <i>et al</i> , 2009)
2009	1		1			2	(Goodheart <i>et al</i> , 2009)
2010					1		(Del Valle <i>et al</i> , 2010)
2010						10	(Cherbal <i>et al</i> , 2010)
2010	43	1	10			229	(Borg <i>et al</i> , 2010)
2010						1	(Steffensen <i>et al</i> , 2010)
2010						1	(Sanz <i>et al</i> , 2010)
2010	1						(Diez <i>et al</i> , 2010)
2010	1						(Salgado <i>et al</i> , 2010)
2010	3		1	1		3	(Balabas <i>et al</i> , 2010)
2011	1						(Pisanò <i>et al</i> , 2011)
2011					1		(Muller <i>et al</i> , 2011)

2011						1	(Konecny <i>et al</i> , 2011)
2011	2	3		1		4	(De Silva <i>et al</i> , 2011)
2011	6	10	4	2		2	(Hansen <i>et al</i> , 2011)
2011	1	2					(Kuusisto <i>et al</i> , 2011)
2011		1					(Keshavarzi <i>et al</i> , 2011)
2011	3		1			18	(Kote <i>et al</i> , 2011)
2011		6					(Zhong <i>et al</i> , 2011)
2011	1						(De Leeneer <i>et al</i> , 2012)
2011					1		(Gonzalez <i>et al</i> , 2011)
2012				1			(Anczuków <i>et al</i> , 2012)
2012	1					5	(Vietri <i>et al</i> , 2012)
2012	3					2	(Tazzite <i>et al</i> , 2012)
2012					4		(Ruiz de Garibay <i>et al</i> , 2012)
2012						24	(Cherbal <i>et al</i> , 2012)
2012	1		1				(Novaković <i>et al</i> , 2012)
2012	3						(Noh <i>et al</i> , 2012)
2012	2						(Vaca <i>et al</i> , 2012)
2013	4			1	1		(De Juan <i>et al</i> , 2013)
2013	4						(Berzina <i>et al</i> , 2013)
2013	1	2					(Weitzel <i>et al</i> , 2013)
2013	1						(Dobričić <i>et al</i> , 2013)
2013	2	1					(Pal <i>et al</i> , 2014)
2013	2						(Akbari <i>et al</i> , 2014)
2014					3		(Jackson <i>et al</i> , 2014)
2014	1						(Concolino <i>et al</i> , 2014)
2014	1						(Yadav <i>et al</i> , 2014)
2014	4						(Janavičius <i>et al</i> , 2014)
2014	2	1					(Balabanski <i>et al</i> , 2014)
2014	2						(Akbari <i>et al</i> , 2014)
2014				1			(Bakker <i>et al</i> , 2014)
2014	1	2					(Bensam <i>et al</i> , 2014)
2014			1				(Guaoua <i>et al</i> , 2014)
2014		3	1				(Maier <i>et al</i> , 2014)
2014		1					(Ayub <i>et al</i> , 2014)
2014					1		(Kim <i>et al</i> , 2014)
2014					1		(Wang <i>et al</i> , 2014)
2015		1					(Yu <i>et al</i> , 2015)
2015			1			4	(Francies <i>et al</i> , 2015)
2015	1						(Hadiji <i>et al</i> , 2015)
2015	2						(Hernan <i>et al</i> , 2015)
2015	6						(Villarreal <i>et al</i> , 2015)

2015					1		(Timoteo <i>et al</i> , 2015)
2015	8						(Wong <i>et al</i> , 2015)
2015	2						(Dodova <i>et al</i> , 2015)
2015	1					2	(Pal <i>et al</i> , 2015)
2015					1		(Kwong <i>et al</i> , 2015)
2015					3		(James <i>et al</i> , 2015)
2015			2				(Ali <i>et al</i> , 2016)
2015		1				1	(Garre <i>et al</i> , 2015)
2015			1				(Furukawa <i>et al</i> , 2015)
2015				1			(Ahlborn <i>et al</i> , 2015)
2016					1		(Hackmann <i>et al</i> , 2016)
2016	1	2					(Mucaki <i>et al</i> , 2016)
2016	1						(Henouda <i>et al</i> , 2016)
2016	1					17	(Maistro <i>et al</i> , 2016)
2016			1				(Zorrieh <i>et al</i> , 2016)
2016	2	3	2			2	(Yassaee <i>et al</i> , 2016)
2016	2		1				(Koczkowska <i>et al</i> , 2016)
2016	4					3	(Fernandes <i>et al</i> , 2016)
2016	2						(Ali <i>et al</i> , 2016)
2016						1	(Shin <i>et al</i> , 2016)
2016	1	1					(Mannan <i>et al</i> , 2016)
2017					1		(Torres <i>et al</i> , 2017)
2017	1						(Kim <i>et al</i> , 2017)
2017	1	7				1	(Atshemyan <i>et al</i> , 2017)
2017						3	(Park <i>et al</i> , 2017)
2017	1				16		(Qian <i>et al</i> , 2017)
2017					1		(Purshouse <i>et al</i> , 2017)
2017		1					(Elimam <i>et al</i> , 2017)
2017	6	6				1	(Rummel <i>et al</i> , 2017)
2017	8	10					(Santonocito <i>et al</i> , 2017)
2017						1	(Cock <i>et al</i> , 2018)
2017					1		(Concolino <i>et al</i> , 2017)
2017		6		1		6	(Jarhelle <i>et al</i> , 2017)
2017	1	6					(Capone <i>et al</i> , 2018)
2017		3		3		7	(Zanella <i>et al</i> , 2017)
2017	1						(Yang <i>et al</i> , 2017)
2017	1		1				(Ahmadloo <i>et al</i> , 2017)
2018	1						(Mehta <i>et al</i> , 2018)
2018	2						(Shah <i>et al</i> , 2018)
2018	3		1	2	1	6	(Apessos <i>et al</i> , 2018)
2018					1		(Baert <i>et al</i> , 2018)

2018			1				(Li <i>et al</i> , 2018)
2018	1						(De Souza <i>et al</i> , 2018)
2018	4		1				(Pajares <i>et al</i> , 2018)
2018	10		3			2	(Liang <i>et al</i> , 2018)
2018	2		3	1		1	(Cardoso <i>et al</i> , 2018)
2018	2						(Alhuqail <i>et al</i> , 2018)

14.3 REFERENCIAS DE MUTACIONES

- 1) Ahlborn, L. B., Steffensen, A. Y., Jønson, L., Djursby, M., Nielsen, F. C., Gerdes, A. M & Hansen, T. V. O. (2015). Identification of a breast cancer family double heterozygote for RAD51C and BRCA2 gene mutations. *Familial Cancer*, 14(1), 129–133. <https://doi.org/10.1007/s10689-014-9747-y>
- 2) Ahmadloo, S., Nakaoka, H., Hayano, T., Hosomichi, K., You, H., Utsuno, E & Inoue, I. (2017). Rapid and cost effective high throughput sequencing for identification of germline mutations of BRCA1 and BRCA2. *Journal of Human Genetics*, 62(5), 561–567. <https://doi.org/10.1038/jhg.2017.5>
- 3) Akbari, M. R., Malekzadeh, R., Nasrollahzadeh, D., Amanian, D., Islami, F., Li, S & Narod, S. A. (2008). Germline BRCA2 mutations and the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Oncogene*, 27(9), 1290–1296. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210739>
- 4) Akbari, M., Donenberg, T., Lunn, J., Curling, D., Turnquest, T., Krill, J. E & Hurley, J. (2014). The spectrum of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer patients in the Bahamas. *Clinical Genetics*, 85(1), 64–67. <https://doi.org/10.1111/cge.12132>
- 5) Aktas, D., Gultekin, M., Kabacam, S., Alikasifoglu, M., Turan, A. T., Tulunay, G & Ayhan, A. (2010). Identification of point mutations and large rearrangements in the BRCA1 gene in 667 Turkish unselected ovarian cancer patients. *Gynecologic Oncology*, 119(1), 131–135. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2010.05.018>
- 6) Alhuqail, A. J., Alzahrani, A., Almubarak, H., Al, Q. S., Alghofaili, L., Almoghrabi, N & Karakas, B. (2018). High prevalence of deleterious BRCA1 and BRCA2 germline mutations in arab breast and ovarian cancer patients. *Breast Cancer Research and Treatment*, 168(3), 695–702. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4635-4>
- 7) Ali, S. M., Pal, S. K., Wang, K., Palma, N. A., Sanford, E., Bailey, M & Miller, V. A. (2016). Comprehensive Genomic Profiling of Advanced Penile Carcinoma Suggests a High Frequency of Clinically Relevant Genomic Alterations. *The Oncologist*, 21(1), 33–39. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2015-0241>
- 8) Anczuków, O., Buisson, M., Léoné, M., Coutanson, C., Lasset, C., Calender, A & Mazoyer, S. (2012). BRCA2 deep intronic mutation causing activation of a cryptic exon: opening toward a new preventive therapeutic strategy. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the*

- American Association for Cancer Research*, 18(18), 4903–4909. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-1100>
- 9) Ang, P., Lim, I. H. K., Lee, T. C., Luo, J. T., Ong, D. C. T., Tan, P. H & Lee, A. S. G. (2007). BRCA1 and BRCA2 mutations in an Asian clinic based population detected using a comprehensive strategy. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 16(11), 2276–2284. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0403>
- 10) Apeessos, A., Agiannitopoulos, K., Pepe, G., Tsaousis, G. N., Papadopoulou, E., Metaxa, M. V & Nasioulas, G. (2018). Comprehensive BRCA mutation analysis in the Greek population. Experience from a single clinical diagnostic center. *Cancer Genetics*, 220, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2017.10.002>
- 11) Armaou, S., Konstantopoulou, I., Anagnostopoulos, T., Razis, E., Boukovinas, I., Xenidis, N & Yannoukakos, D. (2007). Novel genomic rearrangements in the BRCA1 gene detected in greek breast/ovarian cancer patients. *European Journal of Cancer*, 43(2), 443–453. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2006.09.021>
- 12) Arnold, N., Peper, H., Bandick, K., Kreikemeier, M., Karow, D., Teegen, B & Jonat, W. (2002). Establishing a control population to screen for the occurrence of nineteen unclassified variants in the BRCA1 gene by denaturing high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 782(1–2), 99–104. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00696-7](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00696-7)
- 13) Atshemyan, S., Chavushyan, A., Berberian, N., Sahakyan, A., Zakharyan, R & Arakelyan, A. (2017). Characterization of BRCA1/2 mutations in patients with family history of breast cancer in Armenia. *F1000Research*, 6, 29. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10434.1>
- 14) Awadelkarim, K. D., Aceto, G., Veschi, S., Elhaj, A., Morgano, A., Mohamedani, A. A & Mariani, C. R. (2007). BRCA1 and BRCA2 status in a Central Sudanese series of breast cancer patients: interactions with genetic, ethnic and reproductive factors. *Breast Cancer Research and Treatment*, 102(2), 189–199. <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9303-z>
- 15) Ayub, S. G., Rasool, S., Ayub, T., Khan, S. N., Wani, K. A & Adrabi, K. I. (2014). Mutational analysis of the BRCA2 gene in breast carcinoma patients of Kashmiri descent. *Molecular Medicine Reports*, 9(2), 749–753. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1862>
- 16) Baert, A., Machackova, E., Coene, I., Cremin, C., Turner, K., Portigal, T. C & Claes, K. B. M. (2018). Thorough in silico and in vitro cDNA analysis of 21 putative BRCA1 and BRCA2 splice variants and a complex tandem duplication in BRCA2 allowing the identification of activated

- cryptic splice donor sites in BRCA2 exon 11. *Human Mutation*, 39(4), 515–526.
<https://doi.org/10.1002/humu.23390>
- 17) Bakker, J. L., Thirthagiri, E., van Mil, S. E., Adank, M. A., Ikeda, H., Verheul, H. M. W & Waisfisz, Q. (2014). A Novel Splice Site Mutation in the Noncoding Region of *BRCA2* : Implications for Fanconi Anemia and Familial Breast Cancer Diagnostics. *Human Mutation*, 35(4), 442–446.
<https://doi.org/10.1002/humu.22505>
- 18) Balabanski, L., Antov, G., Dimova, I., Ivanov, S., Nacheva, M., Gavrilov, I & Toncheva, D. (2014). Next-generation sequencing of BRCA1 and BRCA2 in breast cancer patients and control subjects. *Molecular and Clinical Oncology*, 2(3), 435–439.
<https://doi.org/10.3892/mco.2014.251>
- 19) Balabas, A., Skasko, E., Nowakowska, D., Niwinska, A & Blecharz, P. (2010). Novel germline mutations in BRCA2 gene among breast and breast-ovarian cancer families from Poland. *Familial Cancer*, 9(3), 267–274. <https://doi.org/10.1007/s10689-010-9338-5>
- 20) Barker, D. F., Almeida, E. R., Casey, G., Fain, P. R., Liao, S. Y., Masunaka, I & Anton, C. H. (1996). BRCA1 R841W: a strong candidate for a common mutation with moderate phenotype. *Genetic Epidemiology*, 13(6), 595–604. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2272\(1996\)13:6<595::AID-GEPI5>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2272(1996)13:6<595::AID-GEPI5>3.0.CO;2-#)
- 21) Bell, K., Hodgson, N., Levine, M., Sadikovic, B & Zbuk, K. (2014). Double heterozygosity for germline mutations in BRCA1 and p53 in a woman with early onset breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 146(2), 447–450. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3011-x>
- 22) Belogianni, I., Apeessos, A., Mihalatos, M., Razi, E., Labropoulos, S., Petounis, A & Nasioulas, G. (2004). Characterization of a novel large deletion and single point mutations in the BRCA1 gene in a Greek cohort of families with suspected hereditary breast cancer. *BMC Cancer*, 4(1), 61.
<https://doi.org/10.1186/1471-2407-4-61>
- 23) Bensam, M., Hafez, E., Awad, D., El, S. M & Balbaa, M. (2014). Detection of New Point Mutations of BRCA1 and BRCA2 in Breast Cancer Patients. *Biochemical Genetics*, 52(1–2), 15–28. <https://doi.org/10.1007/s10528-013-9623-8>
- 24) Bergman, A., Flodin, A., Engwall, Y., Arkblad, E. L., Berg, K., Einbeigi, Z & Nordling, M. (2005). A high frequency of germline BRCA1/2 mutations in western Sweden detected with complementary screening techniques. *Familial Cancer*, 4(2), 89–96.
<https://doi.org/10.1007/s10689-004-5812-2>

- 25) Bergthorsson, J. T., Jonasdottir, A., Johannesdottir, G., Arason, A., Egilsson, V., Gayther, S & Barkardottir, R. B. (1998). Identification of a novel splice-site mutation of the BRCA1 gene in two breast cancer families: screening reveals low frequency in Icelandic breast cancer patients. *Human Mutation*, 1, S195-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9452084>
- 26) Beristain, E., Martínez, B. C., Guerra, I., Viguera, N., Moreno, J., Ibañez, E & Tejada, M. I. (2007). Differences in the frequency and distribution of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast/ovarian cancer cases from the Basque country with respect to the Spanish population: implications for genetic counselling. *Breast Cancer Research and Treatment*, 106(2), 255–262. <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9489-0>
- 27) Berzina, D., Nakazawa, M. M., Zestkova, J., Aksenoka, K., Irmejs, A., Gardovskis, A & Miklasevics, E. (2013). BRCA1/2 mutation screening in high-risk breast/ovarian cancer families and sporadic cancer patient surveilling for hidden high-risk families. *BMC Medical Genetics*, 14(1), 61. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-14-61>
- 28) Biunno, I., Aceto, G., Awadelkarim, K. D., Morgano, A., Elhaj, A., Eltayeb, E. A & Mariani, C. R. (2014). BRCA1 point mutations in premenopausal breast cancer patients from Central Sudan. *Familial Cancer*, 13(3), 437–444. <https://doi.org/10.1007/s10689-014-9717-4>
- 29) Bonatti, F., Pepe, C., Tancredi, M., Lombardi, G., Aretini, P., Sensi, E & Caligo, M. A. (2006). RNA-based analysis of BRCA1 and BRCA2 gene alterations. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 170(2), 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2006.05.005>
- 30) Borg, A., Haile, R. W., Malone, K. E., Capanu, M., Diep, A., Törngren, T & Bernstein, J. L. (2010). Characterization of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations and variants of unknown clinical significance in unilateral and bilateral breast cancer: the WECARE study. *Human Mutation*, 31(3), E1200-40. <https://doi.org/10.1002/humu.21202>
- 31) Brose, M. S., Volpe, P., Paul, K., Stopfer, J. E., Colligon, T. A., Calzone, K. A & Weber, B. L. (2004). Characterization of Two Novel BRCA1 Germline Mutations Involving Splice Donor Sites. *Genetic Testing*, 8(2), 133–138. <https://doi.org/10.1089/gte.2004.8.133>
- 32) Caligo, M. A., Ghimenti, C., Cipollini, G., Ricci, S., Brunetti, I., Marchetti, V & Bevilacqua, G. (1996). BRCA1 germline mutational spectrum in Italian families from Tuscany: a high frequency of novel mutations. *Oncogene*, 13(7), 1483–1488. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8875986>
- 33) Campos, B., Balmaña, J., Gardenyes, J., Valenzuela, I., Abad, O., Fàbregas, P & Díez, O. (2013). Germline mutations in NF1 and BRCA1 in a family with neurofibromatosis type 1 and early-

- onset breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 139(2), 597–602. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2538-6>
- 34)Campos, B., Díez, O., Domènech, M., Baena, M., Balmaña, J., Sanz, J & Baiget, M. (2003). RNA analysis of eight BRCA1 and BRCA2 unclassified variants identified in breast/ovarian cancer families from Spain. *Human Mutation*, 22(4), 337. <https://doi.org/10.1002/humu.9176>
- 35)Capalbo, C., Ricevuto, E., Vestri, A., Ristori, E., Sidoni, T., Buffone, O & Giannini, G. (2006). BRCA1 and BRCA2 genetic testing in Italian breast and/or ovarian cancer families: mutation spectrum and prevalence and analysis of mutation prediction models. *Annals of Oncology*, 17(7), 34–40. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl947>
- 36)Capone, G. L., Putignano, A. L., Trujillo Saavedra, S., Paganini, I., Sestini, R., Gensini, F & Porfirio, B. (2018). Evaluation of a Next-Generation Sequencing Assay for BRCA1 and BRCA2 Mutation Detection. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 20(1), 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.09.005>
- 37)Cardoso, F. C., Goncalves, S., Mele, P. G., Liria, N. C., Sganga, L., Diaz, P. I & Solano, A. R. (2018). BRCA1 and BRCA2 mutations and clinical interpretation in 398 ovarian cancer patients: comparison with breast cancer variants in a similar population. *Human Genomics*, 12(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s40246-018-0171-5>
- 38)Casilli, F., Tournier, I., Sinilnikova, O. M., Coulet, F., Soubrier, F., Houdayer, C & Tosi, M. (2006). The contribution of germline rearrangements to the spectrum of BRCA2 mutations. *Journal of Medical Genetics*, 43(9), 49–49. <https://doi.org/10.1136/jmg.2005.040212>
- 39)Casilli, F., Di Rocco, Z. C., Gad, S., Tournier, I., Stoppa, L. D., Frebourg, T & Tosi, M. (2002). Rapid detection of novelBRCA1 rearrangements in high-risk breast-ovarian cancer families using multiplex PCR of short fluorescent fragments. *Human Mutation*, 20(3), 218–226. <https://doi.org/10.1002/humu.10108>
- 40)Castilla, L. H., Couch, F. J., Erdos, M. R., Hoskins, K. F., Calzone, K., Garber, J. E & Weber, B. L. (1994). Mutations in the BRCA1 gene in families with early-onset breast and ovarian cancer. *Nature Genetics*, 8(4), 387–391. <https://doi.org/10.1038/ng1294-387>
- 41) Chakraborty, A., Katarkar, A., Chaudhuri, K., Mukhopadhyay, A & Basak, J. (2013). Detection of a novel mutation in exon 20 of the BRCA1 gene. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 18(4), 631–638. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.2478/s11658-013-0110-3>

- 42)Chen, F. M., Hou, M. F., Chang, M. Y., Wang, J. Y., Hsieh, J. S., Ou, Y. F & Lin, S. R. (2005). High frequency of somatic missense mutation of BRCA2 in female breast cancer from Taiwan. *Cancer Letters*, 220(2), 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.10.024>
- 43)Chen, X., Truong, T. T. N., Weaver, J., Bove, B. A., Cattie, K., Armstrong, B. A & Godwin, A. K. (2006). Intronic alterations in BRCA1 and BRCA2: effect on mRNA splicing fidelity and expression. *Human Mutation*, 27(5), 427–435. <https://doi.org/10.1002/humu.20319>
- 44)Cherbal, F., Bakour, R., Adane, S., Boualga, K., Benais, P. G & Maillet, P. (2010). BRCA1 and BRCA2 germline mutations screening in Algerian breast/ovarian cancer families. *Disease Markers*, 28(6), 377–384. <https://doi.org/10.3233/DMA-2010-0718>
- 45)Cherbal, F., Salhi, N., Bakour, R., Adane, S., Boualga, K & Maillet, P. (2012). BRCA1 and BRCA2 unclassified variants and missense polymorphisms in Algerian breast/ovarian cancer families. *Disease Markers*, 32(6), 343–353. <https://doi.org/10.3233/DMA-2012-0893>
- 46)Cherdyntseva, N., Gervas, P., Voropaeva, E., Denisov, E., Pisareva, L., Malinovskaya, E & Choyznzonov, E. (2017). New variants in the BRCA1 gene in Buryat Mongol breast cancer patients: Report from two families. *Cancer Biomarkers*, 18(3), 291–296. <https://doi.org/10.3233/CBM-161649>
- 47)Cho, J. Y., Cho, D. Y., Ahn, S. H., Choi, S. Y., Shin, I., Park, H. G & Son, B. H. (2014). Large genomic rearrangement of BRCA1 and BRCA2 genes in familial breast cancer patients in Korea. *Familial Cancer*, 13(2), 205–211. <https://doi.org/10.1007/s10689-014-9704-9>
- 48)Choi, D. H., Lee, M. H., Bale, A. E., Carter, D & Haffty, B. G. (2004). Incidence of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Young Korean Breast Cancer Patients. *Journal of Clinical Oncology*, 22(9), 1638–1645. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.04.179>
- 49)Claes, K., Machackova, E., De Vos, M., Mortier, G., De Paepe, A & Messiaen, L. (1999a). Mutation analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes results in the identification of novel and recurrent mutations in 6/16 Flemish families with breast and/or ovarian cancer but not in 12 sporadic patients with early-onset disease. *Human Mutation*, 13(3), 256–256. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1999\)13:3<256::AID-HUMU12>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1999)13:3<256::AID-HUMU12>3.0.CO;2-M)
- 50)Claes, K., Machackova, E., De Vos, M., Poppe, B., De Paepe, A & Messiaen, L. (1999b). Mutation Analysis of the BRCA1 and BRCA2 Genes in the Belgian Patient Population and Identification of a Belgian Founder Mutation BRCA1 IVS5+3A>G. *Disease Markers*, 15(1–3), 69–73. <https://doi.org/10.1155/1999/241046>

- 51)Claes, K., Poppe, B., Machackova, E., Coene, I., Foretova, L., De Paepe, A & Messiaen, L. (2003). Differentiating pathogenic mutations from polymorphic alterations in the splice sites ofBRCA1 andBRCA2. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 37(3), 314–320. <https://doi.org/10.1002/gcc.10221>
- 52)Cock, R. A. M., Ossa, C. A., Garcia, H. I & Gomez, L. R. (2018). A multi-gene panel study in hereditary breast and ovarian cancer in Colombia. *Familial Cancer*, 17(1), 23–30. <https://doi.org/10.1007/s10689-017-0004-z>
- 53)Concolino, P., Costella, A., Minucci, A., Scaglione, G. L., Santonocito, C., Salutari, V & Capoluongo, E. (2014). A preliminary Quality Control (QC) for next generation sequencing (NGS) library evaluation turns out to be a very useful tool for a rapid detection of BRCA1/2 deleterious mutations. *Clinica Chimica Acta*, 437, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.06.026>
- 54)Concolino, P., Rizza, R., Hackmann, K., Minucci, A., Scaglione, G. L., De Bonis, M & Capoluongo, E. (2017). Identification and Characterization of a New BRCA2 Rearrangement in an Italian Family with Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome. *Molecular Diagnosis and Therapy*, 21(5), 539–545. <https://doi.org/10.1007/s40291-017-0288-6>
- 55)Cortesi, L., De Nicolo, A., Medici, V., Marino, M., Turchetti, D., Pradella, L. M & Federico, M. (2012). Collective evidence supports neutrality of BRCA1 V1687I, a novel sequence variant in the conserved THV motif of the first BRCT repeat. *Breast Cancer Research and Treatment*, 134(1), 435–441. <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2052-2>
- 56)Coupier, I., Baldeyron, C., Rousseau, A., Mosseri, V., Pages, B. S., Caux, M. V & Stoppa, L. D. (2004). Fidelity of DNA double strand break repair in heterozygous cell lines harbouring BRCA1 missense mutations. *Oncogene*, 23(4), 914–919. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207191>
- 57)Csokay, B., Udvarhelyi, N., Sulyok, Z., Besznyak, I., Ramus, S., Ponder, B & Olah, E. (1999). High frequency of germline BRCA2 mutations among Hungarian male breast cancer patients without family history. *Cancer Research*, 59(5), 995–998. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10070953>
- 58)Cvok, M. L., Cretnik, M., Musani, V., Ozretic, P & Levanat, S. (2008). New sequence variants in BRCA1 and BRCA2 genes detected by high-resolution melting analysis in an elderly healthy female population in Croatia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 46(10), 1376–1383. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2008.307>

- 59) Dangel, J., Wagner, C. J., Bove, B., Vanderveer, L., Itzen, M., Daly, M & Godwin, A. K. (1999). Novel germline BRCA1 mutation (155del4) in an African American with early-onset breast cancer. *Human Mutation*, 14(6), 545–545. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(199912\)14:6<545::AID-HUMU19>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(199912)14:6<545::AID-HUMU19>3.0.CO;2-G)
- 60) De Juan, J. I., García, C. Z., Palanca, S. S., Esteban, C. E., López, G. J. A., Segura, H. Á & Bolufer, G. P. (2013). Novel and recurrent BRCA1/BRCA2 mutations in early onset and familial breast and ovarian cancer detected in the Program of Genetic Counseling in Cancer of Valencian Community (eastern Spain). Relationship of family phenotypes with mutation prevalence. *Familial Cancer*, 12(4), 767–777. <https://doi.org/10.1007/s10689-013-9622-2>
- 61) De La Hoya, M., Gutiérrez, E. S., Velasco, E., Osorio, A., Sánchez de Abajo, A., Vega, A & Caldes, T. (2006). Genomic Rearrangements at the BRCA1 Locus in Spanish Families with Breast/Ovarian Cancer. *Clinical Chemistry*, 52(8), 1480–1485. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.070110>
- 62) De La Hoya, M., Osorio, A., Godino, J., Sulleiro, S., Tosar, A., Pérez, S. P & Caldés, T. (2002). Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and cancer phenotype in Spanish breast/ovarian cancer families: Implications for genetic testing. *International Journal of Cancer*, 97(4), 466–471. <https://doi.org/10.1002/ijc.1627>
- 63) De Leeneer, K., Coene, I., Crombez, B., Simkens, J., Van den Broecke, R., Bols, A & Claes, K. (2012). Prevalence of BRCA1/2 mutations in sporadic breast/ovarian cancer patients and identification of a novel de novo BRCA1 mutation in a patient diagnosed with late onset breast and ovarian cancer: implications for genetic testing. *Breast Cancer Research and Treatment*, 132(1), 87–95. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1544-9>
- 64) De Silva, S., Tennekoon, K. H., Karunanayake, E. H., De Silva, W., Amarasinghe, I & Angunawela, P. (2011). Novel sequence variants and common recurrent polymorphisms of BRCA2 in Sri Lankan breast cancer patients and a family with BRCA1 mutations. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2(6), 1163–1170. <https://doi.org/10.3892/etm.2011.337>
- 65) De Silva, W., Karunanayake, E. H., Tennekoon, K. H., Allen, M., Amarasinghe, I., Angunawala, P & Ziard, M. H. (2008). Novel sequence variants and a high frequency of recurrent polymorphisms in BRCA1 gene in Sri Lankan breast cancer patients and at risk individuals. *BMC Cancer*, 8(1), 214. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-214>
- 66) De Souza Timoteo, A. R., Gonçalves, A. É. M. M., Sales, L. A. P., Albuquerque, B. M., de Souza, J. E. S., de Moura, P. C. P & Lajus, T. B. P. (2018). A portrait of germline mutation in Brazilian at

- risk for hereditary breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 172(3), 637–646. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4938-0>
- 67) Debatin, I., Tonin, P., Royer, P. B., Dong, J., Chang, C. J., Wu, Y & Schumacher, V. (1998). A high proportion of mutations in the BRCA1 gene in German breast/ovarian cancer families with clustering of mutations in the 3' third of the gene. *Human Genetics*, 103(2), 154–161. <https://doi.org/10.1007/s004390050799>
- 68) Del Valle, J., Campos, O., Velasco, A., Darder, E., Menéndez, M., Feliubadaló, L & Lázaro, C. (2011). Identification of a new complex rearrangement affecting exon 20 of BRCA1. *Breast Cancer Research and Treatment*, 130(1), 341–344. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1673-1>
- 69) Del Valle, J., Feliubadaló, L., Nadal, M., Teulé, A., Miró, R., Cuesta, R & Lázaro, C. (2010). Identification and comprehensive characterization of large genomic rearrangements in the BRCA1 and BRCA2 genes. *Breast Cancer Research and Treatment*, 122(3), 733–743. <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0613-9>
- 70) Díez, O., Cortés, J., Domènech, M., Brunet, J., Del Río, E., Pericay, C & Baiget, M. (1999). BRCA1 mutation analysis in 83 Spanish breast and breast/ovarian cancer families. *International Journal of Cancer*, 83(4), 465–469. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19991112\)83:4<465::aid-ijc5>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19991112)83:4<465::aid-ijc5>3.0.co;2-4)
- 71) Díez, O., Gutiérrez, E. S., Masas, M., Tenés, A., Yagüe, C., Arcusa, A & Lloret, G. (2010). Identification of a new complex deleterious mutation in exon 18 of the BRCA2 gene in a hereditary male/female breast cancer family. *Breast Cancer Research and Treatment*, 123(2), 587–590. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-0830-2>
- 72) Díez, O., Pelegrí, A., Gadea, N., Gutiérrez, E. S., Masas, M., Tenés, A & Graña, B. (2011). Novel BRCA1 deleterious mutation (c.1949_1950delTA) in a woman of Senegalese descent with triple-negative early-onset breast cancer. *Oncology Letters*, 2(6), 1287–1289. <https://doi.org/10.3892/ol.2011.390>
- 73) Dobričić, J., Krivokuća, A., Brotto, K., Mališić, E., Radulović, S & Branković, M. M. (2013). Serbian high-risk families: extensive results on BRCA mutation spectra and frequency. *Journal of Human Genetics*, 58(8), 501–507. <https://doi.org/10.1038/jhg.2013.30>
- 74) Dodova, R. I., Mitkova, A. V., Dacheva, D. R., Hadjo, L. B., Vlahova, A. I., Hadjieva, M. S. T & Kaneva, R. P. (2015). Spectrum and frequencies of BRCA1/2 mutations in Bulgarian high risk breast cancer patients. *BMC Cancer*, 15, 523. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1516-2>

- 75) Duran, M., Esteban, C. E., Velasco, E., Infante, M & Miner, C. (2003). Mutational analysis of BRCA2 in Spanish breast cancer patients from Castilla-Leon: identification of four novel truncating mutations. *Human Mutation*, 21(4), 448. <https://doi.org/10.1002/humu.9126>
- 76) Durocher, F., Shattuck, E. D., McClure, M., Labrie, F., Skolnick, M. H., Goldgar, D. E & Simard, J. (1996). Comparison of BRCA1 polymorphisms, rare sequence variants and/or missense mutations in unaffected and breast/ovarian cancer populations. *Human Molecular Genetics*, 5(6), 835–842. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.6.835>
- 77) Eachkoti, R., Hussain, I., Afroze, D., Aejazaziz, S., Jan, M., Shah, Z. A & Siddiqi, M. A. (2007). BRCA1 and TP53 mutation spectrum of breast carcinoma in an ethnic population of Kashmir, an emerging high-risk area. *Cancer Letters*, 248(2), 308–320. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.08.012>
- 78) Eisinger, F., Jacquemier, J., Charpin, C., Stoppa, L. D., Bressac, P. B., Peyrat, J. P & Sobol, H. (1998). Mutations at BRCA1: the medullary breast carcinoma revisited. *Cancer Research*, 58(8), 1588–1592. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9563465>
- 79) El Harith, E. H. A., Abdel, H. M. S., Steinmann, D & Dork, T. (2002). BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer patients from Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*, 23(6), 700–704. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12070551>
- 80) Elimam, A. A., Aabdein, M. E. M. M., Eldeen, M. E. F. M., Altayb, H. N., Taha, M. A., Nimir, M. N & Hassan, M. A. S. (2017). Monoallelic characteristic-bearing heterozygous L1053X in BRCA2 gene among Sudanese women with breast cancer. *BMC Medical Genetics*, 18(1), 85. <https://doi.org/10.1186/s12881-017-0448-x>
- 81) Elstrodt, F., Hollestelle, A., Nagel, J. H. A., Gorin, M., Wasielewski, M., van den Ouweland, A & Schutte, M. (2006). BRCA1 Mutation Analysis of 41 Human Breast Cancer Cell Lines Reveals Three New Deleterious Mutants. *Cancer Research*, 66(1), 41–45. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2853>
- 82) Engert, S., Wappenschmidt, B., Betz, B., Kast, K., Kutsche, M., Hellebrand, H & Meindl, A. (2008). MLPA screening in the BRCA1 gene from 1,506 German hereditary breast cancer cases: novel deletions, frequent involvement of exon 17, and occurrence in single early-onset cases. *Human Mutation*, 29(7), 948–958. <https://doi.org/10.1002/humu.20723>
- 83) Esposito, M. V., Nunziato, M., Starnone, F., Telese, A., Calabrese, A., D’Aiuto, G & Salvatore, F. (2016). A novel pathogenic BRCA1 splicing variant produces partial intron retention in the

- mature messenger RNA. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12).
<https://doi.org/10.3390/ijms17122145>
- 84) Manguoğlu, A., Lüleci, G., Özçelik, T., Çolak, T., Schayek, H., Akaydin, M & Friedman, E. (2003). Germline mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes in Turkish breast/ovarian cancer patients. *Human Mutation*, 21(4), 444–445. <https://doi.org/10.1002/humu.9119>
- 85) Esteban, C. E., Bolufer, G. P., Palanca, S. S., Oltra, S. S., Barragán, G. E., Velasco, S. E & Martínez De Dueñas, E. (2008). Twenty three novel *BRCA1* and *BRCA2* sequence alterations in breast and/or ovarian cancer families of Eastern Spain. *Breast Cancer Research and Treatment*, 112(1), 69–73. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9818-y>
- 86) Fachal, L., Blanco, A., Santamariña, M., Carracedo, A & Vega, A. (2014). Large genomic rearrangements of *BRCA1* and *BRCA2* among patients referred for genetic analysis in Galicia (NW Spain): Delimitation and mechanism of three novel *BRCA1* rearrangements. *PLoS ONE*, 9(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093306>
- 87) Fernandes, G. C., Michelli, R. A. D., Galvão, H. C. R., Paula, A. E., Pereira, R., Andrade, C. E & Palmero, E. I. (2016). Prevalence of *BRCA1/BRCA2* mutations in a Brazilian population sample at risk for hereditary breast cancer and characterization of its genetic ancestry. *Oncotarget*, 7(49), 80465–80481. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12610>
- 88) Fleury, H., Communal, L., Carmona, E., Portelance, L., Arcand, S. L., Rahimi, K & Mes, M. A. M. (2015). Novel high-grade serous epithelial ovarian cancer cell lines that reflect the molecular diversity of both the sporadic and hereditary disease. *Genes & Cancer*, 6(9-10), 378-398. <https://doi.org/10.18632/genesandcancer.76>
- 89) Francies, F. Z., Wainstein, T., De Leeneer, K., Cairns, A., Murdoch, M., Nietz, S & Claes, K. B. M. (2015). *BRCA1*, *BRCA2* and *PALB2* mutations and *CHEK2* c.1100delC in different South African ethnic groups diagnosed with premenopausal and/or triple negative breast cancer. *BMC Cancer*, 15(1), 912. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1913-6>
- 90) Friedman, E., Efrat, N., Soussan, G. L., Dvir, A., Kaplan, Y., Ekstein, T & Topper, S. (2015). Low level constitutional mosaicism of a de novo *BRCA1* gene mutation. *British Journal of Cancer*, 112(4), 765–768. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.14>
- 91) Friedman, L. S., Ostermeyer, E. A., Lynch, E. D., Szabo, C. I., Anderson, L. A., Dowd, P & King, M. C. (1994). The search for *BRCA1*. *Cancer Research*, 54(24), 6374–6382. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7987831>

- 92)Friedman, L. S., Szabo, C. I., Ostermeyer, E. A., Dowd, P., Butler, L., Park, T & King, M. C. (1995). Novel inherited mutations and variable expressivity of BRCA1 alleles, including the founder mutation 185delAG in Ashkenazi Jewish families. *American Journal of Human Genetics*, 57(6), 1284–1297. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8533757>
- 93)Friedman, L. S., Ostermeyer, E. A., Szabo, C. I., Dowd, P., Lynch, E. D., Rowell, S. E & King, M. C. (1994). Confirmation of BRCA1 by analysis of germline mutations linked to breast and ovarian cancer in ten families. *Nature Genetics*, 8(4), 399–404. <https://doi.org/10.1038/ng1294-399>
- 94)Frolov, A., Prowse, A. H., Vanderveer, L., Bove, B., Wu, H & Godwin, A. K. (2002). DNA array-based method for detection of large rearrangements in theBRCA1 gene. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 35(3), 232–241. <https://doi.org/10.1002/gcc.10109>
- 95)Frost, P., Jugessur, A., Apold, J., Heimdal, K., Aloysius, T., Eliassen, A. K & Eiken, H. G. (2005). Complete mutation screening and haplotype characterization of the BRCA1 gene in 61 familial breast cancer patients from Norway. *Disease Markers*, 21(1), 29–36. <https://doi.org/10.1155/2005/542928>
- 96)Furukawa, T., Sakamoto, H., Takeuchi, S., Ameri, M., Kuboki, Y., Yamamoto, T & Shiratori, K. (2015). Whole exome sequencing reveals recurrent mutations in BRCA2 and FAT genes in acinar cell carcinomas of the pancreas. *Scientific Reports*, 5(1), 8829. <https://doi.org/10.1038/srep08829>
- 97)Gabaldó, B. X., Sarabia Meseguer, M. D., Marín Vera, M., Sánchez Bermúdez, A. I., Macías Cerrolaza, J. A., Sánchez Henarejos, P & Ruiz Espejo, F. (2017). Molecular characterization and clinical interpretation of BRCA1/BRCA2 variants in families from Murcia (south-eastern Spain) with hereditary breast and ovarian cancer: clinical pathological features in BRCA carriers and non-carriers. *Familial Cancer*, 16(4), 477–489. <https://doi.org/10.1007/s10689-017-9985-x>
- 98)Gabaldó, B. X., Sarabia, M. M. D., Alonso, R. J. L., Marín, V. M., Marín, Z. G., Sánchez, H. P & Ruiz E. F. (2014). Novel BRCA1 deleterious mutation (c.1918C>T) in familial breast and ovarian cancer syndrome who share a common ancestry. *Familial Cancer*, 13(3), 431–435. <https://doi.org/10.1007/s10689-014-9708-5>
- 99)Gad, S., Scheuner, M. T., Pages, B. S., Caux, M. V., Bensimon, A., Aurias, A & Stoppa, L. D. (2001). Identification of a large rearrangement of the BRCA1 gene using colour bar code on combed DNA in an American breast/ovarian cancer family previously studied by direct sequencing. *Journal of Medical Genetics*, 38(6), 388–392. <https://doi.org/10.1136/jmg.38.6.388>

- 100) Gad, S., Aurias, A., Puget, N., Mairal, A., Schurra, C., Montagna, M & Stoppa, L. D. (2001). Color bar coding the BRCA1 gene on combed DNA: A useful strategy for detecting large gene rearrangements. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 31(1), 75–84. <https://doi.org/10.1002/gcc.1120>
- 101) Gambino, G., Tancredi, M., Falaschi, E., Aretini, P & Caligo, M. A. (2015). Characterization of three alternative transcripts of the BRCA1 gene in patients with breast cancer and a family history of breast and/or ovarian cancer who tested negative for pathogenic mutations. *International Journal of Molecular Medicine*, 35(4), 950–956. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2103>
- 102) Ganguly, T., Dhulipala, R., Godmilow, L & Ganguly, A. (1998). High throughput fluorescence based conformation sensitive gel electrophoresis (F-CSGE) identifies six unique BRCA2 mutations and an overall low incidence of BRCA2 mutations in high risk BRCA1 negative breast cancer families. *Human Genetics*, 102(5), 549–556. <https://doi.org/10.1007/s004390050738>
- 103) Gao, Q., Tomlinson, G., Das, S., Cummings, S., Sveen, L., Fackenthal, J & Olopade, O. I. (2000). Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations among clinic based African American families with breast cancer. *Human Genetics*, 107(2), 186–191. <https://doi.org/10.1007/s004390000290>
- 104) Garre, P., Martín, L., Sanz, J., Romero, A., Tosar, A., Bando, I & Caldés, T. (2015). BRCA2 gene: a candidate for clinical testing in familial colorectal cancer type X. *Clinical Genetics*, 87(6), 582–587. <https://doi.org/10.1111/cge.12427>
- 105) Giannini, G., Capalbo, C., Ristori, E., Ricevuto, E., Sidoni, T., Buffone, A & Gulino, A. (2006). Novel BRCA1 and BRCA2 germline mutations and assessment of mutation spectrum and prevalence in Italian breast and/or ovarian cancer families. *Breast Cancer Research and Treatment*, 100(1), 83–91. <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9225-9>
- 106) Gonzalez, H. P., Gutierrez, E. S., Gaete, D., Reyes, J. M., Peralta, O., Waugh, E & Jara, L. (2011). Spectrum of BRCA1/2 point mutations and genomic rearrangements in high risk breast/ovarian cancer Chilean families. *Breast Cancer Research and Treatment*, 126(3), 705–716. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1170-y>
- 107) Goodheart, M., Rose, S., Hattermann, Z. M., Smith, B., De Young, B & Buller, R. (2009). BRCA2 alteration is important in clear cell carcinoma of the ovary. *Clinical Genetics*, 76(2), 161–167. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2009.01207.x>

- 108) Greenman, J., Mohammed, S., Ellis, D., Watts, S., Scott, G., Izatt, L & Mathew, C. (1998). Identification of missense and truncating mutations in the BRCA1 gene in sporadic and familial breast and ovarian cancer. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 21(3), 244–249. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9523200>
- 109) Grzybowska, E., Zientek, H., Jasinska, A., Rusin, M., Kozlowski, P., Sobczak, K & Krzyzosiak, W. J. (2000). High frequency of recurrent mutations in BRCA1 and BRCA2 genes in Polish families with breast and ovarian cancer. *Human Mutation*, 16(6), 482–490. [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(200012\)16:6<482::AID-HUMU5>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/1098-1004(200012)16:6<482::AID-HUMU5>3.0.CO;2-O)
- 110) Guaoua, S., Ratbi, I., Lyahyai, J., El Alaoui, S., Laarabi, F & Sefiani, A. (2014). Novel nonsense mutation of BRCA2 gene in a Moroccan man with familial breast cancer. *African Health Sciences*, 14(2), 468. <https://doi.org/10.4314/ahs.v14i2.25>
- 111) Gutiérrez, E. S., De La Hoya, M., Martínez, B. C., De Abajo, A. S., Cajal, T. R. Y., Llorca, G & Diez, O. (2007). Screening for large rearrangements of the BRCA2 gene in Spanish families with breast/ovarian cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 103(1), 103–107. <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9376-8>
- 112) Hackmann, K., Kuhlee, F., Betscheva, K. E., Kahlert, A. K., Mackenroth, L., Klink, B & Rump, A. (2016). Ready to clone: CNV detection and breakpoint fine mapping in breast and ovarian cancer susceptibility genes by high resolution array CGH. *Breast Cancer Research and Treatment*, 159(3), 585–590. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3956-z>
- 113) Hadiji, A. N., Trifa, F., Choura, M., Khabir, A., Sellami, B. T., Frikha, M & Mokdad, G. R. (2015). A novel BRCA2 in frame deletion in a Tunisian woman with early onset sporadic breast cancer. *Pathologie Biologie*, 63(4–5), 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2015.07.009>
- 114) Hadjisavvas, A., Charalambous, E., Adamou, A., Christodoulou, C. G & Kyriacou, K. (2003). BRCA2 germline mutations in Cypriot patients with familial breast/ovarian cancer. *Human Mutation*, 21(2), 171–171. <https://doi.org/10.1002/humu.9110>
- 115) Hadjisavvas, A., Charalambous, E., Adamou, A., Neuhausen, S. L., Christodoulou, C. G & Kyriacou, K. (2004). Hereditary breast and ovarian cancer in Cyprus: identification of a founder BRCA2 mutation. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 151(2), 152–156. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2003.09.020>
- 116) Haitian, Z., Yunfei, L., Jian, Z., Jian, L., Qinghua, L & Fuqiang, W. (2008). Mutation screening of the BRCA1 gene in sporadic breast cancer in southern Chinese populations. *The Breast*, 17(6), 563–567. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2008.08.003>

- 117) Håkansson, S., Johannsson, O., Johannsson, U., Sellberg, G., Loman, N., Gerdes, A. M & Borg, A. (1997). Moderate frequency of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Scandinavian familial breast cancer. *American Journal of Human Genetics*, 60(5), 1068–1078. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9150154>
- 118) Hamann, U., Haner, M., Stosiek, U., Bastert, G & Scott, R. J. (1997). Low frequency of BRCA1 germline mutations in 45 German breast/ovarian cancer families. *Journal of Medical Genetics*, 34(11), 884–888. <https://doi.org/10.1136/jmg.34.11.884>
- 119) Hamann, U., Liu, X., Bungardt, N., Ulmer, H. U., Bastert, G & Sinn, H. P. (2003). Similar contributions of BRCA1 and BRCA2 germline mutations to early onset breast cancer in Germany. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 11(6), 464–467. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200988>
- 120) Han, S. H., Lee, K. R., Lee, D. G., Kim, B. Y., Lee, K. E & Chung, W. S. (2006). Mutation analysis of BRCA1 and BRCA2 from 793 Korean patients with sporadic breast cancer. *Clinical Genetics*, 70(6), 496–501. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2006.00717.x>
- 121) Hansen, T. V. O., Bisgaard, M. L., Jønson, L., Albrechtsen, A., Filtenborg B. B., Eiberg, H & Nielsen, F. C. (2008). Novel de novo BRCA2 mutation in a patient with a family history of breast cancer. *BMC Medical Genetics*, 9(1), 58. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-9-58>
- 122) Hansen, T. V. O., Jønson, L., Albrechtsen, A., Steffensen, A. Y., Bergsten, E., Myrhøj, T & Nielsen, F. C. (2010). Identification of a novel BRCA1 nucleotide 4803delCC/c.4684delCC mutation and a nucleotide 249T>A/c.130T>A (p.Cys44Ser) mutation in two Greenlandic Inuit families: implications for genetic screening of Greenlandic Inuit families with high risk for breast. *Breast Cancer Research and Treatment*, 124(1), 259–264. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-0909-9>
- 123) Hansen, T. V. O., Jønson, L., Albrechtsen, A., Andersen, M. K., Ejlersen, B & Nielsen, F. C. (2009). Large BRCA1 and BRCA2 genomic rearrangements in Danish high risk breast ovarian cancer families. *Breast Cancer Research and Treatment*, 115(2), 315–323. <https://doi.org/10.1007/s10549-008-0088-0>
- 124) Hansen, T. V. O., Jønson, L., Steffensen, A. Y., Andersen, M. K., Kjaergaard, S., Gerdes, A. M & Nielsen, F. C. (2011). Screening of 1331 Danish breast and/or ovarian cancer families identified 40 novel BRCA1 and BRCA2 mutations. *Familial Cancer*, 10(2), 207–212. <https://doi.org/10.1007/s10689-011-9422-5>

- 125) Hedau, S., Jain, N., Husain, S. A., Mandal, A. K., Ray, G., Shahid, M & Das, B. C. (2004). Novel germline mutations in breast cancer susceptibility genes BRCA1, BRCA2 and p53 gene in breast cancer patients from India. *Breast Cancer Research and Treatment*, *88*(2), 177–186. <https://doi.org/10.1007/s10549-004-0593-8>
- 126) Hegde, M. R., Chong, B., Fawkner, M. J., Leary, J., Shelling, A. N., Culling, B & Love, D. R. (2000). Hierarchical mutation screening protocol for the BRCA1 gene. *Human Mutation*, *16*(5), 422–430. [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(200011\)16:5<422::AID-HUMU7>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1098-1004(200011)16:5<422::AID-HUMU7>3.0.CO;2-3)
- 127) Hennessy, B. T. J., Timms, K. M., Carey, M. S., Gutin, A., Meyer, L. A., Flake, D. D & Mills, G. B. (2010). Somatic Mutations in *BRCA1* and *BRCA2* Could Expand the Number of Patients That Benefit From Poly (ADP Ribose) Polymerase Inhibitors in Ovarian Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, *28*(22), 3570–3576. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.2997>
- 128) Henouda, S., Bensalem, A., Reggad, R., Serrar, N., Rouabah, L & Pujol, P. (2016). Contribution of BRCA1 and BRCA2 Germline Mutations to Early Algerian Breast Cancer. *Disease Markers*, *2016*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/7869095>
- 129) Herman, S., Varga, D., Deissler, H. L., Kreienberg, R & Deissler, H. (2012). Medium sized deletion in the BRCA1 gene: Limitations of Sanger sequencing and MLPA analyses. *Genetics and Molecular Biology*, *35*(1), 53–56. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22481874>
- 130) Hernan, I., Mañé, B., Borràs, E., de Sousa Dias, M., Llord, G., Yagüe, C & Carballo, M. (2015). Two novel frameshift mutations in BRCA2 gene detected by next generation sequencing in a survey of Spanish patients of breast cancer. *Clinical and Translational Oncology*, *17*(7), 576–580. <https://doi.org/10.1007/s12094-014-1271-x>
- 131) Hilton, J. L. (2002). Inactivation of BRCA1 and BRCA2 in Ovarian Cancer. *Cancer Spectrum Knowledge Environment*, *94*(18), 1396–1406. <https://doi.org/10.1093/jnci/94.18.1396>
- 132) Hogervorst, F. B. L., Nederlof, P. M., Gille, J. J. P., McElgunn, C. J., Grippeling, M., Pruntel, R & Pals, G. (2003). Large genomic deletions and duplications in the BRCA1 gene identified by a novel quantitative method. *Cancer Research*, *63*(7), 1449–1453. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12670888>
- 133) Hogervorst, F. B. L., Cornelis, R. S., Bout, M., Vliet, M. van, Oosterwijk, J. C., Olmer, R & van Ommen, G. J. B. (1995). Rapid detection of BRCA1 mutations by the protein truncation test. *Nature Genetics*, *10*(2), 208–212. <https://doi.org/10.1038/ng0695-208>

- 134) Holzmann, C., Bauer, I & Meyer, P. (2013). Co-occurrence of multiple sclerosis and cancer in a BRCA1 positive family. *European Journal of Medical Genetics*, 56(10), 577–579. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2013.07.006>
- 135) Hu, N., Li, G., Li, W. J., Wang, C., Goldstein, A. M., Tang, Z. Z & Emmert, B. M. R. (2002). Infrequent mutation in the BRCA2 gene in esophageal squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 8(4), 1121–1126. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11948123>
- 136) Ikeda, N., Miyoshi, Y., Yoneda, K., Shiba, E., Sekihara, Y., Kinoshita, M & Noguchi, S. (2001). Frequency of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Japanese breast cancer families. *International Journal of Cancer*, 91(1), 83–88. [https://doi.org/10.1002/1097-0215\(20010101\)91:1<83::AID-IJC1013>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1097-0215(20010101)91:1<83::AID-IJC1013>3.0.CO;2-5)
- 137) Infante, M., Durán, M., Esteban, C. E., Miner, C & Velasco, E. (2006). High proportion of novel mutations of BRCA1 and BRCA2 in breast/ovarian cancer patients from Castilla-León (central Spain). *Journal of Human Genetics*, 51(7), 611–617. <https://doi.org/10.1007/s10038-006-0404-7>
- 138) Inoue, R., Ushijima, T., Fukutomi, T., Fukami, A., Sugimura, H., Inoue, S & Nagao, M. (1997). BRCA2 germline mutations in Japanese breast cancer families. *International Journal of Cancer*, 74(2), 199–204. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19970422\)74:2<199::AID-IJC11>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19970422)74:2<199::AID-IJC11>3.0.CO;2-9)
- 139) Lyeveleva, A. G., Suspitsin, E. N., Kroeze, K., Gorodnova, T. V., Sokolenko, A. P., Buslov, K. G & Imyanitov, E. N. (2010). Non-founder BRCA1 mutations in Russian breast cancer patients. *Cancer Letters*, 298(2), 258–263. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.07.013>
- 140) Jackson, S. A., Davis, A. A., Li, J., Yi, N., McCormick, S. R., Grant, C & Northwestern Cancer Genetics Group. (2014). Characteristics of individuals with breast cancer rearrangements in BRCA1 and BRCA2. *Cancer*, 120(10), 1557–1564. <https://doi.org/10.1002/cncr.28577>
- 141) Jakubowska, A., Nej, K., Huzarski, T., Scott, R. J & Lubiński, J. (2002). BRCA2 gene mutations in families with aggregations of breast and stomach cancers. *British Journal of Cancer*, 87(8), 888–891. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600562>
- 142) James, P. A., Sawyer, S., Boyle, S., Young, M. A., Kovalenko, S., Doherty, R & Mitchell, G. (2015). Large genomic rearrangements in the familial breast and ovarian cancer gene BRCA1 are associated with an increased frequency of high risk features. *Familial Cancer*, 14(2), 287–295. <https://doi.org/10.1007/s10689-015-9785-0>

- 143) Janatova, M., Zikan, M., Dunder, P., Matous, B & Pohlreich, P. (2005). Novel somatic mutations in the BRCA1 gene in sporadic breast tumors. *Human Mutation*, 25(3), 319–319. <https://doi.org/10.1002/humu.9308>
- 144) Janavičius, R., Rudaitis, V., Mickys, U., Elsakov, P & Griškevičius, L. (2014). Comprehensive BRCA1 and BRCA2 mutational profile in Lithuania. *Cancer Genetics*, 207(5), 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2014.05.002>
- 145) Janezic, S. A., Ziogas, A., Krumroy, L. M., Krasner, M., Plummer, S. J., Cohen, P & Anton, C. H. (1999). Germline BRCA1 Alterations in a Population Based Series of Ovarian Cancer Cases. *Human Molecular Genetics*, 8(5), 889–897. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.5.889>
- 146) Jansen, A. M., van der Klift, H. M., Roos, M. A., van Eendenburg, J. D., Tops, C. M., Wijnen, J. T & van Wezel, T. (2018). RNA analysis of cancer predisposing genes in formalin fixed paraffin embedded tissue determines aberrant splicing. *European Journal of Human Genetics : EJHG*, 26(8), 1143–1150. <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0153-z>
- 147) Jarhelle, E., Riise Stensland, H. M. F., Mæhle, L & Van Ghelue, M. (2017). Characterization of BRCA1 and BRCA2 variants found in a Norwegian breast or ovarian cancer cohort. *Familial Cancer*, 16(1). <https://doi.org/10.1007/s10689-016-9916-2>
- 148) Jeon, Y. W., Kim, R. M., Lim, S. T., Choi, H. J & Suh, Y. J. (2015). Early-onset breast cancer in a family with neurofibromatosis type 1 associated with a germline mutation in BRCA1. *Journal of Breast Cancer*, 18(1), 97–100. <https://doi.org/10.4048/jbc.2015.18.1.97>
- 149) Jeong, H. M., Kim, R. N., Kwon, M. J., Oh, E., Han, J., Lee, S. K & Shin, Y. K. (2017). Targeted exome sequencing of Korean triple-negative breast cancer reveals homozygous deletions associated with poor prognosis of adjuvant chemotherapy treated patients. *Oncotarget*, 8(37). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18618>
- 150) Jia, H., Guo, Y., Zhao, W & Wang, K. (2014). Long range PCR in next generation sequencing: Comparison of six enzymes and evaluation on the MiSeq sequencer. *Scientific Reports*, 4. <https://doi.org/10.1038/srep05737>
- 151) Johannsson, O., Ostermeyer, E. A., Håkansson, S., Friedman, L. S., Johansson, U., Sellberg, G & Borg, A. (1996). Founding BRCA1 mutations in hereditary breast and ovarian cancer in southern Sweden. *American Journal of Human Genetics*, 58(3), 441–450. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8644702>
- 152) Kanaan, Y., Kpenu, E., Utley, K., Adams, C. L., Dunston, G. M., Brody, L. C & Broome, C. (2003). Inherited BRCA2 mutations in African Americans with breast and/or ovarian cancer: a study of

- familial and early onset cases. *Human Genetics*, 113(5), 452–460. <https://doi.org/10.1007/s00439-003-0999-0>
- 153) Kang, H. C., Kim, I. J., Park, J. H., Kwon, H. J., Won, Y. J., Heo, S. C & Park, J. G. (2002). Germline mutations of BRCA1 and BRCA2 in Korean breast and/or ovarian cancer families. *Human Mutation*, 20(3), 235. <https://doi.org/10.1002/humu.9059>
- 154) Katagiri, T., Kasumi, F., Yoshimoto, M., Nomizu, T., Asaishi, K., Abe, R & Miki, Y. (1998). High proportion of missense mutations of the BRCA1 and BRCA2 genes in Japanese breast cancer families. *Journal of Human Genetics*, 43(1), 42–48. <https://doi.org/10.1007/s100380050035>
- 155) Katakaki, A., Gomatou, I., Pararas, N., Armakolas, A., Panousopoulos, D., Karantzikos, G & Konstadoulakis, M. (2005). Identification of germline BRCA1 and BRCA2 genetic alterations in Greek breast cancer moderate risk and low-risk individuals correlation with clinicopathological data. *Clinical Genetics*, 67(4), 322–329. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2004.00400.x>
- 156) Keshavarzi, F., Noughani, A. E., Ayoubian, M & Zeinali, S. (2011). Sequence Variants of BRCA1 and BRCA2 Genes in Four Iranian Families with Breast and Ovarian Cancer. *Iranian Journal of Public Health*, 40(2), 57–66. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23113073>
- 157) Kiechle, M., Gross, E., Schwarz, B. U., Pfisterer, J., Jonat, W., Gerber, W. D & Arnold, N. (2000). Ten novel BRCA1 and BRCA2 mutations in breast and/or ovarian cancer families from northern Germany. *Human Mutation*, 16(6), 529–530. [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(200012\)16:6<529::AID-HUMU14>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/1098-1004(200012)16:6<529::AID-HUMU14>3.0.CO;2-K)
- 158) Kim, B. Y., Lee, D. G., Lee, K. R., Han, S. H., Surendran, S., Han, C. W & Chung, N. (2006). Identification of BRCA1 and BRCA2 mutations from Korean breast cancer patients using denaturing HPLC. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 349(2), 604–610. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.08.086>
- 159) Kim, D. H., Cho, C. H., Kwon, S. Y., Ryoo, N. H., Jeon, D. S., Lee, W & Ha, J. S. (2018). BRCA1/2 mutations, including large genomic rearrangements, among unselected ovarian cancer patients in Korea. *Journal of Gynecologic Oncology*, 29(6). <https://doi.org/10.3802/jgo.2018.29.e90>
- 160) Kim, D. H., Chae, H., Jo, I., Yoo, J., Lee, H., Jang, W & Kim, Y. (2017). Identification of large genomic rearrangement of BRCA1/2 in high risk patients in Korea. *BMC Medical Genetics*, 18(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12881-017-0398-3>

- 161) Kim, H. S., Lee, S. W., Choi, Y. J., Shin, S. W., Kim, Y. H., Cho, M. S & Park, K. H. (2015). Novel germline mutation of BRCA1 gene in a 56 Year Old woman with breast cancer, ovarian cancer and diffuse large B-Cell Lymphoma. *Cancer Research and Treatment*, 47(3), 534–538. <https://doi.org/10.4143/crt.2013.151>
- 162) Kim, T. M., Son, M. Y., Dodds, S., Hu, L & Hasty, P. (2014). Deletion of BRCA2 exon 27 causes defects in response to both stalled and collapsed replication forks. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 766–767, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2014.06.003>
- 163) Koczkowska, M., Zuk, M., Gorczynski, A., Ratajska, M., Lewandowska, M., Biernat, W&Wasag, B. (2016). Detection of somatic BRCA1/2 mutations in ovarian cancer next generation sequencing analysis of 100 cases. *Cancer Medicine*, 5(7), 1640–1646. <https://doi.org/10.1002/cam4.748>
- 164) Konecny, M., Vizvaryova, M., Weismanova, E., Ilencikova, D., Mlkva, I., Weismann, P & Kausitz, J. (2007). The spectrum and incidence of BRCA1 pathogenic mutations in Slovak breast/ovarian cancer families. *Neoplasma*, 54(2), 137–142. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17319787>
- 165) Konecny, M., Milly, M., Zavodna, K., Weismanova, E., Gregorova, J., Mlkva, I & Bartosova, Z. (2011). Comprehensive genetic characterization of hereditary breast/ovarian cancer families from Slovakia. *Breast Cancer Research and Treatment*, 126(1), 119–130. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1325-x>
- 166) Konecny, M., Zavodna, K., Vranova, V., Vizvaryova, M., Weismanova, E., Mlkva, I & Bartosova, Z. (2008). Identification of rare complete BRCA1 gene deletion using a combination of SNP haplotype analysis, MLPA and array-CGH techniques. *Breast Cancer Research and Treatment*, 109(3), 581-583. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9670-0>
- 167) Kote, J. Z., Leongamornlert, D., Saunders, E., Tymrakiewicz, M., Castro, E., Mahmud, N & Eeles, R. (2011). BRCA2 is a moderate penetrance gene contributing to young onset prostate cancer: implications for genetic testing in prostate cancer patients. *British Journal of Cancer*, 105(8), 1230–1234. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.383>
- 168) Krajc, M., Teugels, E., Zgajnar, J., Goelen, G., Besic, N., Novakovic, S & De Grève, J. (2008). Five recurrent BRCA1/2 mutations are responsible for cancer predisposition in the majority of Slovenian breast cancer families. *BMC Medical Genetics*, 9(1), 83. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-9-83>

- 169) Kringen, P., Egedal, S., Pedersen, J. C., Harbitz, T. B., Tveit, K. M., Berg, K & Andersen, T. I. (2002). BRCA1 mutation screening using restriction endonuclease fingerprinting single strand conformation polymorphism in an automated capillary electrophoresis system. *ELECTROPHORESIS*, 23(24), 4085–4091. <https://doi.org/10.1002/elps.200290025>
- 170) Krivokuca, A., Dragos, V. S., Stamatovic, L., Blatnik, A., Boljevic, I., Stegel, V & Novakovic, S. (2018). Novel BRCA1 splice-site mutation in ovarian cancer patients of Slavic origin. *Familial Cancer*, 17(2), 179–185. <https://doi.org/10.1007/s10689-017-0022-x>
- 171) Kumar, B. V., Lakhota, S., Ankathil, R., Madhavan, J., Jayaprakash, P. G., Nair, M. K & Somasundaram, K. (2002). Germline BRCA1 Mutation Analysis in Indian Breast/Ovarian Cancer Families. *Cancer Biology & Therapy*, 1(1), 18–21. <https://doi.org/10.4161/cbt.1.1.33>
- 172) Kuo, W. H., Lin, P. H., Huang, A. C., Chien, Y. H., Liu, T. P., Lu, Y. S & Chang, K. J. (2012). Multimodel assessment of BRCA1 mutations in Taiwanese (ethnic Chinese) women with early-onset, bilateral or familial breast cancer. *Journal of Human Genetics*, 57(2), 130–138. <https://doi.org/10.1038/jhg.2011.142>
- 173) Kuperstein, G., Jack, E & Narod, S. A. (2006). A Fluorescent Multiplex-DGGE Screening Test for Mutations in the BRCA1 Gene. *Genetic Testing*, 10(1), 1–7. <https://doi.org/10.1089/gte.2006.10.1>
- 174) Kuusisto, K. M., Bebel, A., Vihinen, M., Schleutker, J., & Sallinen, S. L. (2011). Screening for BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2, BRIP1, RAD50, and CDH1 mutations in high-risk Finnish BRCA1/2 founder mutation negative breast and/or ovarian cancer individuals. *Breast Cancer Research*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/bcr2832>
- 175) Kwiatkowska, E., Teresiak, M., Breborowicz, D & Mackiewicz, A. (2002). Somatic mutations in the BRCA2 gene and high frequency of allelic loss of BRCA2 in sporadic male breast cancer. *International Journal of Cancer*, 98(6), 943–945. <https://doi.org/10.1002/ijc.10289>
- 176) Kwiatkowska, E., Teresiak, M., Lamperska, K. M., Karczewska, A., Breborowicz, D., Stawicka, M & Mackiewicz, A. (2001). BRCA2 germline mutations in male breast cancer patients in the Polish population. *Human Mutation*, 17(1), 73–73. [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(2001\)17:1<73::AID-HUMU12>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/1098-1004(2001)17:1<73::AID-HUMU12>3.0.CO;2-O)
- 177) Kwong, A., Chen, J., Shin, V. Y., Ho, J. C. W., Law, F. B. F., Au, C. H & Ford, J. M. (2015). The importance of analysis of long range rearrangement of BRCA1 and BRCA2 in genetic diagnosis of familial breast cancer. *Cancer Genetics*, 208(9), 448–454. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2015.05.031>

- 178) Kwong, A., Ng, E. K. O., Tang, E. Y. H., Wong, C. L. P., Law, F. B. F., Leung, C. P. H & Ford, J. M. (2011). A novel de novo BRCA1 mutation in a Chinese woman with early onset breast cancer. *Familial Cancer*, 10(2), 233–237. <https://doi.org/10.1007/s10689-011-9429-y>
- 179) Kwong, A., Wong, L. P., Chan, K. Y. K., Ma, E. S. K., Khoo, U. S & Ford, J. M. (2008). Characterization of the pathogenic mechanism of a novel BRCA2 variant in a Chinese family. *Familial Cancer*, 7(2), 125–133. <https://doi.org/10.1007/s10689-007-9155-7>
- 180) Lallas, T. A., Buekers, T. E & Buller, R. E. (1999). BRCA1 mutations in familial ovarian cancer. *Molecular Genetics and Metabolism*, 67(4), 357–363. <https://doi.org/10.1006/mgme.1999.2871>
- 181) Lancaster, J. M., Wooster, R., Mangion, J., Phelan, C. M., Cochran, C., Gumbs, C & Futreal, P. A. (1996). BRCA2 mutations in primary breast and ovarian cancers. *Nature Genetics*, 13(2), 238–240. <https://doi.org/10.1038/ng0696-238>
- 182) Laplace, M. V., Presneau, N., Girodet, C., Vidal, V., Vaur, C., Rio, P & Bignon, Y. J. (1997). New nonsense mutation in the breast cancer-1 gene in a French site specific breast cancer family. *Human Mutation*, 9(5), 474–475. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1997\)9:5<474::AID-HUMU17>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1997)9:5<474::AID-HUMU17>3.0.CO;2-#)
- 183) Laplace, M. V., Presneau, N., Sylvain, V., Kwiatkowski, F., Lortholary, A., Hardouin, A & Bignon, Y. J. (1999). Systematic sequencing of the BRCA1 coding region for germline mutation detection in 70 French high-risk families. *International Journal of Oncology*, 14(5), 971–977. <https://doi.org/10.3892/ijo.14.5.971>
- 184) Laraqui, A., Uhrhammer, N., Lahlou, A. I., El Rhaffouli, H., El Baghdadi, J. E., Mohamed, D & Bignon, Y. J. (2012). Mutation screening of the BRCA1 gene in early onset and familial breast/ovarian cancer in Moroccan population. *International Journal of Medical Sciences*, 10(1), 60–67. <https://doi.org/10.7150/ijms.5014>
- 185) Lee, A. S. G., Ho, G. H., Oh, P. C., Balram, C., Ooi, L. L., Lim, D. T. H & Hong, G. S. (2003). Founder mutation in the BRCA1 gene in Malay breast cancer patients from Singapore. *Human Mutation*, 22(2), 178. <https://doi.org/10.1002/humu.9162>
- 186) Lheureux, S., Lambert, B., Krieger, S., Legros, A., Vaur, D., Denoyelle, C & Hardouin, A. (2011). Two novel variants in the 3'UTR of the BRCA1 gene in familial breast and/or ovarian cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 125(3), 885–891. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1165-8>

- 187) Li, M., Zhang, J., Ouyang, T., Li, J., Wang, T., Fan, Z & Xie, Y. (2016). Incidence of BRCA1 somatic mutations and response to neoadjuvant chemotherapy in Chinese women with triple negative breast cancer. *Gene*, 584(1), 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.03.004>
- 188) Li, S., Ma, J., Hu, C., Zhang, X., Xiao, D., Hao, L & Liu, R. (2018). The Novel Pathogenic Mutation c.849dupT in BRCA2 Contributes to the Nonsense Mediated mRNA Decay of BRCA2 in Familial Breast Cancer. *Journal of Breast Cancer*, 21(3), 330–333. <https://doi.org/10.4048/jbc.2018.21.e33>
- 189) Li, S. S. L., Tseng, H. M., Yang, T. P., Liu, C. H., Teng, S. J., Huang, H. W & Tsai, J. H. (1999). Molecular characterization of germline mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes from breast cancer families in Taiwan. *Human Genetics*, 104(3), 201–204. <https://doi.org/10.1007/s004390050936>
- 190) Liang, Y., Yang, X., Li, H., Zhu, A., Guo, Z & Li, M. (2018). Prevalence and Spectrum of BRCA1/2 Germline Mutations in Women with Breast Cancer in China Based on Next Generation Sequencing. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 24, 2465–2475. <https://doi.org/10.12659/msm.905812>
- 191) Lim, Y., Iau, P., Ali, A., Lee, S., Wong, J. L., Putti, T & Sng, J. H. (2007). Identification of novel BRCA large genomic rearrangements in Singapore Asian breast and ovarian patients with cancer. *Clinical Genetics*, 71(4), 331–342. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00773.x>
- 192) Llorca, G., Muñoz, C. Y., Tuser, M. P., Guillermo, I. B., Lluch, J. R. G., Bale, A. E & Franco, M. A. (2002). Low frequency of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Spain. *Human Mutation*, 19(3), 307–307. <https://doi.org/10.1002/humu.9014>
- 193) Loizidou, M., Marcou, Y., Anastasiadou, V., Newbold, R., Hadjisavvas, A & Kyriacou, K. (2007). Contribution of BRCA1 and BRCA2 germline mutations to the incidence of early onset breast cancer in Cyprus. *Clinical Genetics*, 71(2), 165–170. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00747.x>
- 194) Lu, C., Xie, M., Wendl, M. C., Wang, J., McLellan, M. D., Leiserson, M. D. M & Ding, L. (2015). Patterns and functional implications of rare germline variants across 12 cancer types. *Nature Communications*, 6, 10086. <https://doi.org/10.1038/ncomms10086>
- 195) Machackova, E., Damborsky, J., Valik, D & Foretova, L. (2001). Novel germline BRCA1 and BRCA2 mutations in breast and breast/ovarian cancer families from the Czech Republic. *Human Mutation*, 18(6), 545–545. <https://doi.org/10.1002/humu.1232>

- 196) Machackova, E., Foretova, L., Lukesova, M., Vasickova, P., Navratilova, M., Coene, I & Claes, K. (2008). Spectrum and characterisation of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations in high risk Czech patients with breast and/or ovarian cancer. *BMC Cancer*, 8(1), 140. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-140>
- 197) Machado, P. M., Brandão, R. D., Cavaco, B. M., Eugénio, J., Bento, S., Nave, M & Vaz, F. (2007). Screening for a BRCA2 rearrangement in high risk breast/ovarian cancer families: evidence for a founder effect and analysis of the associated phenotypes. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 25(15), 2027–2034. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.9443>
- 198) Mahfoudh, W., Bouaouina, N., Ahmed, S. Ben, Gabbouj, S., Shan, J., Mathew, R & Chouchane, L. (2012). Hereditary breast cancer in Middle Eastern and North African (MENA) populations: identification of novel, recurrent and founder BRCA1 mutations in the Tunisian population. *Molecular Biology Reports*, 39(2), 1037–1046. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-0829-8>
- 199) Maier, C., Herkommer, K., Luedeke, M., Rinckleb, A., Schrader, M & Vogel, W. (2014). Subgroups of familial and aggressive prostate cancer with considerable frequencies of BRCA2 mutations. *The Prostate*, 74(14), 1444–1451. <https://doi.org/10.1002/pros.22860>
- 200) Maillet, P., Chappuis, P. O., Khoshbeen, B. M., Sciretta, V & Sappino, A. P. (2006). Twenty three novel BRCA1 and BRCA2 sequence variations identified in a cohort of Swiss breast and ovarian cancer families. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 169(1), 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2006.03.010>
- 201) Maistro, S., Teixeira, N., Encinas, G., Katayama, M. L. H., Niewiadonski, V. D. T., Cabral, L. G & Folgueira, M. A. A. K. (2016). Germline mutations in BRCA1 and BRCA2 in epithelial ovarian cancer patients in Brazil. *BMC Cancer*, 16(1), 934. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2966-x>
- 202) Malander, S., Ridderheim, M., Måsbäck, A., Loman, N., Kristoffersson, U., Olsson, H & Borg, Å. (2004). One in 10 ovarian cancer patients carry germ line BRCA1 or BRCA2 mutations. *European Journal of Cancer*, 40(3), 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2003.09.016>
- 203) Malik, F. A., Ashraf, S., Kayani, M. A., Jiang, W. G., Mir, A., Ansar, M & Sadiq, R. (2008). Contribution of BRCA1 germline mutation in patients with sporadic breast cancer. *International Seminars in Surgical Oncology*, 5(21). <https://doi.org/10.1186/1477-7800-5-21>
- 204) Mannan, A. U., Singh, J., Lakshmikeshava, R., Thota, N., Singh, S., Sowmya, T. S & Subramanian, K. (2016). Detection of high frequency of mutations in a breast and/or ovarian

- cancer cohort: implications of embracing a multi-gene panel in molecular diagnosis in India. *Journal of Human Genetics*, 61(6), 515–522. <https://doi.org/10.1038/jhg.2016.4>
- 205) Marino, M., Rabacchi, C., Simone, M. L., Medici, V., Cortesi, L & Calandra, S. (2009). A novel deletion of BRCA1 gene that eliminates the ATG initiation codon without affecting the promoter region. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 403(1–2), 249–253. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.02.020>
- 206) Markoff, A., Sormbroen, H., Bogdanova, N., Preisler, A. S., Ganev, V., Dworniczak, B & Horst, J. (1998). Comparison of conformation sensitive gel electrophoresis and single-strand conformation polymorphism analysis for detection of mutations in the BRCA1 gene using optimized conformation analysis protocols. *European Journal of Human Genetics*, 6(2), 145–150. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200171>
- 207) Martínez, S. L., Herzog, J & Weitzel, J. N. (2004). Loss of five amino acids in BRCA2 is associated with ovarian cancer. *Journal of Medical Genetics*, 41(2). <https://doi.org/10.1136/jmg.2003.010827>
- 208) Martínez, F. J. I., Vega, A., Chirivella, I., Marín, G. P., Insa, A., Lluch, A & Armengod, M. E. (2003). Mutational analysis of BRCA1 and BRCA2 in Mediterranean Spanish women with early-onset breast cancer: Identification of three novel pathogenic mutations. *Human Mutation*, 22(5), 417–418. <https://doi.org/10.1002/humu.9188>
- 209) Mavraki, E., Gray, I., Bishop, D & Spurr, N. (1997). Germline BRCA2 mutations in men with breast cancer. *British Journal of Cancer*, 76(11), 1428–1431. <https://doi.org/10.1038/bjc.1997.574>
- 210) McKean, C. R., Spencer Feigelson, H., Xia, L. Y., Pearce, C. L., Thomas, D. C., Stram, D. O & Henderson, B. E. (2005). BRCA1 variants in a family study of African American and Latina women. *Human Genetics*, 116(6), 497–506. <https://doi.org/10.1007/s00439-004-1240-5>
- 211) McVeigh, T. P., Cody, N., Carroll, C., Duff, M., Farrell, M., Bradley, L & Green, A. J. (2017). Recurrent large genomic rearrangements in BRCA1 and BRCA2 in an Irish case series. *Cancer Genetics*, 214–215, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2017.02.001>
- 212) Mehta, A., Vasudevan, S., Sharma, S. K., Kumar, D., Panigrahi, M., Suryavanshi, M & Gupta, G. (2018). Germline BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations and variants of unknown clinical significance associated with breast/ovarian cancer: a report from North India. *Cancer Management and Research*, 10, 6505–6516. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S186563>

- 213) Meindl, A. (2002). Comprehensive analysis of 989 patients with breast or ovarian cancer provides BRCA1 and BRCA2 mutation profiles and frequencies for the German population. *International Journal of Cancer*, 97(4), 472–480. <https://doi.org/10.1002/ijc.1626>
- 214) Meyer, P., Voigtlaender, T., Bartram, C. R & Klaes, R. (2003). Twenty three novel BRCA1 and BRCA2 sequence alterations in breast and/or ovarian cancer families in Southern Germany. *Human Mutation*, 22(3), 259–259. <https://doi.org/10.1002/humu.9174>
- 215) Miki, Y., Swensen, J., Shattuck, E. D., Futreal, P., Harshman, K & Tavtigian, S. (1994). A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*, 266(5182), 66–71. <https://doi.org/10.1126/science.7545954>
- 216) Miki, Y., Katagiri, T., Kasumi, F., Yoshimoto, T & Nakamura, Y. (1996). Mutation analysis in the BRCA2 gene in primary breast cancers. *Nature Genetics*, 13(2), 245–247. <https://doi.org/10.1038/ng0696-245>
- 217) Miramar, M. D., Calvo, M. T., Rodriguez, A., Antón, A., Lorente, F., Barrio, E & García de Jalón, A. (2008). Genetic analysis of BRCA1 and BRCA2 in breast/ovarian cancer families from Aragon (Spain): two novel truncating mutations and a large genomic deletion in BRCA1. *Breast Cancer Research and Treatment*, 112(2), 353–358. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9868-1>
- 218) Monne, M., Piras, G., Fancello, P., Santona, M. C., Uras, A., Landriscina, G & Gabbas, A. (2007). Identification of a founder BRCA2 mutation in Sardinian breast cancer families. *Familial Cancer*, 6(1), 73–79. <https://doi.org/10.1007/s10689-006-9107-7>
- 219) Montagna, M., Santacatterina, M., Corneo, B., Menin, C., Serova, O., Lenoir, G. M & D’Andrea, E. (1996). Identification of seven new BRCA1 germline mutations in Italian breast and breast/ovarian cancer families. *Cancer Research*, 56(23), 5466–5469. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8968102>
- 220) Montagna, M., Santacatterina, M., Torri, A., Menin, C., Zullato, D., Chieco, B. L & D’Andrea, E. (1999). Identification of a 3 kb Alu-mediated BRCA1 gene rearrangement in two breast/ovarian cancer families. *Oncogene*, 18(28), 4160–4165. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202754>
- 221) Mucaki, E. J., Caminsky, N. G., Perri, A. M., Lu, R., Laederach, A., Halvorsen, M & Rogan, P. K. (2016). A unified analytic framework for prioritization of non-coding variants of uncertain significance in heritable breast and ovarian cancer. *BMC Medical Genomics*, 9(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12920-016-0178-5>

- 222) Muller, D., Bonaiti, P. C., Abecassis, J., Stoppa, L. D & Fricker, J. P. (2002). BRCA1 testing in breast and/or ovarian cancer families from northeastern France identifies two common mutations with a founder effect. *Familial Cancer*, 3(1), 15–20. <https://doi.org/10.1023/B:FAME.0000026819.44213.df>
- 223) Muller, D., Rouleau, E., Schultz, I., Caputo, S., Lefol, C., Bièche, I & Abecassis, J. (2011). An entire exon 3 germline rearrangement in the BRCA2 gene: pathogenic relevance of exon 3 deletion in breast cancer predisposition. *BMC Medical Genetics*, 12(1), 121. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-12-121>
- 224) Mundhofir, F. E., Wulandari, C. E., Prajoko, Y. W & Winarni, T. I. (2016). BRCA1 Gene Mutation Screening for the Hereditary Breast and/or Ovarian Cancer Syndrome in Breast Cancer Cases: a First High Resolution DNA Melting Analysis in Indonesia. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 17(3), 1539–1546. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2016.17.3.1539>
- 225) Murphy, K. M., Brune, K. A., Griffin, C., Sollenberger, J. E., Petersen, G. M., Bansal, R & Kern, S. E. (2002). Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic cancer: deleterious BRCA2 mutations in 17%. *Cancer Research*, 62(13), 3789–3793. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12097290>
- 226) Newman, B., Mu, H., Butler, L. M., Millikan, R. C., Moorman, P. G & King, M. C. (1998). Frequency of Breast Cancer Attributable to BRCA1 in a Population Based Series of American Women. *JAMA*, 279(12), 915. <https://doi.org/10.1001/jama.279.12.915>
- 227) Noh, J. M., Choi, D. H., Nam, S. J., Lee, J. E., Kim, J. W., Kim, S. W & Korea Breast Cancer Study Group. (2012). Characteristics of double heterozygosity for BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Korean breast cancer patients. *Breast Cancer Research and Treatment*, 131(1), 217–222. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1718-5>
- 228) Nordling, M., Karlsson, P., Wahlström, J., Engwall, Y., Wallgren, A & Martinsson, T. (1998). A large deletion disrupts the exon 3 transcription activation domain of the BRCA2 gene in a breast/ovarian cancer family. *Cancer Research*, 58(7), 1372–1375. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9537232>
- 229) Novaković, S., Milatović, M., Cerkovnik, P., Stegel, V., Krajc, M., Hočevár, M & Vakselj, A. (2012). Novel BRCA1 and BRCA2 pathogenic mutations in Slovene hereditary breast and ovarian cancer families. *International Journal of Oncology*, 41(5), 1619–1627. <https://doi.org/10.3892/ijo.2012.1595>

- 230) Osorio, A., Robledo, M., Manual San Román, J., Albertos, J., Andrade, J., Barabash, A & Benítez, J. (1997). Mutation analysis of the BRCA2 gene in breast/ovarian cancer Spanish families: Identification of two new mutations. *Cancer Letters*, 121(2), 115–118. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(97\)00243-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(97)00243-7)
- 231) Ottini, L., D'Amico, C., Noviello, C., Lauro, S., Lalle, M., Fornarini, G & Mariani, C. R. (2000). BRCA1 and BRCA2 mutations in central and southern Italian patients. *Breast Cancer Research: BCR*, 2(4), 307–310. <https://doi.org/10.1186/bcr72>
- 232) Ottini, L., D'Amico, C., Noviello, C., Pizzi, C., Pagliarulo, C., Curia, M. C & Mariani, C. R. (1998). Novel deletion at codon 1254 of the BRCA1 gene in an Italian breast cancer kindred. *Human Mutation*, 1, S237-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9452097>
- 233) Özdag, H., Tez, M., Sayek, I., Müslümanoğlu, M., Tarcan, O., Içli, F & Özçelik, T. (2000). Germline BRCA1 and BRCA2 gene mutations in Turkish breast cancer patients. *European Journal of Cancer*, 36(16), 2076–2082. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(00\)00277-X](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(00)00277-X)
- 234) Pajares, B., Porta, J., Porta, J. M., Sousa, C. F., Moreno, I., Porta, D & Márquez, A. (2018). Hereditary breast and ovarian cancer in Andalusian families: a genetic population study. *BMC Cancer*, 18(1), 647. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4537-9>
- 235) Pal, T., Bonner, D., Cragun, D., Johnson, S., Akbari, M., Servais, L & Vadaparampil, S. (2014). BRCA sequencing and large rearrangement testing in young Black women with breast cancer. *Journal of Community Genetics*, 5(2), 157–165. <https://doi.org/10.1007/s12687-013-0166-9>
- 236) Pal, T., Bonner, D., Cragun, D., Monteiro, A. N. A., Phelan, C., Servais, L & Vadaparampil, S. T. (2015). A high frequency of BRCA mutations in young black women with breast cancer residing in Florida. *Cancer*, 121(23), 4173–4180. <https://doi.org/10.1002/cncr.29645>
- 237) Pal, T., Permuth, W. J., Betts, J. A., Krischer, J. P., Fiorica, J., Arango, H & Sutphen, R. (2005). BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases. *Cancer*, 104(12), 2807–2816. <https://doi.org/10.1002/cncr.21536>
- 238) Palanca, S. S., Esteban, C. E., Barragán, G. E., Oltra Soler, S., de Juan, J. I., Chirivella, G. I & Group for Assessment of Hereditary Cancer of Valencia Community. (2008). Identification of a novel BRCA1 large genomic rearrangement in a Spanish breast/ovarian cancer family. *Breast Cancer Research and Treatment*, 112(1), 63–67. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9839-6>
- 239) Palanca, S., De Juan, I., Pérez, S. G., Barragán, E., Chirivella, I., Martínez, E & Bolufer, P. (2013). The deletion of exons 3-5 of BRCA1 is the first founder rearrangement identified in

- breast and/or ovarian cancer Spanish families. *Familial Cancer*, 12(1), 119–123. <https://doi.org/10.1007/s10689-012-9579-6>
- 240) Palmieri, G., Palomba, G., Cossu, A., Pisano, M., Dedola, M. F., Sarobba, M. G & Tanda, F. (2002). BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Sardinian breast cancer families and their implications for genetic counseling. *Annals of Oncology*, 13(12), 1899–1907. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdf326>
- 241) Park, H. S., Park, S. J., Kim, J. Y., Kim, S., Ryu, J., Sohn, J & Kim, S. I. (2017). Next-generation sequencing of BRCA1/2 in breast cancer patients: potential effects on clinical decision making using rapid, high accuracy genetic results. *Annals of Surgical Treatment and Research*, 92(5), 331. <https://doi.org/10.4174/astr.2017.92.5.331>
- 242) Patmasiriwat, P., Bhothisuwan, K., Sinilnikova, O. M., Chopin, S., Methakijvaroon, S., Badzioch, M & Lenoir, G. M. (2002). Analysis of breast cancer susceptibility genes BRCA1 and BRCA2 in Thai familial and isolated early-onset breast and ovarian cancer. *Human Mutation*, 20(3), 230–230. <https://doi.org/10.1002/humu.9049>
- 243) Peixoto, A., Salgueiro, N., Santos, C., Varzim, G., Rocha, P., Soares, M. J & Teixeira, M. R. (2006). BRCA1 and BRCA2 germline mutational spectrum and evidence for genetic anticipation in Portuguese breast/ovarian cancer families. *Familial Cancer*, 5(4), 379–387. <https://doi.org/10.1007/s10689-006-0009-5>
- 244) Pensabene, M., Spagnoletti, I., Capuano, I., Condello, C., Pepe, S., Contegiacomo, A & Caligo, M. A. (2009). Two mutations of BRCA2 gene at exon and splicing site in a woman who underwent oncogenetic counseling. *Annals of Oncology*, 20(5), 874–878. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdn724>
- 245) Petrij, B. A., Peelen, T., van Vliet, M., Eijk, R. van, Olmer, R., Drüsedau, M & Devilee, P. (1997). BRCA1 genomic deletions are major founder mutations in Dutch breast cancer patients. *Nature Genetics*, 17(3), 341–345. <https://doi.org/10.1038/ng1197-341>
- 246) Phelan, C. M., Kwan, E., Jack, E., Li, S., Morgan, C., Aubé, J & Narod, S. A. (2002). A low frequency of non-founder BRCA1 mutations in Ashkenazi Jewish breast-ovarian cancer families. *Human Mutation*, 20(5), 352–357. <https://doi.org/10.1002/humu.10123>
- 247) Phelan, C. M., Lancaster, J. M., Tonin, P., Gumbs, C., Cochran, C., Carter, R & Futreal, P. A. (1996). Mutation analysis of the BRCA2 gene in 49 site specific breast cancer families. *Nature Genetics*, 13(1), 120–122. <https://doi.org/10.1038/ng0596-120>

- 248) Pietschmann, A., Mehdipour, P., Mehdipour, P., Atri, M., Hofmann, W., Hosseini, A. S. S & Peters, H. (2005). Mutation analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in Iranian high risk breast cancer families. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 131(8), 552–558. <https://doi.org/10.1007/s00432-005-0678-8>
- 249) Pisanò, M., Mezzolla, V., Galante, M. M., Alemanno, G., Manca, C., Lorusso, V & Tinelli, A. (2011). A new mutation of BRCA2 gene in an Italian healthy woman with familial breast cancer history. *Familial Cancer*, 10(1), 65–71. <https://doi.org/10.1007/s10689-010-9389-7>
- 250) Plaschke, J., Commer, T., Jacobi, C., Schackert, H. K & Chang, C. J. (2000). BRCA2 germline mutations among early onset breast cancer patients unselected for family history of the disease. *Journal of Medical Genetics*, 37(9), 17. <https://doi.org/10.1136/jmg.37.9.e17>
- 251) Preisler, A. S., Schönbuchner, I., Fiebig, B., Welling, B., Dworniczak, B & Weber, B. H. F. (2006). Gross rearrangements in BRCA1 but not BRCA2 play a notable role in predisposition to breast and ovarian cancer in high risk families of German origin. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 168(1), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2005.07.005>
- 252) Preobrazhenskaya, E. V., Bizin, I. V., Kuligina, E. S., Shleykina, A. Y., Suspitsin, E. N., Zaytseva, O. A & Sokolenko, A. P. (2017). Detection of BRCA1 gross rearrangements by droplet digital PCR. *Breast Cancer Research and Treatment*, 165(3), 765–770. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4357-7>
- 253) Presneau, N., Laplace, M. V., Sylvain, V., Lortholary, A., Hardouin, A., Bernard, G. D., & Bignon, Y. J. (1998). New mechanism of BRCA1 mutation by deletion/insertion at the same nucleotide position in three unrelated French breast/ovarian cancer families. *Human Genetics*, 103(3), 334–339. <https://doi.org/10.1007/s004390050826>
- 254) Puget, N., Torchard, D., Serova, S. O. M., Lynch, H. T., Feunteun, J., Lenoir, G. M., & Mazoyer, S. (1997). A 1 kb Alu-mediated germline deletion removing BRCA1 exon 17. *Cancer Research*, 57(5), 828–831. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9041180>
- 255) Puget, N., Sinilnikova, O. M., Stoppa, L. D., Audouyoud, C., Pagès, S., Lynch, H. T & Mazoyer, S. (1999). An Alu-Mediated 6-kb Duplication in the BRCA1 Gene: A New Founder Mutation?. *The American Journal of Human Genetics*, 64(1), 300–302. <https://doi.org/10.1086/302211>
- 256) Purnomosari, D., Paramita, D. K., Aryandono, T., Pals, G & van Diest, P. J. (2005). A novel BRCA2 mutation in an Indonesian family found with a new, rapid, and sensitive mutation detection method based on pooled denaturing gradient gel electrophoresis and targeted

- sequencing. *Journal of Clinical Pathology*, 58(5), 493–499.
<https://doi.org/10.1136/jcp.2004.020388>
- 257) Purshouse, K., Schuh, A., Fairfax, B. P., Knight, S., Antoniou, P., Dreau, H & Protheroe, A. (2017). Whole genome sequencing identifies homozygous *BRCA2* deletion guiding treatment in dedifferentiated prostate cancer. *Molecular Case Studies*, 3(3), a001362.
<https://doi.org/10.1101/mcs.a001362>
- 258) Pylkäs, K., Erkkö, H., Nikkilä, J., Sölyom, S & Winqvist, R. (2008). Analysis of large deletions in *BRCA1*, *BRCA2* and *PALB2* genes in Finnish breast and ovarian cancer families. *BMC Cancer*, 8(1), 146. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-146>
- 259) Pyne, M. T., Pruss, D., Ward, B. E & Scholl, T. (1999). A characterization of genetic variants in *BRCA1* intron 8 identifies a mutation and a polymorphism. *Mutation Research*, 406(2–4), 101–107. [https://doi.org/10.1016/s1383-5726\(99\)00006-0](https://doi.org/10.1016/s1383-5726(99)00006-0)
- 260) Qian, Y., Mancini, D. D., Judkins, T., Cox, H. C., Brown, K., Elias, M & Roa, B. B. (2017). Identification of pathogenic retrotransposon insertions in cancer predisposition genes. *Cancer Genetics*, 216–217, 159–169. <https://doi.org/10.1016/J.CANCERGEN.2017.08.002>
- 261) Rajkumar, T., Soumitra, N., Nancy, N. K., Swaminathan, R., Sridevi, V & Shanta, V. (2003). *BRCA1*, *BRCA2* and *CHEK2* (1100delC) germline mutations in hereditary breast and ovarian cancer families in South India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 4(3), 203–208. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14507240>
- 262) Ramus, S. J., Harrington, P. A., Pye, C., DiCioccio, R. A., Cox, M. J., Garlinghouse, J. K & Gayther, S. A. (2007). Contribution of *BRCA1* and *BRCA2* mutations to inherited ovarian cancer. *Human Mutation*, 28(12), 1207–1215. <https://doi.org/10.1002/humu.20599>
- 263) Rashid, M. U., Muhammad, N., Amin, A., Loya, A & Hamann, U. (2017). Contribution of *BRCA1* large genomic rearrangements to early-onset and familial breast/ovarian cancer in Pakistan. *Breast Cancer Research and Treatment*, 161(2), 191–201. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-4044-0>
- 264) Ratajska, M., Brozek, I., Senkus, K. E., Jassem, J., Stepnowska, M., Palomba, G & Limon, J. (2008). *BRCA1* and *BRCA2* point mutations and large rearrangements in breast and ovarian cancer families in Northern Poland. *Oncology Reports*, 19(1), 263–268. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18097605>

- 265) Ratanaphan, A., Panomwan, P., Canyuk, B & Maipang, T. (2011). Identification of novel intronic BRCA1 variants of uncertain significance in a Thai hereditary breast cancer family. *Journal of Genetics*, 90(2), 327–331. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21869484>
- 266) Reeves, M. D., Yawitch, T. M., van der Merwe, N. C., van den Berg, H. J., Dreyer, G & van Rensburg, E. J. (2004). BRCA1 mutations in South African breast and/or ovarian cancer families: Evidence of a novel founder mutation in Afrikaner families. *International Journal of Cancer*, 110(5), 677–682. <https://doi.org/10.1002/ijc.20186>
- 267) Ricevuto, E., Sobol, H., Stoppa, L. D., Gulino, A., Marchetti, P., Ficorella, C & Tosi, M. (2001). Diagnostic strategy for analytical scanning of BRCA1 gene by fluorescence assisted mismatch analysis using large, bifluorescently labeled amplicons. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 7(6), 1638–1646. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11410501>
- 268) Rostagno, P., Gioanni, J., Garino, E., Vallino, P., Namer, M & Frenay, M. (2003). A mutation analysis of the BRCA1 gene in 140 families from southeast France with a history of breast and/or ovarian cancer. *Journal of Human Genetics*, 48(7), 362–366. <https://doi.org/10.1007/s10038-003-0038-y>
- 269) Rudnicka, H., Debniak, T., Cybulski, C., Huzarski, T., Gronwald, J., Lubinski, J & Gorski, B. (2013). Large BRCA1 and BRCA2 genomic rearrangements in Polish high risk breast and ovarian cancer families. *Molecular Biology Reports*, 40(12), 6619–6623. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2775-0>
- 270) Ruiz de Garibay, G., Gutiérrez, E. S., Garre, P., Bonache, S., Romero, A., Palomo, L & de la Hoya, M. (2012). Characterization of four novel BRCA2 large genomic rearrangements in Spanish breast/ovarian cancer families: review of the literature, and reevaluation of the genetic mechanisms involved in their origin. *Breast Cancer Research and Treatment*, 133(1), 273–283. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1909-0>
- 271) Rummel, S. K., Lovejoy, L., Shriver, C. D & Ellsworth, R. E. (2017). Contribution of germline mutations in cancer predisposition genes to tumor etiology in young women diagnosed with invasive breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 164(3), 593–601. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4291-8>
- 272) Salazar, R., Cruz, H. J. J., Sanchez, V. E., Rodriguez, C. A., Gomez, B. A., Barco, E & Gonzalez, S. R. (2006). BRCA1–2 mutations in breast cancer: Identification of nine new variants of BRCA1–

- 2 genes in a population from central Western Spain. *Cancer Letters*, 233(1), 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.03.006>
- 273) Saleh, G. N., Mohammadi, A. M & Kalantari, K. B. (2012). BRCA1 Gene Mutations in Breast Cancer Patients from Kerman Province, Iran. *Iranian Journal of Cancer Prevention*, 5(4), 210–215. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25352972>
- 274) Salgado, J., Aramendía, J. M., Gutierrez, C., Gil, C., Robles, M & García, F. J. (2010). A novel BRCA2 mutation that segregates with breast and prostate cancer in a Spanish family. *Breast Cancer Research and Treatment*, 121(1), 219–220. <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0361-x>
- 275) Salgado, J., Santisteban, M., Gutiérrez, C., Gil, C., Robles, M., Viedma, A & Patiño, G. A. (2013). A novel BRCA1 mutation in a patient with breast and ovarian cancer: A case report. *Oncology Letters*, 6(3), 725–727. <https://doi.org/10.3892/ol.2013.1440>
- 276) Sanchez, A., Faundez, P & Carvallo, P. (2011). Genomic rearrangements of the BRCA1 gene in Chilean breast cancer families: an MLPA analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*, 128(3), 845–853. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1382-9>
- 277) Santarosa, M., Viel, A., Dolcetti, R., Crivellari, D., Magri, M. D., Pizzichetta, M. A & Boiocchi, M. (1998). Low incidence of BRCA1 mutations among Italian families with breast and ovarian cancer. *International Journal of Cancer*, 78(5), 581–586. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19981123\)78:5<581::AID-IJC9>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19981123)78:5<581::AID-IJC9>3.0.CO;2-G)
- 278) Santonocito, C., Scapaticci, M., Guarino, D., Bartolini, A., Minucci, A., Concolino, P & Capoluongo, E. (2017). Identification of twenty nine novel germline unclassified variants of BRCA1 and BRCA2 genes in 1400 Italian individuals. *The Breast*, 36, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2017.09.007>
- 279) Sanz, D. J., Acedo, A., Infante, M., Duran, M., Pérez, C. L., Esteban, C. E & Velasco, E. A. (2010). A High Proportion of DNA Variants of BRCA1 and BRCA2 Is Associated with Aberrant Splicing in Breast/Ovarian Cancer Patients. *Clinical Cancer Research*, 16(6), 1957–1967. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-2564>
- 280) Savelyeva, L., Claas, A., Gier, S., Schlag, P., Finke, L., Mangion, J & Schwab, M. (1998). An interstitial tandem duplication of 9p23-24 coexists with a mutation in the BRCA2 gene in the germ line of three brothers with breast cancer. *Cancer Research*, 58(5), 863–866. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9500439>

- 281) Saxena, S., Chakraborty, A., Kaushal, M., Kotwal, S., Bhatnager, D., Mohil, R. S & Szabo, C. I. (2006). Contribution of germline BRCA1 and BRCA2 sequence alterations to breast cancer in Northern India. *BMC Medical Genetics*, 7(1), 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-7-75>
- 282) Saxena, S., Szabo, C. I., Chopin, S., Barjhoux, L., Sinilnikova, O., Lenoir, G & Bhatnager, D. (2002). BRCA1 and BRCA2 in Indian breast cancer patients. *Human Mutation*, 20(6), 473–474. <https://doi.org/10.1002/humu.9082>
- 283) Schofield, A. C & Haites, N. E. (1998). Novel 5 bp germline deletion in exon 11 of the BRCA1 gene. *Human Mutation*, 11(S1), 187-188. <https://doi.org/10.1002/humu.1380110160>
- 284) Scholl, T., Pyne, M. T., Russo, D & Ward, B. E. (1999). BRCA1 IVS16+6T-->C is a deleterious mutation that creates an aberrant transcript by activating a cryptic splice donor site. *American Journal of Medical Genetics*, 85(2), 113–116. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10406662>
- 285) Schubert, E. L., Lee, M. K., Mefford, H. C., Argonza, R. H., Morrow, J. E., Hull, J & King, M. C. (1997). BRCA2 in American families with four or more cases of breast or ovarian cancer: recurrent and novel mutations, variable expression, penetrance, and the possibility of families whose cancer is not attributable to BRCA1 or BRCA2. *American Journal of Human Genetics*, 60(5), 1031–1040. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9150150>
- 286) Sekine, M., Nagata, H., Tsuji, S., Hirai, Y., Fujimoto, S., Hatae, M & Japanese Familial Ovarian Cancer Study Group. (2001). Mutational analysis of BRCA1 and BRCA2 and clinicopathologic analysis of ovarian cancer in 82 ovarian cancer families: two common founder mutations of BRCA1 in Japanese population. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 7(10), 3144–3150. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11595708>
- 287) Seo, J. H., Cho, D. Y., Ahn, S. H., Yoon, K. S., Kang, C. S., Cho, H. M & Koo, B. H. (2004). BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Korean patients with sporadic breast cancer. *Human Mutation*, 24(4), 350–350. <https://doi.org/10.1002/humu.9275>
- 288) Seong, M. W., Cho, S. I., Kim, K. H., Chung, I. Y., Kang, E., Lee, J. W & Kim, S. W. (2014). A multi-institutional study of the prevalence of BRCA1 and BRCA2 large genomic rearrangements in familial breast cancer patients. *BMC Cancer*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-645>

- 289) Seong, M. W., Cho, S. I., Noh, D. Y., Han, W., Kim, S. W., Park, C. M & Park, S. S. (2009). Low contribution of BRCA1/2 genomic rearrangement to high-risk breast cancer in the Korean population. *Familial Cancer*, 8(4), 505–508. <https://doi.org/10.1007/s10689-009-9279-z>
- 290) Shah, N. D., Shah, P. S., Panchal, Y. Y., Katudia, K. H., Khatri, N. B., Ray, H. S. P & Rao, M. V. (2018). Mutation analysis of BRCA1/2 mutations with special reference to polymorphic SNPs in Indian breast cancer patients. *Application of Clinical Genetics*, 11, 59–67. <https://doi.org/10.2147/TACG.S155955>
- 291) Sharifah, N. A., Nurismah, M. I., Lee, H. C., Aisyah, A. N., Clarence, K. C. H., Naqiyah, I & Nor Hisham, A. (2010). Identification of novel large genomic rearrangements at the BRCA1 locus in Malaysian women with breast cancer. *Cancer Epidemiology*, 34(4), 442–447. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2010.04.010>
- 292) Shen, D., Wu, Y., Subbarao, M., Bhat, H., Chillar, R & Vadgama, J. V. (2000). Mutation analysis of BRCA1 gene in African-American patients with breast cancer. *Journal of the National Medical Association*, 92(1), 29–35. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10800284>
- 293) Shin, S., Hwang, I. S., Lee, S. T & Choi, J. R. (2016). Evaluation of an amplicon based next-generation sequencing panel for detection of BRCA1 and BRCA2 genetic variants. *Breast Cancer Research and Treatment*, 158(3), 433–440. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3891-z>
- 294) Shiri, S. R., Oefner, P., Green, L., Baruch, R. G., Wagner, T., Kruglikova, A & Friedman, E. (2000). Mutational analyses of BRCA1 and BRCA2 in Ashkenazi and non-Ashkenazi Jewish women with familial breast and ovarian cancer. *Human Mutation*, 16(6), 491–501. [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(200012\)16:6<491::AID-HUMU6>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1098-1004(200012)16:6<491::AID-HUMU6>3.0.CO;2-J)
- 295) Silva, A. G., Ewald, I. P., Sapienza, M., Pinheiro, M., Peixoto, A., de Nóbrega, A. F & Krepisch, A. C. V. (2012). Li-Fraumeni-like syndrome associated with a large BRCA1 intragenic deletion. *BMC Cancer*, 12(1), 237. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-237>
- 296) Simard, J., Tonin, P., Durocher, F., Morgan, K., Rommens, J., Gingras, S & Narod, S. A. (1994). Common origins of BRCA1 mutations in Canadian breast and ovarian cancer families. *Nature Genetics*, 8(4), 392–398. <https://doi.org/10.1038/ng1294-392>
- 297) Sinclair, C. S., Berry, R., Schaid, D., Thibodeau, S. N & Couch, F. J. (2000). BRCA1 and BRCA2 have a limited role in familial prostate cancer. *Cancer Research*, 60(5), 1371–1375. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10728701>

- 298) Sluiter, M. D & van Rensburg, E. J. (2011). Large genomic rearrangements of the BRCA1 and BRCA2 genes: review of the literature and report of a novel BRCA1 mutation. *Breast Cancer Research and Treatment*, 125(2), 325–349. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-0817-z>
- 299) Smith, M., Fawcett, S., Sigalas, E., Bell, R., Devery, S., Andrieska, N & Winship, I. (2008). Familial breast cancer: double heterozygosity for BRCA1 and BRCA2 mutations with differing phenotypes. *Familial Cancer*, 7(2), 119–124. <https://doi.org/10.1007/s10689-007-9154-8>
- 300) Soares, R., Amendoeira, I., Monteiro, P., Lopes, C. S & Schmitt, F. C. (2000). Analysis of mutations in the BRCA1 gene in patients with cancer of the breast and/or the ovary in Portugal. *Acta Medica Portuguesa*, 13(5–6), 273–276. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11234491>
- 301) Sobczak, K., Kozłowski, P., Napierała, M., Czarny, J., Woźniak, M., Kapuścińska, M & Krzyzdosiak, W. (1997). Novel BRCA1 mutations and more frequent intron 20 alteration found among 236 women from Western Poland. *Oncogene*, 15(15), 1773–1779. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1201360>
- 302) Song, C. G., Hu, Z., Wu, J., Luo, J. M., Shen, Z. Z., Huang, W & Shao, Z. M. (2006). The prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in eastern Chinese women with breast cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 132(10), 617–626. <https://doi.org/10.1007/s00432-006-0105-9>
- 303) Song, C., Hu, Z., Yuan, W., Di, G., Shen, Z., Huang, W & Shao, Z. (2005). Mutational analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in early-onset breast cancer patients in Shanghai. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 85(43), 3030–3034. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16324400>
- 304) Spitzer, E., Abbaszadegan, M. R., Schmidt, F., Hauser, A., Buwitt, U., Lauter, F. R & Grosse, R. (2000). Detection of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer families by a comprehensive two stage screening procedure. *International Journal of Cancer*, 85(4), 474–481. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(20000215\)85:4<474::aid-ijc5>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(20000215)85:4<474::aid-ijc5>3.0.co;2-4)
- 305) Staaf, J., Törngren, T., Rambech, E., Johansson, U., Persson, C., Seilberg, G & Borg, Å. (2008). Detection and precise mapping of germline rearrangements in BRCA1, BRCA2, MSH2, and MLH1 using zoom in array comparative genomic hybridization (aCGH). *Human Mutation*, 29(4), 555–564. <https://doi.org/10.1002/humu.20678>
- 306) Stavropoulou, A. V, Fostira, F., Pertesi, M., Tsitlaidou, M., Voutsinas, G. E., Triantafyllidou, O & Konstantopoulou, I. (2013). Prevalence of BRCA1 Mutations in Familial and Sporadic Greek Ovarian Cancer Cases. *PLoS ONE*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058182>

- 307) Steffensen, A. Y., Jønson, L., Ejlertsen, B., Gerdes, A. M., Nielsen, F. C & Hansen, T. V. O. (2010). Identification of a Danish breast/ovarian cancer family double heterozygote for BRCA1 and BRCA2 mutations. *Familial Cancer*, 9(3), 283–287. <https://doi.org/10.1007/s10689-010-9345-6>
- 308) Steinmann, D., Bremer, M., Rades, D., Skawran, B., Siebrands, C., Karstens, J. H & Dörk, T. (2001). Mutations of the BRCA1 and BRCA2 genes in patients with bilateral breast cancer. *British Journal of Cancer*, 85(6), 850–858. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.2016>
- 309) Stoppa, L. D., Laurent, P. P., Essioux, L., Pagès, S., Ithier, G., Ligot, L & Thomas, G. (1997). BRCA1 sequence variations in 160 individuals referred to a breast/ovarian family cancer clinic. Institut Curie Breast Cancer Group. *American Journal of Human Genetics*, 60(5), 1021–1030. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9150149>
- 310) Stordal, B., Timms, K., Farrelly, A., Gallagher, D., Busschots, S., Renaud, M & Hennessy, B. T. (2013). BRCA1/2 mutation analysis in 41 ovarian cell lines reveals only one functionally deleterious BRCA1 mutation. *Molecular Oncology*, 7(3), 567–579. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.12.007>
- 311) Struewing, J. P., Brody, L. C., Erdos, M. R., Kase, R. G., Giambarresi, T. R., Smith, S. A & Tucker, M. A. (1995). Detection of eight BRCA1 mutations in 10 breast/ovarian cancer families, including 1 family with male breast cancer. *American Journal of Human Genetics*, 57(1), 1–7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7611277>
- 312) Swensen, J., Hoffman, M., Skolnick, M. H & Neuhausen, S. L. (1997). Identification of a 14 kb deletion involving the promoter region of BRCA1 in a breast cancer family. *Human Molecular Genetics*, 6(9), 1513–1517. <https://doi.org/10.1093/hmg/6.9.1513>
- 313) Syamala, V., Sreeja, L., Syamala, V. S., Vinodkumar, B., Raveendran, P. B., Sreedharan, H & Ankathil, R. (2007). Novel germline mutations in BRCA2 gene among 96 hereditary breast and breast–ovarian cancer families from Kerala, South India. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 133(11), 867–874. <https://doi.org/10.1007/s00432-007-0229-6>
- 314) Takahashi, H., Behbakht, K., McGovern, P. E., Chiu, H. C., Couch, F. J., Weber, B. L & Boyd, J. (1995). Mutation analysis of the BRCA1 gene in ovarian cancers. *Cancer Research*, 55(14), 2998–3002. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7606717>
- 315) Tancredi, M., Sensi, E., Cipollini, G., Aretini, P., Lombardi, G., Cristofano, C. Di & Caligo, M. A. (2004). Haplotype analysis of BRCA1 gene reveals a new gene rearrangement:

- characterization of a 19.9 KBP deletion. *European Journal of Human Genetics*, 12(9), 775–777. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201223>
- 316) Tangir, J., Muto, M. G., Berkowitz, R. S., Welch, W. R., Bell, D. A & Mok, S. C. (1996). A 400 kb novel deletion unit centromeric to the BRCA1 gene in sporadic epithelial ovarian cancer. *Oncogene*, 12(4), 735–740. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8632895>
- 317) Tartaglioni, E., Badzioch, M. D., Chao, L. Y., Anderson, D. E & Saunders, G. F. (1998). Three novel germline BRCA1 mutations in early-onset breast and ovarian cancer families. *Human Mutation, Suppl 1*, S163-6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9452076>
- 318) Tazzite, A., Jouhadi, H., Nadifi, S., Aretini, P., Falaschi, E., Collavoli, A & Caligo, M. A. (2012). BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Moroccan breast/ovarian cancer families: Novel mutations and unclassified variants. In *Gynecologic Oncology*, 125(3), 687–692. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2012.03.007>
- 319) Tereschenko, I. V., Basham, V. M., Ponder, B. A. J & Pharoah, P. D. P. (2002). BRCA1 and BRCA2 mutations in Russian familial breast cancer. *Human Mutation*, 19(2), 184–184. <https://doi.org/10.1002/humu.9008>
- 320) Tesoriero, A., Andersen, C., Southey, M., Somers, G., McKay, M., Armes, J & Venter, D. (1999). De novo BRCA1 mutation in a patient with breast cancer and an inherited BRCA2 mutation. *American Journal of Human Genetics*, 65(2), 567–569. <https://doi.org/10.1086/302503>
- 321) Thirthagiri, E., Lee, S. Y., Kang, P., Lee, D. S., Toh, G. T., Selamat, S & Teo, S. H. (2008). Evaluation of BRCA1 and BRCA2 mutations and risk prediction models in a typical Asian country (Malaysia) with a relatively low incidence of breast cancer. *Breast Cancer Research : BCR*, 10(4), R59. <https://doi.org/10.1186/bcr2118>
- 322) Thomassen, M., Gerdes, A. M., Cruger, D., Jensen, P. K. A & Kruse, T. A. (2006). Low frequency of large genomic rearrangements of BRCA1 and BRCA2 in western Denmark. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 168(2), 168–171. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2005.12.016>
- 323) Ticha, I., Kleibl, Z., Stribrna, J., Kotlas, J., Zimovjanova, M., Mateju, M & Pohlreich, P. (2010). Screening for genomic rearrangements in BRCA1 and BRCA2 genes in Czech high-risk breast/ovarian cancer patients: high proportion of population specific alterations in BRCA1 gene. *Breast Cancer Research and Treatment*, 124(2), 337–347. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-0745-y>

- 324) Tikhomirova, O. S., Grudinina, N. A., Golubkov, V. I., Mandel'shtam, M. I & Vasil'ev, B. V. (2007). Novel BRCA1 gene mutations in breast cancer patients from St. Petersburg. *Genetika*, 43(9), 1263–1268. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17990525>
- 325) Timoteo, A. R. de S., Albuquerque, B. M., Moura, P. P. P., Ramos, C. C. de O., Agnez, L. L. F., Walsh, T & Lajus, T. B. P. (2015). Identification of a new BRCA2 large genomic deletion associated with high risk male breast cancer. *Hereditary Cancer in Clinical Practice*, 13(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s13053-014-0022-x>
- 326) Tommasi, S., Crapolicchio, A., Lacalamita, R., Bruno, M., Monaco, A., Petroni, S & Paradiso, A. (2005). BRCA1 mutations and polymorphisms in a hospital based consecutive series of breast cancer patients from Apulia, Italy. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 578(1–2), 395–405. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.06.010>
- 327) Torres, A., Gumà, J., Rodríguez, M., Brunet, J & Borràs, J. (2009). Identification of a novel pathogenic mutation in BRCA2 in a Spanish breast-ovarian cancer family. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 13(5), 631–634. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2009.0040>
- 328) Torres, D., Bermejo, J. L., Rashid, M. U., Briceño, I., Gil, F., Beltran, A & Hamann, U. (2017). Prevalence and Penetrance of BRCA1 and BRCA2 Germline Mutations in Colombian Breast Cancer Patients. *Scientific Reports*, 7(1), 4713. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05056-y>
- 329) Vaca, P. F., Álvarez, G. R. M., Fragoso, O. V., Vidal, M. S., Herrera, L. A., Cantú, D & Pérez, P. C. (2012). Full Exon Pyrosequencing Screening of BRCA Germline Mutations in Mexican Women with Inherited Breast and Ovarian Cancer. *PLoS ONE*, 7(5), e37432. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037432>
- 330) Vaidyanathan, K., Lakhota, S., Ravishankar, H. M., Tabassum, U., Mukherjee, G & Somasundaram, K. (2009). BRCA1 and BRCA2 germline mutation analysis among Indian women from south India: identification of four novel mutations and high frequency occurrence of 185delAG mutation. *Journal of Biosciences*, 34(3), 415–422. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19805903>
- 331) Valarmathi, M. T., A., A., Deo, S. S. V., Shukla, N. K & Das, S. N. (2003). BRCA1 germline mutations in Indian familial breast cancer. *Human Mutation*, 21(1), 98–99. <https://doi.org/10.1002/humu.9099>

- 332) Valarmathi, M. T., Sawhney, M., Deo, S. S. V., Shukla, N. K & Das, S. N. (2004). Novel germline mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in Indian breast and breast-ovarian cancer families. *Human Mutation*, 23(2), 205–205. <https://doi.org/10.1002/humu.9213>
- 333) van der Hout, A. H., van den Ouweland, A. M. W., van der Luijt, R. B., Gille, H. J. P., Bodmer, D., Brüggerwirth, H & Hofstra, R. M. W. (2006). A DGGE system for comprehensive mutation screening of BRCA1 and BRCA2: application in a Dutch cancer clinic setting. *Human Mutation*, 27(7), 654–666. <https://doi.org/10.1002/humu.20340>
- 334) Vasickova, P., Machackova, E., Lukesova, M., Damborsky, J., Horky, O., Pavlu, H & Foretova, L. (2007). High occurrence of BRCA1 intragenic rearrangements in hereditary breast and ovarian cancer syndrome in the Czech Republic. *BMC Medical Genetics*, 8(1), 32. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-8-32>
- 335) Vaziri, S. A. J., Krumroy, L. M., Rostai, M & Casey, G. (2001). Frequency of BRCA1 and BRCA2 mutations in a clinic based series of breast and ovarian cancer families. *Human Mutation*, 17(1), 74–74. [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(2001\)17:1<74::AID-HUMU13>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1098-1004(2001)17:1<74::AID-HUMU13>3.0.CO;2-I)
- 336) Velasco, E., Infante, M., Durán, M., Esteban, C. E., Lastra, E., García, G. C., & Miner, C. (2005). Rapid mutation detection in complex genes by heteroduplex analysis with capillary array electrophoresis. *ELECTROPHORESIS*, 26(13), 2539–2552. <https://doi.org/10.1002/elps.200410425>
- 337) Vietri, M. T., Molinari, A. M., De Paola, M. L., Cantile, F., Fasano, M & Cioffi, M. (2012). Identification of a novel in-frame deletion in BRCA2 and analysis of variants of BRCA1/2 in Italian patients affected with hereditary breast and ovarian cancer. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 50(12), 2171–2180. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0154>
- 338) Villarreal, G. C., Álvarez, G. R. M., Pérez, P. C., Herrera, L. A., Herzog, J., Castillo, D & Weitzel, J. N. (2015). Significant clinical impact of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Mexico. *Cancer*, 121(3), 372–378. <https://doi.org/10.1002/cncr.29058>
- 339) Vinodkumar, B., Symala, V., Abraham, E. K., Balakrishnan, R & Ankathil, R. (2007). Germline BRCA1 mutation and survival analysis in familial breast cancer patients in Kerala: South India. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research: CR*, 26(3), 329–336. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17987791>
- 340) Wagner, T. M., Möslinger, R. A., Muhr, D., Langbauer, G., Hirtenlehner, K., Concin, H & Zielinski, C. (1998). BRCA1 related breast cancer in Austrian breast and ovarian cancer families: specific BRCA1 mutations and pathological characteristics. *International Journal of*

- Cancer*, 77(3), 354–360. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19980729\)77:3<354::aid-ijc8>3.0.co;2-n](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19980729)77:3<354::aid-ijc8>3.0.co;2-n)
- 341) Wagner, T., Hirtenlehner, K., Shen, P., Moeslinger, R., Muhr, D., Fleischmann, E & Oefner, P. (1999). Global sequence diversity of BRCA2: analysis of 71 breast cancer families and 95 control individuals of worldwide populations [published erratum appears in *Hum Mol Genet* 1999 Apr;8(4):717-9]. *Human Molecular Genetics*, 8(3), 413–423. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.3.413>
- 342) Walsh, T., Casadei, S., Coats, K. H., Swisher, E., Stray, S. M., Higgins, J & King, M. C. (2006). Spectrum of Mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in Families at High Risk of Breast Cancer. *JAMA*, 295(12), 1379. <https://doi.org/10.1001/jama.295.12.1379>
- 343) Wang, Q., Chow, J. F., Yeung, W. S., Lau, E. Y., Lee, V. C., Ng, E. H & Ho, P. C. (2014). Preimplantation genetic diagnosis using combined strategies on a breast cancer patient with a novel genomic deletion in BRCA2. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 31(12), 1719–1726. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0355-4>
- 344) Wang, Y., Jiang, D., Zhao, Q., Huang, H., Zhang, X., Cui, Y & Banerjee, S. (2018). Identification of a novel breast cancer causing mutation in the BRCA1 gene by targeted next generation sequencing: A case report. *Oncology Letters*, 16(3), 3913–3916. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9139>
- 345) Ward, B. D., Hendrickson, B. C., Judkins, T., Deffenbaugh, A. M., Leclair, B., Ward, B. E & Scholl, T. (2005). A multi-exonic BRCA1 deletion identified in multiple families through single nucleotide polymorphism haplotype pair analysis and gene amplification with widely dispersed primer sets. *Journal of Molecular Diagnostics*, 7(1), 139–142. [https://doi.org/10.1016/S1525-1578\(10\)60020-7](https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60020-7)
- 346) Weitzel, J. N., Clague, J., Martir, N. A., Ogaz, R., Herzog, J., Ricker, C & Larson, G. P. (2013). Prevalence and type of BRCA mutations in Hispanics undergoing genetic cancer risk assessment in the southwestern United States: a report from the Clinical Cancer Genetics Community Research Network. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 31(2), 210–216. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.41.0027>
- 347) Wong, E. S. Y., Shekar, S., Chan, C. H. T., Hong, L. Z., Poon, S. Y., Silla, T & Lee, A. S. G. (2015). Predictive Factors for BRCA1 and BRCA2 Genetic Testing in an Asian Clinic Based Population. *PLOS ONE*, 10(7), e0134408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134408>

- 348) Woodward, A. M., Davis, T. A., Silva, A. G. S., Kirk, J. A & Leary, J. A. (2005). Large genomic rearrangements of both BRCA2 and BRCA1 are a feature of the inherited breast/ovarian cancer phenotype in selected families. *Journal of Medical Genetics*, 42(5), e31. <https://doi.org/10.1136/jmg.2004.027961>
- 349) Wooster, R., Bignell, G., Lancaster, J., Swift, S., Seal, S., Mangion, J & Stratton, M. R. (1995). Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*, 378(6559), 789–792. <https://doi.org/10.1038/378789a0>
- 350) Worsham, M. J., Nathanson, S. D., Pals, G., Christopherson, P., Strunk, M & Wolman, S. R. (1998). A new BRCA1 mutation in a Filipino woman with a family history of breast and ovarian cancer. *Diagnostic Molecular Pathology: The American Journal of Surgical Pathology*, 7(3), 164–167. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9836072>
- 351) Yadav, D. S., Chattopadhyay, I., Verma, A., Devi, T. R., Singh, L. C., Sharma, J. D & Kapur, S. (2014). A pilot study evaluating genetic alterations that drive tobacco and betel quid-associated oral cancer in Northeast India. *Tumor Biology*, 35(9), 9317–9330. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2222-4>
- 352) Yang, C., Jairam, S., Amoroso, K. A., Robson, M. E., Walsh, M. F & Zhang, L. (2018). Characterization of a novel germline BRCA1 splice variant, c.5332+4delA. *Breast Cancer Research and Treatment*, 168(2), 543–550. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4595-8>
- 353) Yang, X. R., Devi, B. C. R., Sung, H., Guida, J., Mucaki, E. J., Xiao, Y & Dean, M. (2017). Prevalence and spectrum of germline rare variants in BRCA1/2 and PALB2 among breast cancer cases in Sarawak, Malaysia. *Breast Cancer Research and Treatment*, 165(3), 687–697. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4356-8>
- 354) Yassaee, V. R., Emamalizadeh, B & Omrani, M. D. (2013). Screening for genomic rearrangements at BRCA1 locus in Iranian women with breast cancer using multiplex ligation-dependent probe amplification. *Journal of Genetics*, 92(1), 131–134. <https://doi.org/10.1007/s12041-013-0223-5>
- 355) Yassaee, V. R., Zeinali, S., Harirchi, I., Jarvandi, S., Mohagheghi, M. A., Hornby, D. P & Dalton, A. (2002). Novel mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in Iranian women with early-onset breast cancer. *Breast Cancer Research: BCR*, 4(4), R6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12100744>
- 356) Yassaee, V. R., Ravesh, Z., Soltani, Z., Hashemi, G. F., Poorhosseini, S. M., Anbiaee, R & Joulaee, A. (2016). Mutation Spectra of BRCA Genes in Iranian Women with Early Onset

- Breast Cancer 15 Years Experience. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(sup3), 149–153. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2016.17.s3.149>
- 357) Yoon, K. A., Kong, S. Y., Lee, E. J., Cho, J. N., Chang, S & Lee, E. S. (2017). A Novel Germline Mutation in BRCA1 Causes Exon 20 Skipping in a Korean Family with a History of Breast Cancer. *Journal of Breast Cancer*, 20(3), 310. <https://doi.org/10.4048/jbc.2017.20.3.310>
- 358) Yu, Y., Dong, L., Li, D., Chuai, S., Wu, Z., Zheng, X & Gao, M. (2015). Targeted DNA Sequencing Detects Mutations Related to Susceptibility among Familial Non-medullary Thyroid Cancer. *Scientific Reports*, 5(1), 16129. <https://doi.org/10.1038/srep16129>
- 359) Zanella, I., Merola, F., Biasiotto, G., Archetti, S., Spinelli, E & Di Lorenzo, D. (2017). Evaluation of the Ion Torrent PGM sequencing workflow for the routine rapid detection of BRCA1 and BRCA2 germline mutations. *Experimental and Molecular Pathology*, 102(2), 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2017.03.001>
- 360) Zhang, J., Fackenthal, J. D., Huo, D., Zheng, Y & Olopade, O. I. (2010). Searching for large genomic rearrangements of the BRCA1 gene in a Nigerian population. *Breast Cancer Research and Treatment*, 124(2), 573–577. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1006-9>
- 361) Zhang, M., Xu, Y., Ouyang, T., Li, J., Wang, T., Fan, Z & Xie, Y. (2012). Somatic mutations in the BRCA1 gene in Chinese women with sporadic breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 132(1), 335–340. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1887-2>
- 362) Zhi, X., Szabo, C., Chopin, S., Suter, N., Wang, Q. S., Ostrander, E. A & Shi, Y. R. (2002). BRCA1 and BRCA2 sequence variants in Chinese breast cancer families. *Human Mutation*, 20(6), 474–474. <https://doi.org/10.1002/humu.9083>
- 363) Zhong, L., Zhu, Z. Z., Shen, Y., Sun, G., Zhao, X., Zhang, S & Zhu, G. (2011). Frequent germline mutation in the BRCA2 gene in esophageal squamous cell carcinoma patients from a low-risk chinese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 12(7), 1771–1776. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22126563>
- 364) Zhou, J., Rao, N., Li, S., Jin, L., Jia, W. J., Gong, C & Shao, Z. (2009). Analysis of BRCA1 gene mutations in patients with early-onset breast cancer and their affected relatives in Guangdong province. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao = Journal of Southern Medical University*, 29(2), 213–216. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19246281>
- 365) Zikan, M., Pohlreich, P., Stribrna, J., Kleibl, Z & Cibula, D. (2008). Novel complex genomic rearrangement of the BRCA1 gene. *Mutation Research/Fundamental and Molecular*

Mechanisms of Mutagenesis, 637(1–2), 205–208.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.08.002>

- 366) Zorrieh, Z. A., Kadkhoda, S., Behjati, F., Aghakhani, M. F., Badiei, A., Sirati, F & Keyhani, E. (2016). Mutation Screening of BRCA Genes in 10 Iranian Males with Breast Cancer. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 5(2), 114–122. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27478808>
- 367) Zuhlke, K. A., Madeoy, J. J., Beebe, D. J., White, K. A., Griffin, A., Lange, E. M & Cooney, K. A. (2004). Truncating BRCA1 Mutations Are Uncommon in a Cohort of Hereditary Prostate Cancer Families with Evidence of Linkage to 17q Markers. *Clinical Cancer Research*, 10(18), 5975–5980. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0554>

14.4 METODOLOGÍAS PARA EL ESTUDIO DE MUTACIONES VUS EN *BRCA1*

Metodologías empleadas para el estudio de mutaciones VUS en <i>BRCA1</i>				
Año	Número de VUS	Gen	Método experimental	Cita de referencias 14.6
2001	1	<i>BRCA1</i>	RTPCR	(Ostrow <i>et al</i> , 2001)
2002	2	<i>BRCA1</i>	DHPLC	(Arnold <i>et al</i> , 2002)
2003	6	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Campos <i>et al</i> , 2003)
2003	1	<i>BRCA1</i>	RTPCR/DHPLC	(Meyer <i>et al</i> , 2003)
2003	3	<i>BRCA1</i>	RTPCR	(Claes <i>et al</i> , 2003)
2003	1	<i>BRCA1</i>	RTPCR/GFP	(Southey <i>et al</i> , 2003)
2004	1	<i>BRCA1</i>	RTPCR/Secuenciación (Sec)	(Martin <i>et al</i> , 2004)
2004	2	<i>BRCA1</i>	RTPCR	(Brose <i>et al</i> , 2004)
2004	2	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation</i>	(Ostrow <i>et al</i> , 2004)
2006	6	<i>BRCA1</i>	RTPCR/Sec	(Chen <i>et al</i> , 2006)
2006	2	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Bonatti <i>et al</i> , 2006)
2006	3	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Maillet <i>et al</i> , 2006)
2007	1	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Ang <i>et al</i> , 2007)
2007	4	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation/Foci formation</i>	(Lovelock <i>et al</i> , 2007)
2007	5	<i>BRCA1</i>	<i>Loss of Heterozygosity (LOH)</i>	(Osorio <i>et al</i> , 2007)
2007	1	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation</i>	(Carvalho & Monteiro, 2007)
2007	96	<i>BRCA1</i>	<i>In silico</i>	(Easton <i>et al</i> , 2007)
2008	8	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation/In silico</i>	(Carvalho <i>et al</i> , 2009)
2009	1	<i>BRCA1</i>	<i>In silico</i>	(Spurdle <i>et al</i> , 2010)
2010	92	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation/In silico</i>	(Lee <i>et al</i> , 2010)
2010	3	<i>BRCA1</i>	<i>In silico</i>	(Sweet <i>et al</i> , 2010)
2010	1	<i>BRCA1</i>	<i>Minigene/In silico/Sec</i>	(Steffensen <i>et al</i> , 2010)
2010	6	<i>BRCA1</i>	<i>Minigene/RTPCR/In silico</i>	(Sanz <i>et al</i> , 2010)
2011	1	<i>BRCA1</i>	RTPCR/LOH	(Zhang <i>et al</i> , 2011)
2011	1	<i>BRCA1</i>	<i>Luciferase assay/sec</i>	(Lheureux <i>et al</i> , 2011)
2011	13	<i>BRCA1</i>	<i>Yeast assay</i>	(Millot <i>et al</i> , 2011)
2011	6	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Menéndez <i>et al</i> , 2012)
2011	11	<i>BRCA1</i>	<i>Minigene/RTPCR/In silico</i>	(Thomassen <i>et al</i> , 2012)
2012	1	<i>BRCA1</i>	<i>Protein-protein interaction</i>	(Cortesi <i>et al</i> , 2012)
2012	2	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation/Yeast assay</i>	(Kou <i>et al</i> , 2012)
2012	2	<i>BRCA1</i>	<i>Microarray assay</i>	(Iofrida <i>et al</i> , 2012)
2012	24	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Wappenschmidt <i>et al</i> , 2012)
2012	1	<i>BRCA1</i>	<i>Non homologous recombination</i>	(Sevcik <i>et al</i> , 2012)
2013	7	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Colombo <i>et al</i> , 2013)
2013	2	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation/In silico</i>	(Kawaku <i>et al</i> , 2013)
2013	7	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation/In silico</i>	(Quiles <i>et al</i> , 2013)
2014	1	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Whiley <i>et al</i> , 2014)
2014	12	<i>BRCA1</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Santos <i>et al</i> , 2014)
2014	24	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation/In silico</i>	(Carvalho <i>et al</i> , 2014)
2014	1	<i>BRCA1</i>	<i>Foci formation assay</i>	(Chen <i>et al</i> , 2014)
2014	12	<i>BRCA1</i>	<i>Minigene/In silico</i>	(Steffensen <i>et al</i> , 2014)

2015	54	<i>BRCA1</i>	<i>Homology directed repair</i>	(Lu <i>et al</i> , 2015)
2015	14	<i>BRCA1</i>	<i>Minigene/In silico</i>	(Ahlborn <i>et al</i> , 2015)
2015	6	<i>BRCA1</i>	<i>Cell proliferation assay</i>	(Cochran <i>et al</i> , 2015)
2015	4	<i>BRCA1</i>	<i>Flow cytometry based functional variant analyses</i>	(Loke <i>et al</i> , 2015)
2016	1	<i>BRCA1</i>	<i>RTPCR/Sec</i>	(Wong <i>et al</i> , 2016)
2016	1	<i>BRCA1</i>	<i>Minigene/RTPCR</i>	(de la Hoya <i>et al</i> , 2016)
2016	16	<i>BRCA1</i>	<i>RTPCR/In silico</i>	(Quiles <i>et al</i> , 2016)
2017	1	<i>BRCA1</i>	<i>In silico</i>	(Zuntini <i>et al</i> , 2017)
2017	2	<i>BRCA1</i>	<i>RTPCR/Proliferation assay</i>	(Zhang <i>et al</i> , 2017)
2017	1	<i>BRCA1</i>	<i>In silico</i>	(Ryu <i>et al</i> , 2017)
2017	1	<i>BRCA1</i>	<i>Homologous recombination/In silico</i>	(Shimelis <i>et al</i> , 2017)
2017	5	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation/RTPCR/In silico</i>	(Jarhelle <i>et al</i> , 2017)
2017	4	<i>BRCA1</i>	<i>In silico</i>	(Gabaldó <i>et al</i> , 2017)
2018	8	<i>BRCA1</i>	<i>Transactivation</i>	(Langerud <i>et al</i> , 2018)
2018	1	<i>BRCA1</i>	<i>Multifactorial likelihood analysis</i>	(Tudini <i>et al</i> , 2018)
2018	1	<i>BRCA1</i>	<i>In silico</i>	(Beebe <i>et al</i> , 2018)
2018	1	<i>BRCA1</i>	<i>RTPCR/In silico/Sec</i>	(Yang <i>et al</i> , 2018)
2018	1	<i>BRCA1</i>	<i>RTPCR/Sec</i>	(Seo <i>et al</i> , 2018)
2018	11	<i>BRCA1</i>	<i>In silico</i>	(Nakagomi <i>et al</i> , 2018)

14.5 METODOLOGÍAS PARA EL ESTUDIO DE MUTACIONES VUS EN *BRCA2*

Metodologías empleadas para el estudio de mutaciones VUS en <i>BRCA2</i>				
Año	Número de VUS	Gen	Método experimental	Cita de referencias 14.6
2002	1	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Fackenthal <i>et al</i> , 2002)
2003	1	<i>BRCA2</i>	RTPCR	(Martínez <i>et al</i> , 2003)
2003	2	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Campos <i>et al</i> , 2003)
2003	6	<i>BRCA2</i>	RTPCR	(Claes <i>et al</i> , 2003)
2004	1	<i>BRCA2</i>	LOH	(Martinez <i>et al</i> , 2004)
2006	6	<i>BRCA2</i>	RTPCR/Secuenciación (Sec)	(Chen <i>et al</i> , 2006)
2006	7	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Bonatti <i>et al</i> , 2006)
2006	2	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Maillet <i>et al</i> , 2006)
2007	1	<i>BRCA2</i>	RTPCR/Sec	(Kwong <i>et al</i> , 2008)
2007	1	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Ang <i>et al</i> , 2007)
2007	80	<i>BRCA2</i>	<i>In silico</i>	(Easton <i>et al</i> , 2007)
2008	1	<i>BRCA2</i>	RTPCR/LOH/Sec	(Zhang <i>et al</i> , 2009)
2009	1	<i>BRCA2</i>	<i>In silico</i>	(Spurdle <i>et al</i> , 2010)
2009	2	<i>BRCA2</i>	RTPCR/Sec	(Pensabene <i>et al</i> , 2009)
2010	1	<i>BRCA2</i>	<i>Minigene/In silico/Sec</i>	(Steffensen <i>et al</i> , 2010)
2010	5	<i>BRCA2</i>	<i>Minigene/RTPCR/Sec</i>	(Sanz <i>et al</i> , 2010)
2010	1	<i>BRCA2</i>	RTPCR	(Hansen <i>et al</i> , 2010)
2011	4	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Menéndez <i>et al</i> , 2012)
2011	6	<i>BRCA2</i>	<i>Minigene/RTPCR/Sec</i>	(Biswas <i>et al</i> , 2011)
2011	4	<i>BRCA2</i>	<i>WST assay/ Survival assay</i>	(Warren <i>et al</i> , 2011)
2011	14	<i>BRCA2</i>	<i>Minigene/In silico</i>	(Thomassen <i>et al</i> , 2012)
2011	11	<i>BRCA2</i>	<i>Homologous recombination assay/LOH</i>	(Balía <i>et al</i> , 2011)
2012	8	<i>BRCA2</i>	<i>Homologous recombination assay/RTPCR</i>	(Biswas <i>et al</i> , 2012)
2013	1	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico/Sec</i>	(Colombo <i>et al</i> , 2013)
2013	8	<i>BRCA2</i>	<i>Minigene/In silico</i>	(Di Giacomo <i>et al</i> , 2013)
2014	13	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Santos <i>et al</i> , 2014)
2014	1	<i>BRCA2</i>	DHPLC/ <i>In silico</i>	(Surowy <i>et al</i> , 2014)
2015	21	<i>BRCA2</i>	<i>Homologous recombination assay/In silico</i>	(Lu <i>et al</i> , 2015)
2015	1	<i>BRCA2</i>	<i>In silico</i>	(Higgs <i>et al</i> , 2015)
2015	1	<i>BRCA2</i>	<i>In silico</i>	(Thompson <i>et al</i> , 2015)
2016	1	<i>BRCA2</i>	<i>In silico</i>	(Riahi <i>et al</i> , 2016)
2016	12	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Quiles <i>et al</i> , 2016)
2017	3	<i>BRCA2</i>	<i>Homologous recombination assay/In silico</i>	(Shimelis <i>et al</i> , 2017)
2017	1	<i>BRCA2</i>	RTPCR/ <i>In silico</i>	(Jarhelle <i>et al</i> , 2017)
2017	30	<i>BRCA2</i>	<i>Minigene/In silico</i>	(Fraile <i>et al</i> , 2017)
2017	27	<i>BRCA2</i>	<i>In silico</i>	(Gabaldó <i>et al</i> , 2017)
2018	1	<i>BRCA2</i>	GFP assay/Sec	(Caleca <i>et al</i> , 2018)

2018	1	BRCA2	<i>In silico</i>	(Beebe <i>et al</i> , 2018)
2018	1	BRCA2	<i>Minigene/In silico</i>	(Dominguez <i>et al</i> , 2018)
2018	26	BRCA2	<i>In silico</i>	(Nakagomi <i>et al</i> , 2018)

14.6 REFERENCIAS DE METODOLOGÍAS PARA EL ESTUDIO DE MUTACIONES

- 1) Ahlborn, L. B., Dandanell, M., Steffensen, A. Y., Jønson, L., Nielsen, F. C & Hansen, T. V. O. (2015). Splicing analysis of 14 BRCA1 missense variants classifies nine variants as pathogenic. *Breast Cancer Research and Treatment*, 150(2), 289–298. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3313-7>
- 2) Ang, P., Lim, I. H. K., Lee, T. C., Luo, J. T., Ong, D. C. T., Tan, P. H & Lee, A. S. G. (2007). BRCA1 and BRCA2 mutations in an Asian clinic-based population detected using a comprehensive strategy. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 16(11), 2276–2284. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0403>
- 3) Arnold, N., Peper, H., Bandick, K., Kreikemeier, M., Karow, D., Teegen, B & Jonat, W. (2002). Establishing a control population to screen for the occurrence of nineteen unclassified variants in the BRCA1 gene by denaturing high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 782(1–2), 99–104. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00696-7](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00696-7)
- 4) Balia, C., Galli, A & Caligo, M. A. (2011). Effect of the overexpression of BRCA2 unclassified missense variants on spontaneous homologous recombination in human cells. *Breast Cancer Research and Treatment*, 129(3), 1001–1009. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1607-y>
- 5) Beebe, D. J. L., Zuhlke, K. A., Johnson, A. M., Liesman, D & Cooney, K. A. (2018). Rare germline mutations in African American men diagnosed with early-onset prostate cancer. *Prostate*, 78(5), 321–326. <https://doi.org/10.1002/pros.23464>
- 6) Biswas, K., Das, R., Alter, B. P., Kuznetsov, S. G., Stauffer, S., North, S. L & Sharan, S. K. (2011). A comprehensive functional characterization of BRCA2 variants associated with Fanconi anemia using mouse ES cell-based assay. *Blood*, 118(9), 2430–2442. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-324541>
- 7) Biswas, K., Das, R., Eggington, J. M., Qiao, H., North, S. L., Stauffer, S & Sharan, S. K. (2012). Functional evaluation of BRCA2 variants mapping to the PALB2-binding and C-terminal

- DNA-binding domains using a mouse ES cell-based assay. *Human Molecular Genetics*, 21(18), 3993–4006. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds222>
- 8) Bonatti, F., Pepe, C., Tancredi, M., Lombardi, G., Aretini, P., Sensi, E & Caligo, M. A. (2006). RNA-based analysis of BRCA1 and BRCA2 gene alterations. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 170(2), 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2006.05.005>
 - 9) Brose, M. S., Volpe, P., Paul, K., Stopfer, J. E., Colligon, T. A., Calzone, K. A & Weber, B. L. (2004). Characterization of two novel BRCA1 germ-line mutations involving splice donor sites. *Genetic Testing*, 8(2), 133–138. <https://doi.org/10.1089/gte.2004.8.133>
 - 10) Caleca, L., Catucci, I., Figlioli, G., De Cecco, L., Pesaran, T., Ward, M & Peterlongo, P. (2018). Two Missense Variants Detected in Breast Cancer Probands Preventing BRCA2-PALB2 Protein Interaction. *Frontiers in Oncology*, 8, 480. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00480>
 - 11) Campos, B., Díez, O., Domènech, M., Baena, M., Balmaña, J., Sanz, J & Baiget, M. (2003). RNA analysis of eight BRCA1 and BRCA2 unclassified variants identified in breast/ovarian cancer families from Spain. *Human Mutation*, 22(4), 337. <https://doi.org/10.1002/humu.9176>
 - 12) Carvalho, M. A & Monteiro, A. N. A. (2007). Correction: functional analysis of BRCA1 M1628V variant. *Journal of Medical Genetics*. 44(5). e78. <https://doi.org/10.1136/jmg.2006.045344>
 - 13) Carvalho, M., Pino, M. A., Karchin, R., Beddor, J., Godinho-Netto, M., Mesquita, R. D & Billack, B. (2009). Analysis of a set of missense, Frameshift and in-frame deletion variants of BRCA1. *Mutation Research*, 660(1–2), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.09.017>
 - 14) Carvalho, R. S., Abreu, R. B. V, Velkova, A., Marsillac, S., Rodarte, R. S., Suarez-Kurtz, G & Carvalho, M. A. (2014). Probing structure-function relationships in missense variants in the carboxy-terminal region of BRCA1. *PloS One*, 9(5), e97766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097766>
 - 15) Chen, B. Y. H., Huang, C. H., Lin, Y. H., Huang, C.-C., Deng, C. X & Hsu, L. C. (2014). The K898E germline variant in the PP1-binding motif of BRCA1 causes defects in DNA Repair. *Scientific Reports*, 4, 5812. <https://doi.org/10.1038/srep05812>

- 16) Chen, X., Truong, T. T. N., Weaver, J., Bove, B. A., Cattie, K., Armstrong, B. A & Godwin, A. K. (2006). Intronic alterations in BRCA1 and BRCA2: effect on mRNA splicing fidelity and expression. *Human Mutation*, 27(5), 427–435. <https://doi.org/10.1002/humu.20319>
- 17) Claes, K., Poppe, B., Machackova, E., Coene, I., Foretova, L., De Paepe, A & Messiaen, L. (2003). Differentiating pathogenic mutations from polymorphic alterations in the splice sites of BRCA1 and BRCA2. *Genes Chromosomes and Cancer*, 37(3), 314–320. <https://doi.org/10.1002/gcc.10221>
- 18) Cochran, R. L., Cidado, J., Kim, M., Zabransky, D. J., Croessmann, S., Chu, D & Park, B. H. (2015). Functional isogenic modeling of BRCA1 alleles reveals distinct carrier phenotypes. *Oncotarget*, 6(28), 25240–25251. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4595>
- 19) Colombo, M., De Vecchi, G., Caleca, L., Foglia, C., Ripamonti, C. B., Ficarazzi, F & Radice, P. (2013). Comparative in vitro and in silico analyses of variants in splicing regions of BRCA1 and BRCA2 genes and characterization of novel pathogenic mutations. *PloS One*, 8(2), e57173. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057173>
- 20) Cortesi, L., De Nicolo, A., Medici, V., Marino, M., Turchetti, D., Pradella, L. M & Federico, M. (2012). Collective evidence supports neutrality of BRCA1 V1687I, a novel sequence variant in the conserved THV motif of the first BRCT repeat. *Breast Cancer Research and Treatment*, 134(1), 435–441. <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2052-2>
- 21) de la Hoya, M., Soukarieh, O., López-Perolio, I., Vega, A., Walker, L. C., van Ierland, Y & Spurdle, A. B. (2016). Combined genetic and splicing analysis of BRCA1 c. [594-2A>C; 641A>G] highlights the relevance of naturally occurring in-frame transcripts for developing disease gene variant classification algorithms. *Human Molecular Genetics*, 25(11), 2256–2268. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw094>
- 22) Di Giacomo, D., Gaildrat, P., Abuli, A., Abdat, J., Frébourg, T., Tosi, M & Martins, A. (2013). Functional analysis of a large set of BRCA2 exon 7 variants highlights the predictive value of hexamer scores in detecting alterations of exonic splicing regulatory elements. *Human Mutation*, 34(11), 1547–1557. <https://doi.org/10.1002/humu.22428>
- 23) Dominguez, V. M., Nakken, S., Tubeuf, H., Vodak, D., Ekstrøm, P. O., Nissen, A. M & Hovig, E. (2018). Potentially pathogenic germline CHEK2 c.319+2T>A among multiple early onset cancer families. *Familial Cancer*, 17(1), 141–153. <https://doi.org/10.1007/s10689-017-0011-0>

- 24) Easton, D. F., Deffenbaugh, A. M., Pruss, D., Frye, C., Wenstrup, R. J., Allen-Brady, K & Goldgar, D. E. (2007). A systematic genetic assessment of 1,433 sequence variants of unknown clinical significance in the BRCA1 and BRCA2 breast cancer predisposition genes. *American Journal of Human Genetics*, 81(5), 873–883. <https://doi.org/10.1086/521032>
- 25) Fackenthal, J. D., Cartegni, L., Krainer, A. R & Olopade, O. I. (2002). BRCA2 T2722R is a deleterious allele that causes exon skipping. *American Journal of Human Genetics*, 71(3), 625–631. <https://doi.org/10.1086/342192>
- 26) Fraile, B. E., Díez, G. B., Velásquez, Z. V., Acedo, A., Sanz, D. J & Velasco, E. A. (2017). Functional classification of DNA variants by hybrid minigenes: Identification of 30 spliceogenic variants of BRCA2 exons 17 and 18. *PLoS Genetics*, 13(3), e1006691. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006691>
- 27) Gabaldó, B. X., Sarabia, M. M. D., Marín, V. M., Sánchez, B. A. I., Macías, C. J. A., Sánchez, H. P & Ruiz, E. F. (2017). Molecular characterization and clinical interpretation of BRCA1/BRCA2 variants in families from Murcia (south-eastern Spain) with hereditary breast and ovarian cancer: clinical-pathological features in BRCA carriers and non-carriers. *Familial Cancer*, 16(4), 477–489. <https://doi.org/10.1007/s10689-017-9985-x>
- 28) Hansen, T. V. O., Steffensen, A. Y., Jønson, L., Andersen, M. K., Ejlersen, B & Nielsen, F. C. (2010). The silent mutation nucleotide 744 G --> A, Lys172Lys, in exon 6 of BRCA2 results in exon skipping. *Breast Cancer Research and Treatment*, 119(3), 547–550. <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0359-4>
- 29) Higgs, J. E., Harkness, E. F., Bowers, N. L., Howard, E., Wallace, A. J., Lalloo, F & Evans, D. G. (2015). The BRCA2 polymorphic stop codon: stuff or nonsense? *Journal of Medical Genetics*, 52(9), 642–645. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103206>
- 30) Iofrida, C., Melissari, E., Mariotti, V., Guglielmi, C., Guidugli, L., Caligo, M. A & Pellegrini, S. (2012). Effects on human transcriptome of mutated BRCA1 BRCT domain: A microarray study. *BMC Cancer*, 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-207>
- 31) Jarhelle, E., Riise Stensland, H. M. F., Mæhle, L & Van Ghelue, M. (2017). Characterization of BRCA1 and BRCA2 variants found in a Norwegian breast or ovarian cancer cohort. *Familial Cancer*, 16(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10689-016-9916-2>
- 32) Kawaku, S., Sato, R., Song, H., Bando, Y., Arinami, T & Noguchi, E. (2013). Functional analysis of BRCA1 missense variants of uncertain significance in Japanese breast cancer families. *Journal of Human Genetics*, 58(9), 618–621. <https://doi.org/10.1038/jhg.2013.71>

- 33) Kuo, W. H., Lin, P. H., Huang, A. C., Chien, Y. H., Liu, T.-P., Lu, Y. S & Chang, K. J. (2012). Multimodel assessment of BRCA1 mutations in Taiwanese (ethnic Chinese) women with early onset, bilateral or familial breast cancer. *Journal of Human Genetics*, 57(2), 130–138. <https://doi.org/10.1038/jhg.2011.142>
- 34) Kwong, A., Wong, L. P., Chan, K. Y. K., Ma, E. S. K., Khoo, U. S & Ford, J. M. (2008). Characterization of the pathogenic mechanism of a novel BRCA2 variant in a Chinese family. *Familial Cancer*, 7(2), 125–133. <https://doi.org/10.1007/s10689-007-9155-7>
- 35) Langerud, J., Jarhelle, E., Van Ghelue, M., Ariansen, S. L & Iversen, N. (2018). Trans-activation based risk assessment of BRCA1 BRCT variants with unknown clinical significance. *Human Genomics*, 12(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s40246-018-0183-1>
- 36) Lee, M. S., Green, R., Marsillac, S. M., Coquelle, N., Williams, R. S., Yeung, T & Glover, J. N. M. (2010). Comprehensive analysis of missense variations in the BRCT domain of BRCA1 by structural and functional assays. *Cancer Research*, 70(12), 4880–4890. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-4563>
- 37) Lheureux, S., Lambert, B., Krieger, S., Legros, A., Vaur, D., Denoyelle, C & Hardouin, A. (2011). Two novel variants in the 3'UTR of the BRCA1 gene in familial breast and/or ovarian cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 125(3), 885–891. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1165-8>
- 38) Loke, J., Pearlman, A., Upadhyay, K., Tesfa, L., Shao, Y & Ostrer, H. (2015). Functional variant analyses (FVAs) predict pathogenicity in the BRCA1 DNA double-strand break repair pathway. *Human Molecular Genetics*, 24(11), 3030–3037. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv048>
- 39) Lovelock, P. K., Spurdle, A. B., Mok, M. T. S., Farrugia, D. J., Lakhani, S. R., Healey, S & Brown, M. A. (2007). Identification of BRCA1 missense substitutions that confer partial functional activity: Potential moderate risk variants?. *Breast Cancer Research*, 9(6). <https://doi.org/10.1186/bcr1826>
- 40) Lu, C., Xie, M., Wendl, M. C., Wang, J., McLellan, M. D., Leiserson, M. D. M & Ding, L. (2015). Patterns and functional implications of rare germline variants across 12 cancer types. *Nature Communications*, 6, 10086. <https://doi.org/10.1038/ncomms10086>
- 41) Maillet, P., Chappuis, P. O., Khoshbeen, B. M., Sciretta & Sappino, A. P. (2006). Twenty three novel BRCA1 and BRCA2 sequence variations identified in a cohort of Swiss breast

- and ovarian cancer families. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 169(1), 62–68.
<https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2006.03.010>
- 42) Martin, E. S., Croce, C. M., Biggs, D. D & Martin, S. E. (2004). BRCA1 IVS2-2delA: A deleterious mutation in a family of Asian descent. *Cancer Genetics and Cytogenetics*.
<https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2003.08.024>
- 43) Martinez, S. L., Herzog, J & Weitzel, J. N. (2004). Loss of five amino acids in BRCA2 is associated with ovarian cancer. *Journal of Medical Genetics*, 41(2).
<https://doi.org/10.1136/jmg.2003.010827>
- 44) Martínez, F. J. I., Vega, A., Chirivella, I., Marín, G. P., Insa, A., Lluch, A & Armengod, M. E. (2003). Mutational analysis of BRCA1 and BRCA2 in Mediterranean Spanish women with early-onset breast cancer: Identification of three novel pathogenic mutations. *Human Mutation*, 22(5), 417–418. <https://doi.org/10.1002/humu.9188>
- 45) Menéndez, M., Castellsagué, J., Mirete, M., Pros, E., Feliubadaló, L., Osorio, A & Lázaro, C. (2012). Assessing the RNA effect of 26 DNA variants in the BRCA1 and BRCA2 genes. *Breast Cancer Research and Treatment*, 132(3), 979–992. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1661-5>
- 46) Meyer, P., Voigtlaender, T., Bartram, C. R & Klaes, R. (2003). Twenty three novel BRCA1 and BRCA2 sequence alterations in breast and/or ovarian cancer families in Southern Germany. *Human Mutation*, 22(3), 259–259. <https://doi.org/10.1002/humu.9174>
- 47) Millot, G. A., Berger, A., Lejour, V., Boulé, J. B., Bobo, C., Cullin, C & Nicolas, A. (2011). Assessment of human Nter and Cter BRCA1 mutations using growth and localization assays in yeast. *Human Mutation*, 32(12), 1470–1480.
<https://doi.org/10.1002/humu.21608>
- 48) Nakagomi, H., Mochizuki, H., Inoue, M., Hirotsu, Y., Amemiya, K., Sakamoto, I & Omata, M. (2018). Combined annotation-dependent depletion score for BRCA1/2 variants in patients with breast and/or ovarian cancer. *Cancer Science*, 109(2), 453–461.
<https://doi.org/10.1111/cas.13464>
- 49) Osorio, A., Milne, R. L., Honrado, E., Barroso, A., Diez, O., Salazar, R & Benítez, J. (2007). Classification of missense variants of unknown significance in BRCA1 based on clinical and tumor information. *Human Mutation*, 28(5), 477–485.
<https://doi.org/10.1002/humu.20470>

- 50) Ostrow, K. L., DiCioccio, R. A., McGuire, V & Whittemore, A. S. (2001). A BRCA1 variant, IVS23+1G→A, causes abnormal RNA splicing by deleting exon 23. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. [https://doi.org/10.1016/S0165-4608\(01\)00433-2](https://doi.org/10.1016/S0165-4608(01)00433-2)
- 51) Ostrow, K. L., McGuire, V., Whittemore, A. S & DiCioccio, R. A. (2004). The effects of BRCA1 missense variants V1804D and M1628T on transcriptional activity. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 153(2), 177–180. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2004.01.020>
- 52) Pensabene, M., Spagnoletti, I., Capuano, I., Condello, C., Pepe, S., Contegiacomo, A & Caligo, M. A. (2009). Two mutations of BRCA2 gene at exon and splicing site in a woman who underwent oncogenetic counseling. *Annals of Oncology*, 20(5), 874–878. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdn724>
- 53) Quiles, F., Fernández, R. J., Mosca, R., Feliubadaló, L., Tornero, E., Brunet, J & Lázaro, C. (2013). Functional and structural analysis of C-terminal BRCA1 missense variants. *PLoS One*, 8(4), e61302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061302>
- 54) Quiles, F., Menéndez, M., Tornero, E., del Valle, J., Teulé, À., Palanca, S & Lázaro, C. (2016). Investigating the effect of 28 BRCA1 and BRCA2 mutations on their related transcribed mRNA. *Breast Cancer Research and Treatment*, 155(2), 253–260. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3676-9>
- 55) Riahi, A., Messaoudi, A., Mrad, R., Fourati, A., Chabouni-Bouhamed, H & Kharrat, M. (2016). Molecular characterization, homology modeling and docking studies of the R2787H missense variation in BRCA2 gene: Association with breast cancer. *Journal of Theoretical Biology*, 403, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2016.05.013>
- 56) Ryu, J. M., Kang, G., Nam, S. J., Kim, S. W., Yu, J., Lee, S. K & Kim, S. W. (2017). Suggestion of BRCA1 c.5339T>C (p.L1780P) variant confer from ‘unknown significance’ to ‘Likely pathogenic’ based on clinical evidence in Korea. *Breast*, 33, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2017.03.006>
- 57) Santos, C., Peixoto, A., Rocha, P., Pinto, P., Bizarro, S., Pinheiro, M & Teixeira, M. R. (2014). Pathogenicity evaluation of BRCA1 and BRCA2 unclassified variants identified in Portuguese breast/ovarian cancer families. *The Journal of Molecular Diagnostics : JMD*, 16(3), 324–334. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2014.01.005>
- 58) Sanz, D. J., Acedo, A., Infante, M., Durán, M., Pérez, C. L., Esteban, C. E & Velasco, E. A. (2010). A high proportion of DNA variants of BRCA1 and BRCA2 is associated with aberrant splicing in breast/ovarian cancer patients. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of*

- the American Association for Cancer Research*, 16(6), 1957–1967.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-2564>
- 59) Seo, A., Orna, S. S., Unal, S., Casadei, S., Walsh, T., Gumruk, F & King, M. C. (2018). Mechanism for survival of homozygous nonsense mutations in the tumor suppressor gene BRCA1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(20), 5241–5246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1801796115>
- 60) Sevcik, J., Falk, M., Kleiblova, P., Lhota, F., Stefancikova, L., Janatova, M & Kleibl, Z. (2012). The BRCA1 alternative splicing variant Δ 14-15 with an in-frame deletion of part of the regulatory serine-containing domain (SCD) impairs the DNA repair capacity in MCF-7 cells. *Cellular Signalling*, 24(5), 1023–1030. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.12.023>
- 61) Shimelis, H., Mesman, R. L. S., Von Nicolai, C., Ehlen, A., Guidugli, L., Martin, C & NBCS Collaborators. (2017). BRCA2 Hypomorphic Missense Variants Confer Moderate Risks of Breast Cancer. *Cancer Research*, 77(11), 2789–2799. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2568>
- 62) Southey, M. C., Tesoriero, A., Young, M. A., Holloway, A. J., Jenkins, M. A., Whitty, J & Armes, J. E. (2003). A specific GFP expression assay, penetrance estimate, and histological assessment for a putative splice site mutation in BRCA1. *Human Mutation*, 22(1), 86–91. <https://doi.org/10.1002/humu.10224>
- 63) Spurdle, A. B., Lakhani, S. R., Da Silva, L. M., Balleine, R & Goldgar, D. E. (2010). Bayes analysis provides evidence of pathogenicity for the BRCA1 c.135-1G>T (IVS3-1) and BRCA2 c.7977-1G>C (IVS17-1) variants displaying in vitro splicing results of equivocal clinical significance. *Human Mutation*, 31(2), E1141-5. <https://doi.org/10.1002/humu.21181>
- 64) Steffensen, A. Y., Dandanell, M., Jønson, L., Ejlertsen, B., Gerdes, A. M., Nielsen, F. C & Hansen, T. V. O. (2014). Functional characterization of BRCA1 gene variants by mini-gene splicing assay. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 22(12), 1362–1368. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.40>
- 65) Steffensen, A. Y., Jønson, L., Ejlertsen, B., Gerdes, A. M., Nielsen, F. C & Hansen, T. V. O. (2010). Identification of a Danish breast/ovarian cancer family double heterozygote for BRCA1 and BRCA2 mutations. *Familial Cancer*, 9(3), 283–287. <https://doi.org/10.1007/s10689-010-9345-6>
- 66) Surowy, H. M., Sutter, C., Mittnacht, M., Klaes, R., Schaefer, D., Evers, C & Burwinkel, B. (2014). Clinical and molecular characterization of the BRCA2 p.Asn3124Ile variant reveals

- substantial evidence for pathogenic significance. *Breast Cancer Research and Treatment*, 145(2), 451–460. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-2943-5>
- 67) Sweet, K., Senter, L., Pilarski, R., Wei, L & Toland, A. E. (2010). Characterization of BRCA1 ring finger variants of uncertain significance. *Breast Cancer Research and Treatment*, 119(3), 737–743. <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0438-6>
- 68) Thomassen, M., Blanco, A., Montagna, M., Hansen, T. V. O., Pedersen, I. S., Gutiérrez, E. S & Vega, A. (2012). Characterization of BRCA1 and BRCA2 splicing variants: A collaborative report by ENIGMA consortium members. *Breast Cancer Research and Treatment*, 132(3), 1009–1023. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1674-0>
- 69) Thompson, E. R., Goringe, K. L., Rowley, S. M., Li, N., McInerney, S., Wong, B. M. W & Campbell, I. G. (2015). Reevaluation of the BRCA2 truncating allele c.9976A>T (p.Lys3326Ter) in a familial breast cancer context. *Scientific Reports*, 5, 14800. <https://doi.org/10.1038/srep14800>
- 70) Tudini, E., Moghadasi, S., Parsons, M. T., van der Kolk, L., van den Ouweland, A. M. W., Niederacher, D & Lazaro, C. (2018). Substantial evidence for the clinical significance of missense variant BRCA1 c.5309G>T p.(Gly1770Val). *Breast Cancer Research and Treatment*, 172(2), 497–503. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4903-y>
- 71) Wappenschmidt, B., Becker, A. A., Hauke, J., Weber, U., Engert, S., Köhler, J & Schmutzler, R. K. (2012). Analysis of 30 Putative BRCA1 Splicing Mutations in Hereditary Breast and Ovarian Cancer Families Identifies Exonic Splice Site Mutations That Escape In Silico Prediction. *PLoS ONE*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050800>
- 72) Warren, C. R., Catts, Z. A. K & Farach, C. M. C. (2011). A new assay for functional screening of BRCA2 linker region mutations identifies variants that alter chemoresistance to cisplatin. *Experimental Cell Research*, 317(15), 2099–2109. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2011.06.010>
- 73) Whiley, P. J., Parsons, M. T., Leary, J., Tucker, K., Warwick, L., Dopita, B & Spurdle, A. B. (2014). Multifactorial likelihood assessment of BRCA1 and BRCA2 missense variants confirms that BRCA1:c.122A>G (p.His41Arg) is a pathogenic mutation. *PLoS One*, 9(1), e86836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086836>
- 74) Wong, B. M., McPhillips, M., Gleeson, M., Spigelman, A. D., Meldrum, C. J., Dooley, S & Scott, R. J. (2016). When is a mutation not a mutation: the case of the c.594-2A>C splice

- variant in a woman harbouring another BRCA1 mutation in trans. *Hereditary Cancer in Clinical Practice*, 14, 6. <https://doi.org/10.1186/s13053-015-0045-y>
- 75) Yang, C., Jairam, S., Amoroso, K. A., Robson, M. E., Walsh, M. F & Zhang, L. (2018). Characterization of a novel germline BRCA1 splice variant, c.5332+4delA. *Breast Cancer Research and Treatment*, 168(2), 543–550. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4595-8>
- 76) Zhang, H., Li, L., Wang, Y., Yin, C. C., Xie, Y., Liu, X & Wu, L. (2017). Functional analysis of BRCT missense mutations in BRCA1-mutated Chinese Han familial breast cancer. *Oncology Letters*, 14(5), 5839–5844. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.7003>
- 77) Zhang, L., Bacares, R., Boyar, S., Hudis, C., Nafa, K & Offit, K. (2009). cDNA analysis demonstrates that the BRCA2 intronic variant IVS4-12del5 is a deleterious mutation. *Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 663(1–2), 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.11.010>
- 78) Zhang, L., Chen, L., Bacares, R., Ruggeri, J. M., Somar, J., Kemel, Y & Offit, K. (2011). BRCA1 R71K missense mutation contributes to cancer predisposition by increasing alternative transcript levels. *Breast Cancer Research and Treatment*, 130(3), 1051–1056. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1732-7>
- 79) Zuntini, R., Cortesi, L., Calistri, D., Pippucci, T., Martelli, P. L., Casadio, R & Turchetti, D. (2017). BRCA1 p.His1673del is a pathogenic mutation associated with a predominant ovarian cancer phenotype. *Oncotarget*, 8(14), 22640–22648. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15151>