

Mnogie nowotwory pierwotne u kobiet nosicielek mutacji genu BRCA1 – dwa przypadki kliniczne

Multiple primary malignancies in BRCA1 mutation carriers – two clinical cases

Agnieszka Badora¹, Beata Kaleta¹, Elżbieta Nowara¹, Marlena Sikora-Jopek¹, Magdalena Budryk², Anna Smok-Ragankiewicz³

¹ Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej, Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, Polska

² Poradnia Genetyki Onkologicznej i Diagnostyki Molekularnej, Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, Polska

³ Zakład Patologii Nowotworów, Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, Polska

Streszczenie

Za większość przypadków dziedzicznego raka piersi i jajnika odpowiadają mutacje genów BRCA. Obecnie najskuteczniejszą metodą prewencji raka jajnika jest obustronne usunięcie przydatków, niegwarantujące jednak zahamowania rozwoju pierwotnego raka otrzewnej. Przedstawiono przypadki dwóch chorych, z dodatnim wywiadem rodzinnym, mutacją genu BRCA1, u których stwierdzono nowotwory metachroniczne.

U pierwszej chorej, której matka chorowała na nowotwór piersi i jajnika, w 2004 r. rozpoznano raka piersi lewej. Zastosowano operację oszczędzającą, uzupełniającą chemioterapię, radioterapię oraz immunoterapię trastuzumabem z uwagi na nadekspresję HER2. Ze względu na mutację genu BRCA1 u chorej wykonano operację profylaktycznego usunięcia macicy z przydatkami. Badanie histopatologiczne wykazało ognisko gruczolakoraka w obu jajnikach oraz w węźle chłonnym paraaortalnym. Zastosowano VI cykli chemioterapii: paklitaksel i karboplatyna. Nawrót raka jajnika stwierdzono trzy lata później. Chora otrzymała kolejnych V linii chemioterapii i zmarła w sierpniu 2011 r. z powodu progresji choroby.

Druga chora, 49-letnia, leczona od lipca 2003 r. z powodu raka piersi prawej – neoadjuwantowa chemioterapia, BCT, radioterapia. U chorej stwierdzono mutację genu BRCA1. Rok wcześniej usunięto macicę z przydatkami z powodu mięśniaków. Trzy z pięciu siostr kobiety chorowały na raka piersi i jajnika. Ojciec chorej zmarł z powodu raka jelita grubego. Chora pozostawała pod ścisłą kontrolą. Z powodu narastającego stężenia markera Ca-125 (od października 2004 r.) wykonano PET-TK, stwierdzając nowotworowe zajęcie otrzewnej. Badanie histopatologiczne materiału biopsyjnego wykazało gruczolakoraka otrzewnej, a ponowna ocena materiału z operacji usunięcia macicy z przydatkami, ognisko gruczolakoraka w jajniku prawym. Histopatolog wykluczył przerzut raka piersi i jednoznacznie określił odmienną morfologię zmian w otrzewnej od zmiany w jajniku.

Adres do korespondencji:

Agnieszka Badora
Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej, Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach
Polska, 44-101 Gliwice, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15
e-mail: agnieszka.k.badora@gmail.com
tel: 664064708

Otrzymano: 02.01.2013
Zaakceptowano do druku: 10.06.2013

Agnieszka Badora, et al. *Mnogie nowotwory pierwotne u kobiet nosicielek mutacji genu BRCA1 – dwa przypadki kliniczne.*

U chorej rozpoznano trzy niezależne nowotwory. Zastosowano chemioterapię: cisplatyna i paklitaksel. Następnie, z powodu progresji choroby, zastosowano V kolejnych linii chemioterapii oraz hormonoterapię. Chora zmarła w styczniu 2008 r.

**Słowa kluczowe: dziedziczny rak piersi i jajnika / gen BRCA1 / gen BRCA2 /
/ profilaktyczne usunięcie narządu rodne /**

Abstract

Mutations of BRCA1 and BRCA2 genes account for the majority of hereditary breast and ovarian cancers. So far, risk-reducing salpingo-oophorectomy has been the most effective strategy for gynecological cancer prevention in susceptibility gene mutation carriers. It does not prevent, however, from the occurrence of primary peritoneal cancer. We present two clinical cases of patients with the BRCA1 gene mutation. Both patients had a family history of cancer and both were presenting with metachronic malignances.

The first patient, whose mother suffered from breast and ovarian cancer, was diagnosed with left breast cancer in 2004. The patient was 44 years old at diagnosis. Genetic testing revealed the BRCA1 gene mutation. A breast conserving therapy (BCT) was conducted, followed by chemotherapy, radiotherapy and immunotherapy with trastuzumab due to HER2 overexpression. Due to BRCA1 mutation, in November 2005, prophylactic hysterectomy with appendages was performed. Histological examination revealed bilateral ovarian cancer (adenocarcinoma G3) with metastasis to the paraaortal lymph node. The patient received six cycles of chemotherapy: paclitaxel and carboplatin. Ovarian cancer relapsed 3 years later. After that the patient received 5 lines of chemotherapy and finally died due to disease progression in September 2011.

The second patient, a 49-year-old woman, was diagnosed with breast cancer in July 2003 and subsequently treated with neoadjuvant chemotherapy, breast conserving surgery and radiotherapy. Genetic testing was also performed and revealed the BRCA1 gene mutation. A year earlier the patient had undergone hysterectomy with appendages due to uterine myomas. Three of her five sisters suffered from breast and ovarian cancer. The patient's father died of colorectal cancer. The patient remained under surveillance. Because of the increasing level of Ca-125 (since October 2004), PET-CT was performed and revealed a tumor lesion of the peritoneum. Histological examination from the biopsy confirmed primary peritoneal cancer (papillary serous adenocarcinoma – primary peritoneal carcinoma). Reexamination of the tissues from hysterectomy with appendages was also performed and revealed an adenocarcinoma in the right ovary. Pathologic examination excluded metastasis of a breast cancer. Pathomorphology of the ovarian lesion was also different than in the lesions of the peritoneum. Thus, three different tumor types (breast, ovarian and peritoneal cancer) coexisted independently. The patient received chemotherapy: paclitaxel and cisplatin. Later on, due to disease progression she was treated with five consecutive chemotherapy regimens and hormonal therapy. The patient died in January 2008.

These case illustrate that genetic diagnosis may be critical for the overall treatment plan.

**Key words: hereditary breast and ovarian cancer / BRCA1 / BRCA2 /
/ prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy /**

Wstęp

Spośród wszystkich nowotworów nabłonkowych jajnika około 10-13% stanowią przypadki o podłożu dziedzicznym związanym z germinalnymi mutacjami o wysokiej penetracji określone jako zespół dziedzicznego raka piersi i jajnika [1-5]. Badania genetyczne mające na celu wykrycie mutacji genów BRCA są często wykorzystywane na całym świecie, a kobietom u których stwierdzono mutację proponowana jest odpowiednia profilaktyka [6-8]. Obecnie za najskuteczniejszą metodę prewencji raka jajnika uważane jest obustronne usunięcie przydatków, które nie gwarantuje jednak zahamowania rozwoju pierwotnego raka otrzewnej [9].

W pracy przedstawiono przypadki dwóch chorych, u których na podstawie badań genetycznych stwierdzono mutację genu BRCA1.

Przypadek I

U 44-letniej chorej, regularnie miesiączkującej, w dniu 20.10.2004 r. z powodu raka przeprowadzono operację oszczędzającą lewą pierś z biopsją węzła wartownika. Badanie mikroskopowe materiału pooperacyjnego wykazało obecność naciekającego raka przewodowego w stopniu zróżnicowania G3, ER (+), PgR (+), HER2 (+++).

Stopień zaawansowania nowotworu ustalono jako T2N0M0. Po operacji zastosowano uzupełniającą chemioterapię zawierającą antracykliny, radioterapię i immunoterapię trastuzumabem. Ze względu na fakt, iż u matki chorej rozpoznano wcześniej raka piersi i jajnika wykonano badania genetyczne, które wykazały obecność mutacji genu BRCA1 u obu kobiet. Z tego powodu, oraz przed planowaną hormonoterapią tamoksifenem, chorej zaproponowano operację profilaktycznego usunięcia narządu

Agnieszka Badora, et al. *Mnogie nowotwory pierwotne u kobiet nosicielek mutacji genu BRCA1 – dwa przypadki kliniczne.*

rodnego, którą wykonano dnia 17.11.2005 r. W czasie zabiegu usunięto także powiększony węzeł chłonny paraaortalny. Badanie mikroskopowe materiału pooperacyjnego wykazało gruczolakoraka jajników (adenocarcinoma G3), z przerzutem do węzła chłonnego paraaortalnego. Stopień zaawansowania nowotworu wg klasyfikacji FIGO ustalono jako IIIC. Chora została poddana sześciu cyklom chemioterapii wg schematu paklitaksel i karboplatyna. Po zakończeniu leczenia systemowego chora pozostawała w regularnych kontrolach. Wcześniej planowanej hormonoterapii nie włączono. W lutym 2008 r. wykonano zabieg operacyjny częściowego usunięcia esicy z powodu guza. Badanie mikroskopowe materiału pooperacyjnego wykazało obecność raka gruczolowego o charakterze przerzutu z jajnika. Podjęto leczenie systemowe II linii, do grudnia 2008 r. chora otrzymała VI cykli chemioterapii zawierającej karboplatynę i gemcytabinę. W lipcu 2009 r. chora po raz pierwszy zgłosiła się do Kliniki Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej Centrum Onkologii-Institutu im. M. Skłodowskiej-Curie w Gliwicach. Z powodu wznowy miejscowej procesu nowotworowego z rozsiewem do krezki jelita i węzłów chłonnych, z towarzyszącym wzrostem stężenia markera Ca-125 zastosowano wówczas paklitaksel w rytmie co 7 dni. Leczenie prowadzono przez 8 miesięcy uzyskując częściową regresję zmian nowotworowych, z powikłań obserwowano jedynie polineuropatię w stopniu G2. Po 3 miesiącach od zakończenia leczenia ponownie doszło do progresji nowotworu. Zdecydowano o włączeniu leczenia z ponownym wykorzystaniem karboplatyny. Do listopada 2010 r. podano VII cykli, a badania obrazowe wskazywały na częściową regresję ognisk nowotworowych. W lutym 2011 r. doszło do ponownej progresji choroby powodującej prawostronne wodonercze wymagające założenia sondy D-J na drodze ureteroendoskopowej. Ponownie podjęto leczenie chemiczne, liposomalną doksorubicyną, jednak dalszy wzrost guza miednicy mniejszej doprowadził do niedrożności przewodu pokarmowego. Dnia 16.05.2011 r. wyłoniono ileostomię. Brak cech przetrwałej toksyczności po poprzednim leczeniu, dobry stan ogólny chorej po zabiegu oraz jej determinacja stanowiły wskazanie do podjęcia kolejnej linii terapii w oparciu o gemcytabinę. Leczenie zakończono po II cyklach z powodu progresji choroby. Osiem tygodni później nastąpił zgon chorej.

Przypadek II

U 49-letniej chorej w 2002 r. wykonano operację usunięcia narządu rodowego z powodu mięśniaków macicy. Rozpoznanie potwierdzono histopatologicznie, nie znaleziono ognisk nowotworowych. W lipcu 2003 r. zgłosiła się do Kliniki Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej Centrum Onkologii-Institutu im. M. Skłodowskiej-Curie w Gliwicach z powodu guza prawej piersi, którego charakter złośliwy potwierdzono w badaniu cytologicznym (*cellulae carcinomatosae*, ER (-), PgR(-)).

Na podstawie badania klinicznego i badań obrazowych ustalono stopień zaawansowania raka piersi jako T2N0M0. Po leczeniu neoadjuwantowym według schematu CAF, w dniu 30.01.2004 r., wykonano szerokie wycięcie guza prawej piersi z radioterapią śródoperacyjną, usunięto również węzły chłonne dołu pachowego prawego. Badanie histopatologiczne materiału pooperacyjnego wykazało całkowitą regresję nowotworu. Chora została poddana pooperacyjnej radioterapii do dawki całkowitej 50 Gy. Następnie pozostawała w regularnych kontrolach. Ponadto, po analizie rodowodowej – rak piersi u siostry, u dwóch sióstr

rak jajnika, chorą włączono do „Programu opieki nad rodzinami wysokiego, dziedzicznie uwarunkowanego ryzyka zachorowania na nowotwory złośliwe”. Należy dodać, iż matka kobiety nie chorowała na żaden nowotwór, natomiast ojciec zmarł z powodu raka jelita grubego. Badanie genetyczne u chorej potwierdziło mutację genu BRCA1. W październiku 2004 r., ze względu na stopniowe narastanie stężenia markera Ca-125, przeprowadzono diagnostykę obrazową: TK jamy brzusznej i miednicy mniejszej, a następnie PET-TK, w którym stwierdzono wielogniskowe, nowotworowe zajęcie otrzewnej. Z tego powodu, w lutym 2005 r., wykonano laparoskopową biopsję otrzewnej. Badanie histopatologiczne wykazało obecność gruczolakoraka brodawkowatego surowiczego – pierwotnego raka otrzewnej (*adenocarcinoma papillare serosum – primary peritoneal carcinoma*). Przeprowadzono ponowną ocenę preparatów z operacji usunięcia macicy z przydatkami. W obrębie jajnika prawego odnaleziono ognisko gruczolakoraka (bez określenia podtypu) wielkości 0,2 cm. Wykluczono przerzut raka piersi. Podkreślono również wyraźnie, iż morfologia zmian otrzewnej jest odmienna od zmiany stwierdzonej w jajniku prawym.

Wobec powyższego u chorej rozpoznano trzy niezależne nowotwory: rak piersi prawej, rak jajnika oraz pierwotny rak otrzewnej. Dnia 5.03.2005 r. chora rozpoczęła leczenie systemowe w oparciu o paklitaksel i cisplatinę, otrzymała VI cykli (do lipca 2005 r.), uzyskując częściową regresję zmian nowotworowych. W styczniu 2006 r. ze względu na progresję choroby i wynikające z niej objawy kliniczne włączono II linię monochemioterapii topotekaniem. Ponownie uzyskano częściową regresję zmian oraz poprawę stanu ogólnego chorej, jednak 4 miesiące później z powodu gwałtownego przyrostu wolnego płynu w jamie brzusznej zastosowano kolejną linię leczenia w oparciu o karboplatynę i liposomalną doksorubicynę, obserwując progresję choroby już po II cyklu. Kolejne próby leczenia systemowego (gemcytabina, paklitaksel, etopozyd), jak również hormonoterapia z wykorzystaniem tamoksifenu nie przyniosły istotnego efektu. Obserwowano jedynie krótkotrwałą poprawę stanu ogólnego chorej i złagodzenie objawów związanych z wodobrzuszem. Leczenie systemowe ostatecznie zakończono w październiku 2007 r. Chora zmarła 5.01.2008 r.

Dyskusja

Mutacje genów BRCA1 oraz BRCA2 uniemożliwiają prawidłową naprawę złamań dwułańcuchowych chromosomu poprzez rekombinację homologiczną, co z kolei prowadzi do podatnej na błąd naprawy uszkodzeń genomu [1]. Powstałe w wyniku takiej naprawy nieprawidłowe rearanżacje genów zazwyczaj prowadzą do śmierci komórki na drodze apoptozy [1, 2]. Zdarza się jednak, że zmutowana komórka nie ulega apoptozie i staje się podstawą do wyróżnienia klonu komórek zdolnych do niekontrolowanego podziału, inwazji okolicznych tkanek oraz przerzutowania, a więc do rozwoju nowotworu złośliwego. Mutacje genów supresorowych BRCA1 oraz BRCA2 są odpowiedzialne za rozwój większości przypadków dziedzicznego raka piersi i jajnika. Od momentu odkrycia tych genów (BRCA1 w 1994 roku, BRCA2 w roku 1995), badania genetyczne w kierunku wykrycia ich mutacji są szeroko stosowane w ośrodkach onkologicznych na całym świecie [6-8]. Do oceny prawdopodobieństwa nosicielstwa mutacji genu BRCA stosuje się różnorakie programy komputerowe, a do badań genetycznych kwalifikowane są osoby, u których

Agnieszka Badora, et al. *Mnogie nowotwory pierwotne u kobiet nosicielek mutacji genu BRCA1 – dwa przypadki kliniczne.*

prawdopodobieństwo wystąpienia mutacji oszacowano na poziomie 10% [9-11].

Wśród kobiet w kategoriach bardzo wysokiego ryzyka zachorowania na raka piersi i/lub jajnika, a więc u nosicielek mutacji genu BRCA, prowadzone są częste badania kontrolne oraz profilaktyka pierwotna w postaci amputacji piersi w wieku 40-50 lat oraz obustronnego usunięcia przydatków w wieku 35-40 lat (zależnie od kryterium najmłodszego wieku zachorowania na raka jajnika w rodzinie lub po zakończeniu okresu rozrodczego) [12-16]. Obustronne usunięcie przydatków jest jak dotąd najskuteczniejszą metodą prewencji raka jajnika, chroni również przed wystąpieniem raka piersi (redukcja ryzyka o około 60%) [17]. Operacja ta nie gwarantuje jednak zahamowania rozwoju pierwotnego raka otrzewnej, co potwierdzają doniesienia z literatury światowej oraz opisany przypadek drugiej chorej [18-21]. Spowodowana operacją przedwczesna menopauza wymaga krótkotrwałej hormonalnej terapii zastępczej, według badań pozostającej bez wpływu na ryzyko zachorowania na raka piersi [13, 15, 16]. Zarówno indukowany mutacją genu BRCA rak piersi jak i jajnika charakteryzuje się specyficznymi cechami w przebiegu klinicznym oraz badaniu histopatologicznym w porównaniu do raków sporadycznych. Większość raków piersi związanych z mutacją genu BRCA1 to raki przewodowe, charakteryzujące się wysokim stopniem histologicznej złośliwości oraz częstym naciekaniami naczyń limfatycznych. Nowotwór ten występuje częściej u młodych chorych i zazwyczaj jest to rak „potrójnie negatywny” – ER (-), PgR (-), HER2 (-) [22, 23]. Istnieje pewna odmienność we wrażliwości na chemioterapię, dziedziczny rak piersi jest szczególnie wrażliwy na leki powodujące złamanie DNA, jak pochodne platyny czy mitomycyna C [24-25].

Dziedziczny raka jajnika jest wprawdzie gorzej zróżnicowany (high-grade) od raków sporadycznych, jednak u chorych z opisywaną mutacją genu BRCA obserwujemy dłuższe przeżycia całkowite [26]. Badania prowadzone nad tym zagadnieniem wykazały, iż zależność ta dotyczy konkretnie raków jajnika u chorych z mutacją genu BRCA2, ale nie BRCA1. Mutacja genu BRCA2 wiąże się także ze znamienym wydłużeniem przeżycia wolnego od progresji oraz większą wrażliwością na pochodne platyny w porównaniu do chorych z rozpoznaniem rakiem sporadycznym [27, 28]. Określenie platynowrażliwości jest istotne w aspekcie leczenia nawrotów raka jajnika, bowiem u chorych częściowo platynowrażliwych oraz platynowrażliwych, można ponownie zastosować pochodne platyny z dobrym efektem, co obserwowaliśmy u pierwszej chorej [29]. Wykonano u niej operację profilaktycznego usunięcia narządu rodowego, natomiast u drugiej chorej narząd rodny został usunięty z powodu zmian łagodnych. Zwraca uwagę fakt, iż w przypadku obu kobiet doszło do wyleczenia raka piersi, który został rozpoznany jako pierwszy. W przedstawionych przypadkach zarówno nowotwór jajników jak i otrzewnej przebiegał agresywnie, a kolejne linie leczenia systemowego zapewniały jedynie krótkotrwałe remisje. Mimo to u pierwszej chorej czas przeżycia od chwili rozpoznania raka jajnika do śmierci wynosił 6 lat, a u drugiej chorej od momentu rozpoznania pierwotnego raka otrzewnej do śmierci – 4 lata. W populacji ogólnej chorych na raka jajnika w przypadku III stopnia zaawansowania wg FIGO i niewielkich zmianach resztkowych po leczeniu operacyjnym 5 lat przeżywa 30-50% kobiet [30].

Leczenie systemowe dziedzicznego raka jajnika nie różni się od leczenia nowotworu sporadycznego [31]. Trwają badania nad

terapią celowaną z wykorzystaniem inhibitorów Poli-ADP-rybozy (PARP-inhibitory). Zaburzają one procesy naprawcze DNA, co w przypadku współistnienia mutacji genu BRCA prowadzi do śmierci komórki [32, 33]. Wstępne wyniki badań są obiecujące, a leki będą być może wykorzystane w przyszłości również w chemioprewencji oraz leczeniu dziedzicznego raka piersi [33, 34]. Podnoszona jest też kwestia zastosowania inhibitorów PARP w sporadycznych nowotworach piersi i jajnika z mutacjami inaktywującymi gen BRCA, jak hipermetylacja promotora BRCA1 czy utrata heterozygotyczności (LOH) loci BRCA1 i/ lub BRCA2. Wymienione zmiany w przyszłości mogą stanowić istotny biomarker prognostyczny, pomocny przy ocenie rokowania oraz wyborze metody leczenia [33, 34].

Oświadczenie autorów:

1. Agnieszka Badora - autor koncepcji i założeń pracy, analizy i interpretacji wyników, przygotowanie, korekta i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu – autor zgłaszający – odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Beata Kaleta – autor koncepcji i założeń pracy, analizy i interpretacji wyników, przygotowanie, korekta i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu.
3. Elżbieta Nowara – autor koncepcji i założeń pracy, analizy i interpretacji wyników, przygotowanie, korekta i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu – autor zgłaszający – odpowiedzialny za manuskrypt.
4. Marlena Sikora-Jopek – autor założeń pracy, analizy i interpretacji wyników, przygotowanie, korekta i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu – autor zgłaszający – odpowiedzialny za manuskrypt.
5. Magdalena Budryk – przygotowanie, korekta i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu.
6. Anna Smok-Ragankiewicz – przygotowanie, korekta i akceptacja ostatecznego kształtu manuskryptu.

Praca nie była finansowana przez żadną instytucję naukowo-badawczą, stowarzyszenie ani inny podmiot, autorzy nie otrzymali żadnego grantu.

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

Piśmiennictwo

1. Welsh P, King M. BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer. *Hum Mol Genet.* 2001, 10, 705-713.
2. Haber D. Roads leading to breast cancer. *N Eng J Med.* 2000, 343, 1566-1568.
3. Bertram J. The molecular biology of cancer. *Mol Aspects Med.* 2001, 21, 167-223.
4. Brożek I, Limon J. Poradnictwo genetyczne w dziedzicznym raku piersi. W: Rak piersi. Praktyczny przewodnik dla lekarzy. Red. Jassem J, Krzakowski M. Gdańsk: *Via Medicaca.* 2009, 20-23.
5. Levy-Lahad E, Friedmann E. Cancer risk among BRCA1 and BRCA2 mutations carriers. *Br J Cancer.* 2007, 96, 11-15.
6. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, [et al.]. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science.* 1994, 266, 66-71.
7. Mazoyer S, Dunning A, Serova O, [et al.]. A polymorphic stop codon in BRCA2. *Nat Genet.* 1996, 14, 253-254.
8. Narod S, Foulkes W. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nat Rev Cancer.* 2004, 4, 665-676.
9. Finch A, Beiner M, Lubinski J, [et al.]. Salpingo-oophorectomy and the risk of ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancers in women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *JAMA.* 2006, 296, 185-192.
10. Antoniou A, Hardy R, Walker L, [et al.]. Predicting the likelihood of carrying BRCA1 or BRCA2 mutation: validation of BOADICEA, BRCAPRO, IBIS, Myriad and Manchester scoring system using data from UK genetics clinics. *J Med Genet.* 2008, 45, 425-431.