



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Aplicabilidade Clínica de Painéis Multigénicos de Suscetibilidade ao Cancro

José António Oliveira Monteiro da Costa

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Doutor José Alberto Fonseca Moutinho

Covilhã, junho de 2019

Dedicatória

Ao António de Oliveira.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor José Alberto Fonseca Moutinho, pela sua disponibilidade, prontidão, profissionalismo e crítica construtiva durante a elaboração desta dissertação.

Ao meu pai e à minha mãe, pela educação e valores que me inculcaram, e por terem feito de mim uma prioridade constante nas suas vidas.

À minha irmã, por todos os momentos de partilha.

Aos meus avós, pelo orgulho que sempre tiveram em mim.

À minha restante família, pelo carinho com que sempre me trataram.

Ao André Pires, à Marta Costa, à Marta Natário, à Raquel Oliveira e à Sofia Costa pela amizade de sempre, e por terem estado sempre ao meu lado.

Aos meus amigos de faculdade, por terem sido os melhores companheiros neste percurso.

À Universidade da Beira Interior, à Faculdade de Ciências da Saúde e a todos os que contribuíram para a minha formação, pelos ensinamentos, dedicação e disponibilidade.

Resumo

Introdução: O modelo de avaliação de risco de câncer utiliza uma abordagem passo a passo, juntando a história pessoal e familiar para selecionar os indivíduos a quem são disponibilizados os testes genéticos. A escolha dos genes a serem testados é feita com base na associação do fenótipo apresentado e das mutações conhecidas associadas a esse mesmo fenótipo. A técnica *next-generation sequencing* diminuiu significativamente o custo da sequenciação de DNA, tornando assim possível sequenciar múltiplos genes a um custo bastante mais baixo. Com estes avanços tecnológicos foi possível a criação de painéis multigênicos que testam em simultâneo múltiplos genes. Atualmente existem vários tipos de painéis multigênicos de susceptibilidade ao câncer disponíveis no mercado. Estes avanços científicos colocaram o aconselhamento genético de síndromes de câncer hereditário no meio de uma grande mudança.

Objectivos: Entender a evidência científica atual sobre a aplicabilidade clínica dos painéis multigênicos de susceptibilidade ao câncer, conhecer os benefícios e as limitações do uso destes painéis nos vários tipos de câncer e refletir sobre as suas perspetivas futuras.

Metodologia: Foi feita uma pesquisa bibliográfica de artigos científicos e de revisão entre os meses de novembro de 2018 e março de 2019, na base de dados PubMed com as seguintes palavras-chave: “*panel testing*”, “*hereditary cancer*”, “*next generation sequencing*”, “*genetic testing*”, “*cancer genetics*” e “*multigene panels*”. A pesquisa foi restringida a literatura publicada na língua inglesa nos últimos 5 anos e foram selecionados os artigos que tinham aparentemente relevância para o tema com base no título e resumo.

Resultados: Os PM de susceptibilidade ao câncer parecem ter utilidade para o esclarecimento do risco genético em vários contextos clínicos. As principais preocupações relativamente a estes painéis são o impacto que a deteção de variantes de significado indeterminado pode causar, a complexidade das interpretações das mutações em genes com penetrância moderada, os achados inesperados em genes de alta penetrância e a falta de recomendações consensuais em alguns contextos.

Conclusão: Os PM de susceptibilidade ao câncer parecem ter potencial para no futuro se tornarem importantes na avaliação do risco genético de câncer, na tomada de decisões terapêuticas e na adoção de estratégias preventivas. No entanto, é fundamental que sejam efectuados mais estudos nesta área com os objetivos de definir melhor a prevalência e o risco associado a certas mutações, melhorar e uniformizar a classificação das variantes genéticas e elaborar recomendações que reúnam consenso na comunidade científica.

Palavras-chave

Cancro hereditário, painéis multigénicos, testes genéticos.

Abstract

Introduction: The cancer risk assessment model uses a step-by-step approach, joining the personal and family history to select the individuals to whom the genetic thesis is available.

The choice of the genes to be tested is made based on the association of the presented phenotype and on the known associated mutations of that same phenotype.

The next-generation sequencing technic significantly diminishes the cost of DNA sequencing, making it possible to sequence multiple genes at a much lower cost.

With these technological advances, the creation of multigene panels, which test in multiple genes simultaneously, was made possible.

Currently, there are multiple types of multigene panels of cancer susceptibility available in the market.

These scientific advances put the genetic counseling of hereditary cancer syndromes in the middle of a great change.

Objectives: Understand the current scientific evidence about the clinical applicability of the multigene panels of cancer susceptibility, know the benefits and usage limitations of these panels in the multiple types of cancer and reflect about their future perspectives.

Methodology: A bibliographic research of scientific articles and magazines was made, between the months of November 2018 and March 2019, in the PubMed database with the following keywords: "panel testing", "hereditary cancer", "next generation sequencing", "genetic testing", "cancer genetics", "multigene panels". The research was limited to literature published in the english language in the last 5 years and the articles were selected according to its apparent relevance to the theme based on their title and abstract.

Results: The multigene panels of cancer susceptibility seem to be of use to the clarification of the genetic risk in multiple clinical contexts. The main concerns about these panels are the impact that the detection of variants of uncertain significance may cause, the complexity of the interpretations of the moderate penetration gene mutations, the unexpected findings on high penetration genes and the lack of consensual recommendations in some contexts.

Conclusion: The multigene panels of cancer susceptibility seem to have future potential to become important in the genetic risk of cancer, in the therapeutic decision making and in the adoption of preventive strategies. However, it is fundamental that more studies in this area are made. With the objective of better defining the prevalence and associated risk of certain mutations, improve and standardize the classification of genetic variants and elaborate recommendations which gather the consensus of the scientific community.

Keywords

Hereditary cancer, multigene panels, genetic testing.

Índice

Dedicatória.....	ii
Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Palavras-chave	v
Abstract	vi
Keywords	vii
Índice	viii
Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Acrónimos e Siglas	x
1. Introdução	1
2. Objetivos.....	3
3. Materiais e Metodologia	4
4. Resultados	5
4.1. Identificar em que situações os PM de suscetibilidade ao cancro poderão ter utilidade 5	
4.2. Caracterização dos genes de suscetibilidade ao cancro relativamente à sua penetrância e risco de cancro associado.....	6
4.3. Analisar a aplicabilidade clínica dos PM de suscetibilidade ao cancro em diferentes tipos de cancro	9
4.3.1. Cancro colorretal	9
4.3.2. Cancro da mama e/ou ovário	12
4.3.3. Cancro da próstata	16
4.3.4. Cancro do pâncreas.....	18
4.4. Entender como devem ser interpretadas as mutações em genes de penetrância moderada	19
4.5. Perceber qual o impacto da deteção de variantes de significado indeterminado (VSI) 20	
4.6. Compreender como devem ser geridos resultados inesperados em genes de alta penetrância.....	21
5. Discussão	23
6. Conclusão - Perspetivas futuras.....	25
Referências Bibliográficas	26

Lista de Tabelas

Tabela 1. Risco e espectro de cânceros associados a mutações em diferentes genes	7
Tabela 2. Genes associados a SCH	8

Lista de Acrónimos e Siglas

ACDP	Adenocarcinoma ductal do pâncreas
ACS	<i>American Cancer Society</i>
ASCO	<i>American Society of Clinical Oncology</i>
CCR	Cancro Colorretal
CPF	Cancro Pancreático Familiar
CPM	Cancro da próstata metastizado
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
JPS	Síndrome polipose juvenil
MMR	Reparação de DNA
NGS	Next generation sequencing
PAF	Polipose adenomatosa familiar
PAM	Polipose associada ao MUTYH
PM	Painéis multigénicos
SCH	Síndrome de cancro hereditário
VSI	Variantes de significado indeterminado

1. Introdução

O modelo de avaliação de risco de cancro utiliza uma abordagem passo a passo, juntando a história pessoal e familiar para selecionar os indivíduos a quem são disponibilizados os testes genéticos. Os testes genéticos envolvem a sequenciação de Sanger de um número limitado de genes, geralmente um. Se o doente tiver a mutação são testados os familiares, caso contrário não o são. A escolha dos genes a serem testados é feita com base na associação do fenótipo apresentado e das mutações conhecidas associadas a esse mesmo fenótipo. Os genes com maior probabilidade de estarem mutados são sequenciados em primeiro lugar; quando o teste inicial é negativo ou inconclusivo, são sequenciados outros genes de alta penetrância que também se relacionem com o fenótipo. Esta abordagem para além de dispendiosa pode prolongar-se no tempo e levar os pacientes a desistirem do processo antes de ser identificada qualquer mutação.(1,2) No entanto, existem situações em que há um elevado risco de cancro de origem genética, mas o teste é negativo ou não se enquadra no risco característico de mutação de um gene específico. Nestes casos, os painéis multigênicos (PM) de suscetibilidade ao cancro poderão ter utilidade.

A técnica *next-generation sequencing* (NGS) transformou o cenário dos testes genéticos de suscetibilidade ao cancro. O custo da sequenciação de DNA diminuiu significativamente com o uso da NGS, tornando assim possível sequenciar múltiplos genes a um custo inferior, comparado com a sequenciação de um ou dois genes pelas técnicas utilizadas anteriormente. Com estes avanços tecnológicos foi possível a criação de painéis multigênicos (PM) que testam em simultâneos múltiplos genes, e que são uma área científica em rápido desenvolvimento.(1-3)

Existem vários tipos de PM de suscetibilidade a cancro, uma vez que qualquer gene pode ser incluído num destes painéis disponíveis comercialmente. Estes PM variam no número de genes que incluem, e nos tipos de cancro que avaliam. Os painéis podem incluir genes específicos para determinados tipos de cancro ou sistemas de órgãos, ou múltiplos genes associados a um risco aumentado de síndromes de cancro pleiotrópico. Alguns painéis já se encontram estabelecidos por laboratórios, e existe também a possibilidade de serem personalizados. Estes painéis incluem genes de penetrância alta e moderada.(1)

Os fatores mais importantes a ter em conta relativamente aos PM de suscetibilidade ao cancro são: a sua validade clínica, a associação entre mutações em genes específicos e o risco de desenvolver um ou mais tipos de cancro; e a sua aplicabilidade clínica, a demonstração de melhores *outcomes* nos pacientes que se submetem a estes testes.

Se por um lado, há evidências significativas que apoiam associações bem quantificadas entre mutações em alguns genes de alta penetrância e um risco aumentado de desenvolvimento de cancros associados a estas mesmas mutações, por outro lado, o risco de cancro associado a mutações em genes de penetrância baixa e moderada ainda não é bem claro, e a sua validade e aplicabilidade clínica é controversa.(4)

O aconselhamento genético, e o diálogo entre o médico e o paciente que se vai submeter a um PM é fundamental.

As novas tecnologias de sequenciação genética, com a consequente criação de PM de suscetibilidade ao cancro, colocaram o aconselhamento genético de síndromes de cancro hereditário (SCH) no meio de uma grande mudança.(2)

2. Objetivos

- Identificar em que situações os PM de suscetibilidade ao câncer poderão ter utilidade;
- Caracterizar os genes de suscetibilidade ao câncer relativamente à sua penetrância e risco de câncer associado;
- Analisar a aplicabilidade clínica dos PM de suscetibilidade ao câncer em diferentes tipos de câncer;
- Entender como devem ser interpretadas as mutações em genes de penetrância moderada;
- Perceber qual o impacto da detecção de variantes de significado indeterminado (VSI);
- Compreender como devem ser geridos resultados inesperados em genes de alta penetrância.

3. Materiais e Metodologia

Foi feita uma pesquisa bibliográfica de artigos científicos e de revisão entre os meses de novembro de 2018 e março de 2019, na base dados PubMed com as seguintes palavras-chave: “*panel testing*”, “*hereditary câncer*”, “*next generation sequencing*”, “*genetic testing*”, “*cancer genetics*” e “*multigene panels*”. A pesquisa foi restringida a literatura publicada na língua inglesa nos últimos cinco anos e foram selecionados os artigos que tinham aparentemente relevância para o tema, com base no título e resumo.

Foram também analisadas as listas de referências bibliográficas dos artigos previamente analisados, de modo a selecionar aqueles com maior relevância para estudo.

Da análise dos artigos considerados, foi elaborada uma revisão descritiva da literatura.

4. Resultados

4.1. Identificar em que situações os PM de suscetibilidade ao cancro poderão ter utilidade

Os PM de suscetibilidade ao cancro poderão ter utilidade para o esclarecimento do risco genético em vários contextos clínicos, como: em síndromes em que exista uma sobreposição dos seus fenótipos; em situações em que existam apresentações atípicas; quando a história familiar não é conhecida; na avaliação de indivíduos que obtiveram um resultado negativo para mutações em genes de alta penetrância e que têm história familiar muito sugestiva de SCH; pacientes com diagnósticos de cancro em idade muito precoce e que são consistentes com SCH; pacientes com cancros raros como o cancro da mama no homem ou pacientes com história pessoal de múltiplas neoplasias primárias.(1)

A realização de testes genéticos que não sejam dirigidos a um fenótipo pode criar incerteza em torno da interpretação de mutações patogénicas, nomeadamente no caso de mutações em genes de alta penetrância que não estão associadas com o fenótipo apresentado pelo paciente e pela sua família. (1)

A *American Society of Clinical Oncology* (ASCO) emitiu uma declaração sobre os PM de suscetibilidade ao cancro, em que apoia apenas a avaliação de genes com utilidade clínica estabelecida pela história pessoal e familiar do paciente. Recomenda esta mesma associação que os especialistas na avaliação do risco de cancro estejam envolvidos na seleção dos genes que integram os painéis e na interpretação de painéis que incluam genes com utilidade clínica incerta ou que não sejam sugeridos pela história pessoal e familiar do paciente.(5)

4.2. Caracterização dos genes de suscetibilidade ao cancro relativamente à sua penetrância e risco de cancro associado

A penetrância de um gene é definida através da percentagem de indivíduos com um determinado genótipo que exibem o fenótipo associado. A penetrância dos genes de suscetibilidade ao cancro são um fator importante, para calcularmos o risco de os indivíduos portadores de mutações nestes genes virem a desenvolver um determinado cancro.(6)

Os PM de susceptibilidade ao cancro incorporam vários genes de alta penetrância, mas também alguns de penetrância moderada ou baixa. A caracterização destes genes varia bastante, existindo alguns cujo risco de cancro associado poderá ser baixo ou pouco claro.(7)

Os PM dão origem a uma enorme quantidade de dados genómicos que têm importância para aumentar o conhecimento existente em relação aos riscos conferidos pelas mutações nos diferentes genes. (1)

A atribuição de um risco de cancro a mutações genéticas é um desafio, devido à falta de dados e à baixa prevalência das mesmas, o que leva a incerteza relativamente à capacidade de ação e gestão ideal para o paciente.(4)

Qualquer gene independentemente da evidência existente que associe uma mutação a um fenótipo, pode ser incluído num painel e dar origem a um resultado que será reportado ao paciente. Com o aumento do número de mutações identificadas em genes, os dados necessários para orientar a interpretação das mesmas e aplicar estratégias com estes resultados é reduzido, gerando alguma incerteza.(1) A tabela 1 apresenta o espectro de cancros associado a mutações em 25 genes, os mais utilizados nos PM de suscetibilidade ao cancro, assim como o risco que os portadores destas mutações têm de desenvolver cancro ao longo da vida. Os riscos calculados por publicações anteriores foram usados para categorizar os genes relativamente à sua penetrância.(7)

Alguns dos genes incluídos nestes PM de susceptibilidade ao cancro e abordados anteriormente têm associações estabelecidas com SCH.

Os SCH são classicamente caracterizados por um aumento marcado do risco de desenvolver cancro ao longo da vida devido a mutações herdadas em determinados genes, tipicamente em idades mais jovens. A identificação de indivíduos com predisposição hereditária ao cancro tem um grande impacto no aconselhamento dos pacientes afetados e dos seus familiares, incluindo no tipo de vigilância e potências medidas preventivas, podendo assim permitir uma redução na incidência do cancro e na mortalidade destes pacientes.(8) Essas associações baseadas em estudos prévios estão representadas na tabela 2.(7)

Tabela 1. Risco e espectro de câncros associados a mutações em diferentes genes. (7)

Gene	Espectro de câncros associados	Risco de câncer estimado ao longo da vida
Penetrância alta		
<i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM</i>	Colorretal, endométrio, ovário, gástrico, urotelial, pâncreas	CCR, 22%-74%; câncer do endométrio, 3%-22%; câncer gástrico, até 13%; câncer do urotélio até 25%; o risco de câncer poderá ser menor para portadores de mutações no gene <i>PMS2</i>
<i>APC</i>	Colorretal, intestino delgado	CCR, até 100% sem colectomia
<i>MUTYH</i> (bialélico)	Colorretal, duodeno	CCR, 43%-100% sem colectomia
<i>BMPR1A, SMAD4</i>	Gástrico, colorretal	CCR, 38%-68%; câncer gástrico, até 21%
<i>PTEN</i>	Mama, endométrio, tireoide, colorretal, renal	Câncer da mama, 25%-85%; câncer do endométrio até 28%; câncer da tireoide, até 38%; CCR, 9%-16%
<i>STK1</i>	Mama, pâncreas, colorretal, gástrico, intestino delgado, colo do útero, pulmão, ovário, testículos	Qualquer câncer, 81% até aos 80 anos; câncer da mama 24%-54%; câncer pancreático, 11%-36%; CCR, 39%; câncer gástrico, 29%
<i>BRCA1, BRCA2</i>	Mama, ovário, pâncreas, próstata, melanoma	Câncer da mama, 46%-60% (<i>BRCA1</i>) e 49%-55% (<i>BRCA2</i>) até aos 70 anos; câncer do ovário, 12-59% (<i>BRCA1</i>) e 6%-18% (<i>BRCA2</i>) até aos 70 anos
<i>CDKN2A</i>	Melanoma, pâncreas	Melanoma, 67% até aos 50 anos; câncer pancreático, risco 13 a 39 vezes aumentado
<i>CDH1</i>	Gástrico, mama	Câncer gástrico, 67% (homens), 83% (mulheres); câncer da mama, 39%-53%
<i>TP53</i>	Mama, sarcoma, cérebro, adrenocortical, leucemia, colorretal, gástrico	Qualquer câncer, até 73%-100%
<i>PALB2</i>	Mama, pâncreas	Câncer da mama, 35% até aos 70 anos e 45% até aos 80 anos
Penetrância moderada		
<i>ATM</i>	Mama, pâncreas	Câncer da mama, 27% até aos 80 anos; câncer pancreático, risco aumentado até 3 vezes
<i>APC</i>	Colorretal	CCR, o risco não está bem definido
<i>BARD1</i>	Mama	Câncer da mama, o risco não está bem definido
<i>BRIP1</i>	Ovário	Câncer do Ovário, 5.8%
<i>CDK4</i>	Melanoma	Melanoma, o risco não está bem definido
<i>CHEK 2</i>	Mama, colorretal	Câncer da mama, 29% até aos 80 anos; CCR, o risco não está bem definido

<i>MUTYH</i> (monoalélico)	Colorretal	CCR, 10.9% (mulheres), 13.6% (homens) até aos 80 anos
<i>NBN</i>	Mama	Cancro da mama, 23% até aos 80 anos
<i>RAD51C</i>	Ovário	Cancro do ovário, 5%-15%
<i>RAD51D</i>	Ovário	Cancro do ovário, 5%-15%

Tabela 2. Genes associados a SCH.(7)

Síndrome de cancro hereditário	Genes
Síndrome de Lynch	<i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM</i>
PAF	<i>APC</i>
PAM	<i>MUTYH</i> (bialélico)
JPS	<i>BMPR1A, SMAD4</i>
Síndrome de Cowden	<i>PTEN</i>
Síndrome de Peutz-Jeghers	<i>STK11</i>
Cancro da mama/ovário hereditário	<i>BRCA1, BRCA2</i>
Cancro gástrico difuso hereditário	<i>CDH1</i>
Síndrome de Li-Fraumeni	<i>TP53</i>

4.3. Analisar a aplicabilidade clínica dos PM de suscetibilidade ao cancro em diferentes tipos de cancro

4.3.1. Cancro colorretal

Segundo a American Cancer Society (ACS) a idade média de diagnóstico do CRC nos Estados Unidos é aos 69 anos nos homens, e 73 anos nas mulheres. E destes pacientes com CCR, 10% são diagnosticados quando têm menos de 50 anos. O cancro de início precoce, antes dos 50 anos, é umas das características de predisposição ao cancro de origem genética. A identificação de SCH tem grandes implicações tanto para os pacientes como para as suas famílias, uma vez que permite a adoção de estratégias de gestão clínica, nomeadamente um aumento da vigilância e de medidas preventivas, e pode orientar as opções de tratamento.(9)

Aproximadamente 5-6% dos CCR diagnosticados está associado a mutações na linhagem germinativa em genes com risco de predisposição ao cancro.(1) Estima-se que o CCR hereditário seja responsável por cerca de 4% a 13.5% dos pacientes com CCR de início precoce. O SCH mais comum responsável por CCR é a síndrome de Lynch, que tem fortes associações estabelecidas com mutações nos genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* e *EPCAM*.(3) A avaliação de uma possível síndrome de Lynch inclui a análise destes cinco genes.

Por um lado, a *American Society of Clinical Oncology* (ASCO) defende que os pacientes com risco de desenvolver CCR devem testar os genes relacionados com síndrome de lynch, e que nos pacientes com mais de 10 adenomas colorretais devem também ser testados os genes *APC* e *MUTYH*.(10)

Por outro lado, a NCCN tem diretrizes para a avaliação genética e familiar de pacientes com alto risco de CCR que incluem recomendações específicas de gestão do doente para mutações nos seguintes genes: *APC*, *BMPR1A*, *PTEN*, *STK11*, *SMAD4*, *TP53*, *GREM1*, *POLD1*, *POLE*, *BLM*, *CHEK2* e *GALNT12*.(11)

No entanto, apesar de as diretrizes da NCCN reconhecerem os dados em evolução que apoiam as suas recomendações, as mutações por eles referidas não são consensuais entre a comunidade genética, como tendo evidências suficientes de risco para permitir a elaboração de recomendações específicas.

Susswein et al.(12) analisaram os resultados obtidos pelos primeiros 10 030 pacientes referenciados para diferentes PM de suscetibilidade ao cancro realizados num único laboratório. Os 444 pacientes referenciados para o painel de CCR/síndrome de lynch, que continha os genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *APC*, e *MUTYH*, tiveram o maior número de resultados positivos, 61 (13.7%), entre os pacientes testados. Na origem do elevado número de resultados positivos apresentados pelo painel poderão estar: o número relativamente reduzido de genes incluído no painel; histórias clínicas bem definidas que levaram os prestadores de saúde a pedir o painel; e associações bem estabelecidas entre os genes incluídos no painel e o risco de CCR.

No entanto, mais de um quarto dos pacientes com CCR tiveram resultados positivos para variantes em genes que não estão comumente associados à patologia, 9.7% destas variantes patogénicas foram identificadas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*.

LaDuca et al. (13) realizaram um estudo que avaliou 2079 pacientes submetidos a PM de susceptibilidade ao cancro. Os PM incluíam entre 14 e 22 genes, dependendo do painel prescrito ao paciente. Do total de 2079 pacientes, 557 foram submetidos a PM de susceptibilidade ao CCR que incluíam os seguintes genes: *APC*, *BMPR1A*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *PMS2*, *PTEN*, *SMAD4*, *STK11* e *TP53*. Destes 557 pacientes, 51 (9.2%) tinham pelo menos uma mutação patogénica nos genes avaliados; 37 pacientes tinham mutações nos genes *APC*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH* bialélico e *PMS2*, para os quais a ASCO recomenda a avaliação em pacientes com risco de desenvolver CCR. As restantes mutações foram nos genes *CDH1*, *PTEN*, *SMAD4*, *ST11*, e *TP53*, para os quais as recomendações são escassas ou pouco consensuais. Neste estudo, a taxa de mutações positivas no painel de CCR foi comparável à de outros painéis. No entanto, a taxa de resultados inconclusivos foi a mais baixa de todos os painéis (15,1%), e a taxa de resultados negativos a mais alta (73,2%). Os pacientes com história pessoal de CCR ou pólipos adenomatosos, tinham em 96% dos casos correlação entre a sua história clínica e o risco relativo do gene mutado. Para os restantes pacientes afetados e com mutações identificadas, não foi encontrada qualquer tipo de correlação.

Os pacientes incluídos neste estudo a quem foi prescrito este PM de susceptibilidade ao cancro CCR, poderão ter sido rastreados para a deficiência de genes de reparação de DNA (MMR) através de testes instabilidade microssatélite e/ou imunohistoquímica. O resultado deste rastreio poderá ter estado na origem da prescrição deste painel, o que poderá ter influenciado os resultados deste estudo.

Pearlman & Frankel (9) analisaram 450 pacientes diagnosticados com CCR em idades inferiores aos 50 anos. 52,2 % dos pacientes eram homens, a idade média de diagnóstico era de 42.5 anos, e 8.2% dos pacientes tinham antecedentes de outra malignidade. Os pacientes foram avaliados através de técnicas de instabilidade microssatélite e imunohistoquímica para os genes MMR e submetidos a um PM de susceptibilidade ao cancro que incluía 25 genes: *APC*, *ATM*, *BMPR1A*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CDK4*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *SMAD4*, *STK11* e *TP53*. Foram encontradas 75 mutações num total de 72 pacientes, sendo que 61 pacientes tinham mutações em genes de alta penetrância. Identificaram-se 147 VSI num total de 145 (32.2%) pacientes. 36 pacientes tinham mutações nos genes associados à síndrome de Lynch, 2 pacientes tinha uma mutação em genes relacionados com síndrome de lynch e outra mutação noutra gene e 34 pacientes tinham mutações em genes não associados ao síndrome de lynch. Foram detetados 48 pacientes com deficiência dos genes MMR, tendo 40 destes pacientes pelo menos uma mutação identificada. Dos 402 pacientes sem deficiência dos genes MMR, 38 pelo menos uma mutação identificada. Este estudo prospetivo indica que 1 em cada 6 pacientes com CCR de início precoce poderá ter pelo menos uma mutação num gene de

suscetibilidade ao câncer. Concluem ainda que é importante continuar a fazer o rastreio dos genes MMR para a orientação terapêutica e que o aconselhamento genético e os PM de suscetibilidade ao câncer devem ser considerados em todos os pacientes com CCR de início precoce.

Yurgelum et al.(7) analisaram 1058 indivíduos com diagnóstico de CCR, que não foram selecionados com base em nenhum tipo de fator de risco. O objetivo deste estudo era entender a prevalência de mutações genéticas em pacientes com CCR sem qualquer tipo de seleção. Os pacientes foram submetidos a um PM de suscetibilidade ao câncer com 25 genes associados a risco de câncer. 105 (9.9%) dos pacientes eram portadores de pelo menos uma mutação patogênica, incluindo 55 (5.2%) pacientes com mutações em genes de alta penetrância e 50 (4.7%) pacientes em genes de penetrância moderada. Foram detectadas 330 (31.2%) VSI. 5 pacientes tiveram mais do que uma mutação identificada, 33 (3.1%) pacientes tiveram mutações identificadas nos genes associados à síndrome de Lynch. Dos 74 (7%) pacientes que tinham mutações em genes não associados com a síndrome de Lynch, 23 (2.2%) eram em genes de alta penetrância: cinco no gene *APC*, três no *MUTYH* bialélico, três no *BRCA1*, oito no *BRCA2*, dois no *PALB2*, uma no *CDKN2A* e uma no *PT53*. Este estudo, perante os resultados que obteve, relativamente à alta prevalência de mutações observada, levanta a questão de se todos os pacientes com CCR deveriam ser submetidos a PM de suscetibilidade ao câncer.

Estes estudos sugerem que os PM de susceptibilidade ao câncer poderão ter aplicabilidade clínica no contexto do CCR. Estes painéis apresentam bons resultados para genes de alta penetrância, com uma incidência de resultados inconclusivos inferiores a outros PM de suscetibilidade a outros cânceres.

4.3.2. Cancro da mama e/ou ovário

O uso de PM de susceptibilidade é bem aceite em famílias com história de cancro da mama e/ou ovário (CMO). As razões desta aceitação estão relacionadas com o facto de os genes *BRCA1* e *BRCA2* terem sido os primeiros genes a serem associados à predisposição herdada ao cancro da mama, e para os quais existem *guidelines* de gestão clínica baseadas em evidência e estratégias de tratamento delineadas para os portadores de mutações nestes genes.(14,15)

As mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* são uma das causas principais genéticas de cancro da mama herdado. Apesar disso, sabe-se que existem mutações noutros genes que aumentam o risco de CMO. A identificação destes genes levou à sua inclusão nos PM de susceptibilidade ao cancro.(1)

No entanto, alguns destes genes têm penetrância moderada ou baixa e não têm *guidelines* de gestão clínica, e, quando estas existem, são controversas e não reúnem consenso. Deste modo, não é claro se a descoberta de uma mutação num destes genes em pacientes que têm história pessoal ou familiar de cancro irá alterar a gestão clínica do paciente.(16)

Um aspeto importante na avaliação de pacientes que tenham risco de desenvolver CMO através de PM, que não tenham mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, é entender o ganho que advém da descoberta de mutações noutros genes que possam influenciar a gestão clínica do paciente, uma vez que os critérios que muitos dos estudos utilizam para classificar as mutações como sendo passíveis de ação não são universalmente aceites.

As *guidelines* da NCCN para a avaliação do risco de CMO hereditário fornecem recomendações para a gestão clínica de pacientes a quem tenham sido detetadas mutações nos genes *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, nos genes associados ao síndrome de lynch, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, e no gene *TP53*.(14)

Buys et al.(17) analisaram 35 509 mulheres com um único diagnóstico de cancro da mama que realizaram um PM de susceptibilidade ao cancro com 25 genes, entre setembro de 2013 e Agosto de 2015. 32 993 (93.2%) das mulheres tinha critérios para avaliação do risco de CMO segundo as *guidelines* da NCCN de 2013. As *guidelines* incluíam: mulheres com história pessoal de cancro da mama, diagnosticado antes dos 45 anos; e mulheres com história pessoal de cancro da mama diagnosticado depois dos 45 anos, mas com história familiar de cancro da mama, ovário, e/ou pâncreas. 3305 (9.3%) das 35 509 pacientes tinha pelo menos uma mutação patogénica: 48.5% das mutações foram encontradas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*; 40.9% das mutações patogénicas foram encontradas em outros genes associados ao cancro da mama, nomeadamente nos genes *CHEK2* (11.7%), *ATM* (9.7%), *PALB2* (9.3%). Os restantes genes do painel contabilizaram 10.7% das mutações, 7.0% destas foram nos genes associados ao síndrome de lynch.

Das 35 509 pacientes, 4797 (13.5%) mulheres tinham cancro da mama triplo negativo. Deste grupo de pacientes, 674 (14.1%) tinham mutações patogénicas em pelo menos um dos

genes: 50.1% das mutações foram encontradas no gene *BRCA1* e 18.1% no gene *BRCA2*. Os restantes genes foram responsáveis por 21.8% das mutações, com o *PALB2* a contribuir com 8.7% das mutações.

Este estudo observou que a taxa de mutações patogénicas era maior em mulheres com diagnóstico antes dos 40 anos (13%-18%) comparada com a média (9.3%).

Este estudo conclui que os PM podem detetar um maior número de mulheres com risco aumentado de desenvolver cancro da mama, comparado com o teste único dos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Na opinião dos autores, a relevância dos PM está a aumentar em oncologia, uma vez que a sobreposição de fenótipos entre os genes de risco pode dificultar os médicos a identificar um único gene que querem sequenciar, tendo apenas por base a história familiar. Além disso, as *guidelines* da NCCN têm vindo a ser atualizadas e a incorporar muitos dos genes incluídos neste painel.

Susswein et al. (12) analisaram os resultados obtidos pelos primeiros 10 030 pacientes referenciados para diferentes PM de suscetibilidade ao cancro realizados num único laboratório.

3315 das pacientes referenciados eram mulheres com cancro da mama e não tinham sido testadas previamente para mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Foram encontradas 330 mutações patogénicas, ou provavelmente patogénicas em 320 pacientes: as mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* foram responsáveis por 129 destas mutações; as mutações em outros genes de alta penetrância nomeadamente o *TP53*, *PTEN*, *MUTYH*, *APC*, *VHL*, foram responsáveis por 17 mutações; os genes associados ao síndrome de lynch contabilizaram 19 mutações; as restante 165 mutações foram encontradas em genes de penetrância moderada e risco desconhecido.

1894 dos pacientes referenciados eram mulheres com cancro de mama que tinha sido previamente testadas para mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Foram encontradas 142 mutações patogénicas, ou provavelmente patogénicas em 142 pacientes: as mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* foram responsáveis por 7 destas mutações; as mutações em outros genes de alta penetrância nomeadamente o *TP53*, *PTEN*, e o *CDH1*, foram responsáveis por 6 mutações; os genes associados ao síndrome de lynch contabilizaram 9 mutações; as restante 122 mutações foram encontradas em genes de penetrância moderada e risco desconhecido.

51 dos pacientes referenciados eram homens com cancro da mama. Neste grupo, foram encontradas 7 mutações num total de 6 pacientes. Duas destas mutações foram nos genes *BRCA1* e *BRCA2*; e 5 mutações em genes de moderada penetrância e risco indefinido, nomeadamente *CHECK2* e *PALB2*.

78 dos pacientes eram mulheres com cancro da mama e ovário sem teste prévio de mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Nesta amostra, foram encontradas 14 catorze mutações em 14 pacientes: 8 destas mutações em genes *BRCA1* e *BRCA2*, 1 mutação nos genes do síndrome de lynch, e 5 mutações em genes de penetrância moderada e risco indefinido.

663 das pacientes tinham cancro do ovário e não tinham sido testadas para mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Foram encontradas 91 mutações patogénicas, ou provavelmente

patogênicas em 89 pacientes: as mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* foram responsáveis por 46 destas mutações; as mutações em outros genes de alta penetrância nomeadamente o *TP53*, foram responsáveis por 2 mutações; os genes associados ao síndrome de lynch contabilizaram 13 mutações; as restantes 30 mutações foram encontradas em genes de penetrância moderada e risco desconhecido.

182 pacientes tinham cancro do ovário e tinham sido previamente testados para mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Foram encontradas 12 mutações patogênicas, ou provavelmente patogênicas em 12 destas pacientes: as mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* foram responsáveis por 2 destas mutações; as mutações em outros genes de alta penetrância, nomeadamente o *PMS2*, foram responsáveis por uma mutação; as restantes 9 mutações foram encontradas em genes de penetrância moderada e risco desconhecido.

Este estudo realça que uma proporção significativa dos resultados positivos foi detetada em genes que não são tipicamente associados ao CMO, nomeadamente mutações em genes de alta penetrância, que não o *BRCA1* e *BRCA2*, e genes com penetrância moderada e com risco indefinido. O estudo conclui que os PM têm o potencial de identificar mutações patogênicas em genes que não seriam tradicionalmente testados: tanto em genes de alta penetrância que não estão associados à história pessoal e familiar do doente, como em genes com penetrância moderada, que antes dos PM não eram testados. Na opinião dos autores, a alta frequência de resultados positivos nestes genes sublinha o potencial da contribuição que estes poderão ter no risco de cancro hereditário. No entanto, nem todos os prestadores de saúde e pacientes se sentem confortáveis com a incerteza relativamente a gestão destes achados com riscos pouco definidos.

Desmond et al.(16) conduziram um estudo que acompanhou 1046 pacientes com critérios para a avaliação do risco de CMO segundo as *guidelines* da NCCN e que tinham teste negativo para mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Foram encontradas mutações em 63 indivíduos. 40 (63.5%) destas mutações foram em genes com risco moderado para CMO, nomeadamente *CHEK2*, *ATM* e *PALB2*. 92% dos 63 pacientes com mutações identificadas tinha história pessoal ou familiar concordante com o gene mutado, o que, na opinião dos autores, sugere significância clínica. Em 52 % dos pacientes com mutações identificadas, medidas adicionais de rastreio e/ou prevenção poderiam ser consideradas para além da história pessoal e familiar do paciente, ou seja, tinham capacidade de ação e afetavam a gestão clínica.

LaDuca et al.(13) realizaram um estudo que avaliou 2079 pacientes submetidos a PM de suscetibilidade ao cancro que não incluíam os genes *BRCA1* e *BRCA2*. Os PM incluíam entre 14 e 22 genes, dependendo do painel prescrito ao paciente. Do total de 2079 pacientes, 874 foram submetidos a PM de suscetibilidade ao cancro da mama que incluíam os seguintes genes: *ATM*, *BMP1A*, *CHEK2*, *PALB2*, *PTEN*, *NBN*, *RAD50*, *RAD51C*, *MRE11A* e *TP53*. Destes 874 pacientes, 65 (7.4%) tinham pelo menos uma mutação patogénica nos genes avaliados. Destacam-se as 19 mutações encontradas no gene *CHEK2*, 18 no gene *ATM* e 15 no gene *PALB2*. A taxa de resultados inconclusivos foi de 19.8% e a taxa de resultados negativos de

71.1%. Os pacientes com história pessoal de câncer da mama tinham em 96.9% dos casos correlação entre a sua história clínica e o risco relativo do gene mutado. Para os restantes pacientes afetados e com mutações identificadas, não foi encontrada qualquer tipo de correlação. 223 pacientes foram submetidos a PM de susceptibilidade ao câncer do ovário que incluíam os genes: *MSH6*, *NBN*, *ATM*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11A*, *PALB2*, *RAD51C* e *TP53*. Do total de 223 pacientes, 16 (7.2%) pelo menos uma mutação patogénica. A taxa de resultados inconclusivos foi de 25.6% e a taxa de resultados negativos de 66.8%. Os pacientes com história pessoal de câncer do ovário tinham em 96% dos casos correlação entre a sua história clínica e o risco relativo do gene mutado. Para os restantes pacientes afetados e com mutações identificadas, não foi encontrada qualquer tipo de correlação.

Estes estudos sugerem que os PM podem ter aplicabilidade clínica na avaliação do risco de CMO em relação à avaliação única dos genes *BRCA1* e *BRCA2*, uma vez que uma percentagem considerável das mutações foram encontradas em outros genes. A informação genética proveniente destes testes pode ser utilizada em estratégias preventivas, rastreios adicionais, decisões terapêuticas e cirurgias profiláticas. No entanto, o número de resultados inconclusivos e os achados em genes com risco controverso são algumas das desvantagens, que devem ser tidas em conta.

4.3.3. Câncer da próstata

Uma proporção significativa dos diagnósticos de câncer da próstata poderão estar associados a um forte componente hereditário. A história familiar é um fator de risco estabelecido para o desenvolvimento de câncer da próstata.(18)

Dados recentes sugerem que aproximadamente 8% a 12% dos pacientes com câncer da próstata avançado poderão ser portadores de mutações na linha germinativa em genes supressores tumorais bem caracterizados.(19,20)

Homens com múltiplos polimorfismos em genes únicos e história familiar de câncer da próstata têm maior risco de desenvolver câncer da próstata.(18)

Mutações nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *HOXB13*, *CHECK2*, *NBN*, *BRIP1* e *ATM* demonstraram aumentar o risco de câncer da próstata.(18)

Atualmente não existem *guidelines* uniformes relativamente a testes genéticos nos contextos de câncer da próstata.

As *guidelines* da *American College of Medical Genetics*, referem que os testes genéticos em pacientes com câncer da próstata devem ser considerados se o paciente tiver um dos seguintes critérios:

- Três ou mais familiares de primeiro grau com câncer da próstata;
- Dois ou mais familiares de primeiro grau com diagnóstico de câncer da próstata até aos 55 anos;
- Câncer da próstata com uma classificação na escala de Gleason superior a 7 e história familiar de 2 ou mais indivíduos com câncer da mama, ovário, ou pâncreas.(21)

As *guidelines* da NCCN recomendam o teste dos genes *BRCA1* e *BRCA2* em pacientes com câncer da próstata quando o paciente preenche um dos critérios:

- Câncer da próstata com uma classificação na escala de Gleason igual ou superior a 7 e mais do que um familiar com câncer da mama diagnosticado até aos 50 anos e/ou câncer do ovário invasivo;
- Câncer da próstata com uma classificação na escala de Gleason igual ou superior a 7 e história familiar com 2 familiares com diagnóstico de câncer da mama, pâncreas, ou próstata com classificação na escala Gleason igual ou superior a 7;
- História pessoal de câncer da próstata metastizado (CPM);(P12(53))

Os seguintes critérios são propostos pelo *Johns Hopkins group*, para a consideração do câncer da próstata familiar:

- Três ou mais familiares de primeiro grau com câncer da próstata, ou
- Três gerações sucessivas com câncer da próstata, ou
- Dois familiares próximos com diagnóstico de câncer da próstata antes dos 55 anos. (P12(54))

Apesar de existirem semelhanças entre as diferentes *guidelines*, é importante a criação de normas uniformes para a avaliação do risco genético de câncer da próstata.

Pritchard et al. (19) avaliaram a linha germinativa de 20 genes de reparação de DNA, em 692 pacientes com CPM documentado. Foram encontradas 84 mutações em 82 destes 692 homens, num total de 16 genes. De destacar que: 37 homens tinham mutação no gene *BRCA2*, 11 no *ATM*, 10 no *CHEK2*, 6 no *BRCA1*, 3 no *RAD51D* e 3 no *PALB2*. O estudo conclui que a frequência das mutações nos homens com CPM foi superior à dos pacientes com cancro da próstata localizado, e ao da população geral. Concluíram também que a frequência das mutações destes genes não variou de forma significativa com a idade de diagnóstico, nem com a história familiar de cancro da próstata.

A identificação de mutações nos genes de reparação de DNA como o *BRCA1*, *BRCA2* e *ATM* em homens com CPM resistente à castração tem importância clínica, porque dados recentes indicam que o uso de inibidores da poli-ADP ribose polimerase pode levar a melhores respostas terapêuticas nestes pacientes.(18) A *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou recentemente o uso do olaparibe, um inibidor da poli-ADP ribose polimerase, no contexto de CPM resistente à castração com mutações identificadas nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, ou *ATM*.(22)

A utilidade dos PM no cancro da próstata parece estar a evoluir, uma vez que estes parecem ter um papel considerável em decisões terapêuticas, nomeadamente no contexto de CPM.

4.3.4. Câncer do pâncreas

O câncer do pâncreas é uma doença devastadora, é uma das principais causas de morte associada ao câncer nos Estados Unidos.(23) Aproximadamente 95% dos cânceres do pâncreas são adenocarcinomas ductais do pâncreas (ACDP), que são os mais difíceis de tratar. A sua rápida progressão e a alta taxa de mortalidade são algumas das razões que tornam tão importante a melhoria na estratificação do risco e a detecção precoce.(23)

Existe evidência de que história familiar de câncer pancreático num familiar de primeiro grau está associado a um risco aumentado de desenvolver câncer pancreático. Famílias com história de câncer pancreático apenas são raras; o predomínio de ACDP numa família é geralmente avaliado no contexto de outros SCH, nomeadamente o síndrome de câncer da mama e/ou ovário hereditário. Existem poucos estudos que avaliem o uso de PM no contexto específico de ACDP.(1,23)

Hu et al. (24) avaliaram 96 pacientes com ACDP, sem qualquer tipo de seleção relacionada com idade de diagnóstico e história familiar, através de um PM de suscetibilidade ao câncer. Este PM incluía 22 genes. Foram encontradas 14 mutações em 13 (13.5%) pacientes, num total de 8 genes. Destas mutações, 9 (9.4%) foram em genes de alta e moderada penetrância associados ao risco de ACDP, nomeadamente, 4 mutações no gene *ATM*, 2 no *BRCA2*, 2 no *MSH6* e 1 no *BRCA1*. Este estudo concluiu, que a taxa de mutações patogénicas foi superior em pacientes com história familiar de outros tipos de tumores sólidos.

Chaffee et al. (23) avaliaram 25 genes de susceptibilidade ao câncer em 302 pacientes com ACDP. Os pacientes com pelo menos dois familiares de primeiro grau com câncer pancreático tinham critério de classificação como câncer pancreático familiar (CPF). Foram encontradas 36 (12%) pacientes com pelo menos uma mutação, num de 11 genes. Dos 185 pacientes com CPF, 25 (15%) eram portadores de pelo menos uma mutação. Dos 117 pacientes com ACDP não CPF, 11 (9%) eram portadores de pelo menos uma mutação. Destacaram-se as 11 mutações encontradas no gene *BRCA2*, 8 no *ATM*, 4 no *CDKN2* e 4 no *CHEK2*. Este estudo conclui que os PM devem ser fornecidos a pacientes com ACDP e história familiar de câncer do pâncreas, mesmo que não tenham classificação de CPF, uma vez que irá informar o aconselhamento genético de risco para as famílias em questão.

Atualmente não existem recomendações para o uso de PM, no contexto de câncer do pâncreas. Famílias com múltiplos diagnósticos de ACDP, ou pacientes com diagnósticos em idade jovem, justificam o aconselhamento genético.(1)

4.4. Entender como devem ser interpretadas as mutações em genes de penetrância moderada

Com a inclusão de genes de penetrância moderada e baixa nos PM de suscetibilidade ao cancro é de esperar um aumento na complexidade da interpretação dos resultados, devido à incerteza relativamente à aplicabilidade clínica em testar este tipo de genes. Esta é uma das principais preocupações relativamente aos PM de suscetibilidade ao cancro, uma vez que existe uma alta frequência de resultados positivos em genes de moderada ou baixa penetrância nos indivíduos testados.(1)

O risco de cancro estimado de alguns destes genes não está bem caracterizado, o que, em parte, é derivado de estudos onde poderão existir viés e com amostras reduzidas. Para se estabelecer um risco preciso, são necessários estudos com amostras suficientemente grandes e sem viés, e não existem muitos assim. O risco conferido por mutações nestes genes, por vezes, é muito reduzida; muitas das vezes, é a associação de mutações em múltiplos genes de penetrância baixo ou moderada que pode conferir o risco.(4,12)

A obtenção de resultados positivos em genes cujo risco é moderado ou desconhecido pode colocar os prestadores de saúde em situações para as quais quase não existem *guidelines* estabelecidas, não sendo claro, em grande parte das situações, se a variante identificada é a causa genética isolada de cancro na família do paciente; há, assim, o potencial de adoção de medidas preventivas desnecessárias como rastreios excessivos ou cirurgias preventivas, e de estados de ansiedade aumentada por parte dos pacientes. Nem todos os prestadores de saúde e pacientes se sentem confortáveis com a incerteza dos resultados destes PM, mas existem alguns que gostariam de ter a informação relativamente a estes genes, com intuito de atuarem de forma precoce, à medida que mais dados sejam disponibilizados.(1,3)

A interpretação cautelosa das variantes encontradas nestes genes por parte de especialistas em aconselhamento genético e avaliação do risco de cancro é muito importante para os pacientes que se submetam a PM de suscetibilidade ao cancro.(13)

No entanto, com a inclusão destes genes de risco incerto nos PM de suscetibilidade ao cancro e à medida que mais pacientes se submetam a estes testes, será de esperar que surja mais informação em relação ao risco de cancro que mutações neste genes poderão conferir; esta informação poderá permitir a elaboração de *guidelines* que assegurem uma melhor orientação clínica destes casos. Para que isto aconteça, será necessária a partilha de informação entre os diversos laboratórios, através de bases de dados criadas para o efeito, e assim prevenir a possível ocorrência de *outcomes* negativos para os pacientes.(3)

4.5. Perceber qual o impacto da deteção de variantes de significado indeterminado (VSI)

Os PM detetam apenas as mutações mais frequentes e mais bem documentadas dos genes em causa; as restantes alterações são classificadas como variantes de significado indeterminado (VSI). As VSI são alterações detetadas em genes que têm implicações incertas sobre o seu efeito na função das proteínas que codificam e, no caso dos genes de suscetibilidade ao cancro, no risco de cancro.

Uma das desvantagens em testar um número alargado de genes, especialmente genes de penetrância moderada ou baixa, é a alta probabilidade de obtermos um elevado número de VSIs. À medida que aumenta o número de genes incluído num PM, aumenta a taxa de VSIs.(4) O número de VSI está também relacionado com a falta de dados disponíveis para classificar as variantes como patogénicas ou benignas.(13)

Os algoritmos de classificação e anotação usados pelos laboratórios, que realizam os testes de PM, para classificar as variantes está também profundamente relacionado com o número de VSIs, uma vez que estes variam entre laboratórios e tornam difícil o cálculo global de VSIs.(1,2)

Dada a complexidade dos PM de suscetibilidade ao cancro, a informação pode ser de difícil compreensão para os pacientes. Existem estudos que demonstram que os pacientes que recebem resultados de VSI nos seus testes genéticos podem ver os seus níveis de ansiedade aumentados, principalmente nos casos em que existe história familiar de cancro relacionado com o gene onde a VSI foi encontrada. É importante que aconselhamento genético pré-teste a pacientes que serão submetidos a testes de PM de susceptibilidade ao cancro inclua a discussão sobre a possibilidade de serem detetadas VSIs, o que poderá aumentar o tempo gasto neste processo.(4)

Uma vez que não existem recomendações relativamente à gestão da identificação destas variantes, fica a cargo dos prestadores de saúde em conjunto com o paciente a decisão da atitude a tomar.(12) Desta forma, existe o risco de desinformação clínica e de adoção de medidas que poderão apenas estar destinadas a portadores de variantes patogénicas no gene em questão.

É de esperar que, à medida que mais informação seja partilhada em bases de dados entre os diferentes laboratórios, exista uma melhor classificação das variantes e um menor número de VSIs.

4.6. Compreender como devem ser geridos resultados inesperados em genes de alta penetrância

A realização de PM de suscetibilidade ao cancro que não sejam dirigidos a um fenótipo podem criar incerteza. Entre os prestadores de saúde, existe a preocupação de serem identificadas nos pacientes, que se submetem a PM de susceptibilidade ao cancro, mutações em genes de alta penetrância que não tenham associação aparente com o fenótipo apresentado pelo paciente ou pela sua família. A identificação de uma mutação nestas circunstâncias pode levar a dúvidas, quer em relação à quantificação do verdadeiro risco de cancro quer à gestão do paciente.(12) É importante ter em conta que o cancro é resultado da interação entre fatores hereditários, mutações de novo e de fatores ambientais.

Yurgelum et al.(8) mediante a identificação de pacientes com mutações em genes de alta penetrância que não eram concordantes com a história pessoal e familiar, num dos seus artigos levantam a questão de se os SCH deveriam ser definidos com base apenas na informação do fenótipo, genótipo ou ambas. Defendem estes investigadores que, se os PM identificarem rotineiramente pacientes com mutações patogénicas no contexto de histórias clínicas atípicas, as recomendações de gestão do paciente deverão ter em conta ambas as informações.

Dois dos genes responsáveis por este tipo de incertezas são o *TP53*, que está associado ao síndrome de Li-Fraumeni, e o *CDH1*, associado ao cancro gástrico difuso hereditário ;ambos têm fortes associações a alto risco de cancro e têm recomendações de gestão que incluem vigilância intensiva e/ou cirurgias profiláticas.(4,12)

A detecção de uma mutação no gene *CDH1* num paciente com história familiar de cancro gástrico difuso hereditário tem recomendação para gastrectomia profilática total. No entanto, esta recomendação poderá ser questionada pelos prestadores de cuidados de saúde quando presente num paciente sem história familiar. Este tipo de resultados pode criar uma enorme ansiedade aos pacientes.(4,8,12) A ASCO realça que a interpretação das mutações, assim como a escolha dos genes que devem integrar o PM por parte de especialistas em genética é fundamental, apoiando a avaliação de genes com utilidade clínica estabelecida pela história pessoal e familiar do paciente.(5)

Existem perspetivas alternativas em relação à deteção de mutações inesperadas em genes de alta penetrância, nomeadamente a de que esta pode ser uma das utilidades dos PM. Numa análise de *Ricker et al.*(25), os portadores de mutações nos genes *CDH1*, com diagnóstico de cancro gástrico estágio inicial seguido de gastrectomia profilática, não tinham história pessoal ou familiar de cancro gástrico difuso.

Yurgelum et al.(7) num estudo em que analisaram 1058 indivíduos, com diagnóstico de CCR sem qualquer tipo de seleção relativamente aos seus fatores de risco e que foram submetidos a PM de susceptibilidade ao cancro com 25 genes, referiram que 105 (9.9%) pacientes eram portadores de pelo menos uma mutação patogénica, incluindo 55 (5,2%) indivíduos com mutações em genes de alta penetrância. Foram encontradas 11 (1%) mutações

nos genes BRCA1/2. Este achado é substancialmente superior aos 0.25% estimado na população geral, e levantou a questão de se estas mutações poderão ter alguma relação com o CCR.(7)

Este tipo de resultados, realça a importância da partilha de dados entre laboratórios e instituições, com intuito de uma melhor compreensão do risco que estas mutações podem conferir aos seus portadores, de modo a serem elaboradas recomendações para a orientação clínica destes pacientes.

5. Discussão

Ao longo desta dissertação revimos a aplicabilidade clínica dos PM de suscetibilidade ao câncer, através da análise de diversos estudos.

Os PM parecem ter alguma utilidade no esclarecimento de risco genético em contextos como: síndromes em que exista uma sobreposição dos seus fenótipos; situações em existam apresentações atípicas; quando a história familiar não é conhecida; na avaliação de indivíduos que obtiveram um resultado negativo para mutações em genes de alta penetrância e que têm história familiar muito sugestiva de SCH; pacientes com diagnósticos de câncer em idade muito precoce e que são consistentes com SCH; pacientes com cânceres raros, como o câncer da mama no homem ou pacientes com história pessoal de múltiplas neoplasias primárias.⁽¹⁾

No entanto, existem situações que necessitam de especial atenção em relação a estes PM. As interpretações das mutações em genes de penetrância moderada ou baixa é uma delas. O risco que advém de muitas mutações em genes com penetrância baixa ou moderada não está bem definido, e muitas vezes este risco pode não existir quando os pacientes apresentam apenas uma mutação. O risco, por vezes, é conferido pela associação de várias mutações deste género. Outro aspeto a considerar na interpretação destas mutações é a expressividade do gene em questão. A ausência de recomendações após a deteção de mutações nestes genes faz com que seja importante considerar estes fatores, quer na interpretação dos resultados, quer na inclusão destes nos PM.

As VSI são outro dos aspetos a ter em conta na interpretação de PM. A deteção de VSI causa ansiedade nos clínicos e nos doentes, uma vez que o seu significado é indeterminado. Estes achados têm como origem o facto dos PM detetarem apenas as mutações mais frequentes em cada gene, que são aquelas que estão mais bem documentadas. Os laboratórios utilizam algoritmos de classificação de variantes diferentes, o que também influencia as taxas de VSI. O número de genes incluído no painel também influencia a taxa de VSI detetadas. Quanto mais genes inclui o painel, maior será a taxa de VSIs. A uniformização da classificação das variantes entre laboratórios poderia ser um passo importante.

A inclusão de genes de alta penetrância nos PM de pacientes que não têm fenótipo nem história familiar característica de mutações nesse gene deve ser bem pensada, uma vez que achados inesperados nesses genes podem levar a grandes dilemas, nomeadamente a deteção de mutações em genes com recomendações mais radicais, como cirurgias profiláticas.

Os vários estudos analisados com intuito de entender a aplicabilidade clínica dos PM nos pacientes em risco de desenvolver CCR sugerem que esta pode ser alta. As taxas de mutações encontradas nos PM foram semelhantes nos diversos estudos. A maioria destas mutações foi encontrada em genes de alta penetrância com forte evidência de risco de CCR, como os genes associados ao síndrome de Lynch, o APC e o MUTYH bialélico, que reúnem

consenso na comunidade médica. Um dos estudos concluiu que a taxa de resultados inconclusivos era menor nos PM de suscetibilidade ao CCR quando comparada com os restantes painéis.(13) O número reduzido de genes incluído no painel usado neste estudo, 7 sete, pode ter influenciado os resultados. Estes resultados podem também ser devidos a histórias clínicas bem definidas e a rastreios dos genes MMR, através de técnicas de instabilidade microssatélite e/ou imunohistoquímica, que levou à prescrição destes painéis por parte dos prestadores de saúde que acompanharam os pacientes integrantes do estudo.

Existem poucos estudos que avaliem a prevalência de mutações na linha germinativa nos pacientes com cancro da próstata. Um dos estudos consultados avaliou 692 pacientes com CPM, 82 dos quais tiveram pelo menos uma mutação encontrada. As mutações encontradas nos genes BRCA1, BRCA2 e ATM foram responsáveis por 65% dos pacientes com mutações detetadas.(19) A FDA aprovou o uso do olaparibe nos pacientes com CPM resistente à castração com mutações identificadas nos genes BRCA1, BRCA2, ou ATM. Tendo em conta isto, os PM poderão ter aplicabilidade clínica particularmente no contexto CPM. No entanto, serão necessários mais estudos e com maiores dimensões para tirarmos melhores conclusões.

A aplicabilidade dos PM na avaliação do risco de CMO não reúne consenso. A grande maioria das mutações encontradas nos estudos analisados foram nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, que têm forte associação para o risco de CMO e para os quais existem recomendações a nível de rastreio, prevenção e tratamento. A grande dúvida que tentamos esclarecer é se existe vantagem no uso de PM comparado com a sequenciação única dos genes *BRCA1* e *BRCA2*. A maioria dos estudos concluiu que os PM têm o potencial de identificar um maior número de mutações que podem ser responsáveis pelo CMO. No entanto, apesar de serem identificadas taxas consideráveis de mutações em outros genes, alguns destes não reúnem consenso quanto ao risco exato de desenvolver CMO que conferem aos seus portadores. O facto de não existirem recomendações consensuais que alterem o *outcome* dos pacientes após a deteção destas mutações na maioria dos genes avaliados nos estudos, com exceção do *BRCA1* e *BRCA2*, é outro dos problemas encontrados. Até que ponto é que a deteção de uma destas mutações irá alterar a gestão clínica do paciente é uma das questões que necessita de resposta. Comparar os diferentes estudos analisados torna-se um desafio, uma vez que a classificação dos genes como passíveis de ação varia entre grande parte dos estudos.

Os estudos que existem em relação ao uso de PM em pacientes com ACDP são poucos e de dimensões bastante reduzidas, o que pode condicionar os resultados obtidos e as suas conclusões. De forma geral, os estudos que existem revelam que a prevalência de mutações em genes de suscetibilidade ao cancro nos pacientes com ACDP é considerável e aumenta quando existe história familiar de cancro do pâncreas. Os estudos sugerem que os PM podem ter utilidade neste contexto. No entanto, não existem recomendações para o seu uso.

6. Conclusão - Perspetivas futuras

Os PM são resultado do avanço das tecnologias de sequenciação de DNA. A utilização destes PM na avaliação da predisposição ao cancro genético ainda não está totalmente clara no que diz respeito à sua aplicabilidade clínica em vários contextos. O potencial destes PM é grande.

A utilização destes painéis demonstra ter alguma aplicabilidade na avaliação do risco de CCR, tendo em conta os resultados de alguns estudos e o risco de CCR bem definido, que as mutações em alguns genes conferem.

A sua utilização não é tão clara no CMO, dado ainda não existirem evidências suficientes que demonstrem que os PM são mais vantajosos em comparação com a sequenciação única dos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Os estudos sugerem que os PM têm capacidade de detetar um maior número de mutações. No entanto, a gestão do doente acaba por não ser alterada, tendo em conta que não existem recomendações consensuais para a maioria das mutações em causa, exceptuando o *BRCA1* e o *BRCA2*.

No caso dos pacientes com cancro da próstata, estes PM parecem ter potencial, apesar dos poucos estudos existentes, particularmente em pacientes com CPM resistente à castração, onde a identificação de mutações nos genes *BRCA1*, *BRCA2* e *ATM* pode alterar a abordagem terapêutica do doente.

Os pacientes com cancro do pâncreas poderão no futuro vir a beneficiar do uso destes painéis, especialmente em casos onde existe história familiar de cancro do pâncreas. No entanto, também aqui os estudos que avaliam os PM são poucos e com dimensões reduzidas, impossibilitando chegar a conclusões mais concretas.

Apesar do potencial demonstrado, existem obstáculos que precisam de ser ultrapassados. São exemplo desses obstáculos: o estabelecimento de um risco de cancro mais bem definido para as diferentes mutações; uma classificação das variantes mais padronizada por parte dos diferentes laboratórios que realizam estes PM; a elaboração de recomendações que indiquem as situações em que estes devem ser aplicados; e a elaboração de recomendações consensuais para a orientação dos pacientes com mutações detetadas nestes testes.

Neste momento, o elevado número de informação que estes PM fornecem é acompanhado por alguma incerteza clínica relativamente a gestão dos mesmos. No futuro, estes PM poderão ser uma boa ferramenta para combater e prevenir o cancro de origem genética, à medida que surjam mais e melhores estudos que quantifiquem melhor o risco associado as diferentes mutações, à medida que se estabeleçam consensos em relação as recomendações a seguir e que haja uniformização na classificação das variantes detetadas.

Referências Bibliográficas

1. Shah PD, Nathanson KL. Application of Panel-Based Tests for Inherited Risk of Cancer. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2017;18(1):201-27.
2. Stoll J, Weissman SM, Hook N, Selkirk C, Johnson AK, Newlin A, et al. Evaluation of laboratory perspectives on hereditary cancer panels. *Fam Cancer.* 2016;15(4):689-96.
3. Cragun D, Radford C, Dolinsky JS, Caldwell M, Chao E, Pal T. Panel-based testing for inherited colorectal cancer: A descriptive study of clinical testing performed by a US laboratory. *Clin Genet.* 2014;86(6):510-20.
4. Domchek SM, Bradbury A, Garber JE, Offit K, Robson ME. Multiplex Genetic Testing for Cancer Susceptibility: Out on the High Wire Without a Net? *J Clin Oncol.* 2013;31(10):1267-70.
5. Robson ME, Bradbury AR, Arun B, Domchek SM, Ford JM, Hampel HL, et al. American society of clinical oncology policy statement update: Genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol.* 2015;33(31):3660-7.
6. Anthony J. F. Griffiths, Jeffrey H. Miller, David T. Suzuki, Richard C. Lewontin WMG. *An Introduction to GENETIC ANALYSIS.* 7th ed. 2000.
7. Yurgelun MB, Kulke MH, Fuchs CS, Allen BA, Uno H, Hornick JL, et al. Cancer Susceptibility Gene Mutations in Individuals With Colorectal Cancer. 2017;35(10).
8. Yurgelun MB, Allen B, Kaldate RR, Bowles KR, Judkins T, Kaushik P, et al. Identification of a Variety of Mutations in Cancer Predisposition Genes in Patients with Suspected Lynch Syndrome. *Gastroenterology [Internet].* 2015;149(3):604-613.e20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.05.006>
9. Pearlman R, Frankel WL, Swanson B, Zhao W, Yilmaz A, Miller K. Prevalence and Spectrum of Germline Cancer Susceptibility Gene Mutations Among Patients With Early-Onset Colorectal Cancer Rachel. *JAMA Oncol [Internet].* 2018;464-71. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4734894/pdf/nihms749737.pdf>
10. Stoffel EM, Mangu PB, Limburg PJ. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Endorsement of the Familial Risk-Colorectal Cancer: European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. *J Oncol Pract [Internet].* 2015;11(3):e437-41. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JOP.2015.003665>
11. NCCN Guidelines for genetic/familial high-risk assessment: colorectal. Version 1.2018. Available at <https://www.nccn.org>.
12. Susswein LR, Marshall ML, Nusbaum R, Postula KJV, Weissman SM, Yackowski L, et al. Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10 , 000 patients referred for next-generation cancer panel testing. 2016;18(8):823-32.

13. Laduca H, Stuenkel AJ, Dolinsky JS, Keiles S, Tandy S, Pesaran T, et al. Utilization of multigene panels in hereditary cancer predisposition testing: Analysis of more than 2,000 patients. *Genet Med*. 2014;16(11):830-7.
14. NCCN Guidelines for genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian. Version 3.2019. Available at <https://www.nccn.org>.
15. Kaufman B, Shapira-Frommer R, Schmutzler RK, Audeh MW, Friedlander M, Balmaña J, et al. Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline BRCA1/2 mutation. *J Clin Oncol*. 2015;33(3):244-50.
16. Desmond A, Kurian AW, Gabree M, Mills MA, Anderson MJ, Kobayashi Y, et al. Clinical actionability of multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer risk assessment. *JAMA Oncol*. 2015;1(7):943-51.
17. Buys SS, Sandbach JF, Gammon A, Patel G, Kidd J, Brown KL, et al. A study of over 35,000 women with breast cancer tested with a 25-gene panel of hereditary cancer genes. *Cancer*. 2017;123(10):1721-30.
18. Zhen JT, Syed J, Nguyen KA, Leapman MS, Agarwal N, Brierley K, et al. Genetic Testing for Hereditary Prostate Cancer : Current Status and Limitations. 2018;1-13.
19. Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF, Sarkar N De, Abida W. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. 2016;25(3):289-313.
20. Leongamornlert D, Saunders E, Dadaev T, Tymrakiewicz M, Goh C, Jugurnauth-Little S, et al. Frequent germline deleterious mutations in DNA repair genes in familial prostate cancer cases are associated with advanced disease. *Br J Cancer [Internet]*. 2014;110(6):1663-72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2014.30>
21. Hampel H, Bennett RL, Buchanan A, Pearlman R, Wiesner GL. A practice guideline from the American College of Medical Genetics and Genomics and the National Society of Genetic Counselors: Referral indications for cancer predisposition assessment. *Genet Med*. 2015;17(1):70-87.
22. Martin GA, Chen AH, Parikh K. A Novel Use of Olaparib for the Treatment of Metastatic Castration-Recurrent Prostate Cancer. *Pharmacotherapy*. 2017;37(11):1406-14.
23. Chaffee KG, Oberg AL, McWilliams RR, Majithia N, Allen BA, Kidd J, et al. Prevalence of germ-line mutations in cancer genes among pancreatic cancer patients with a positive family history. *Genet Med*. 2018;20(1):119-27.
24. HU C, Hart SN, Bamlet WR, Moore R, Eckloff BW, Lee YK, et al. Prevalence of pathogenic mutations in cancer predisposition genes among pancreatic cancer patients. 2016;(1):1-10.
25. Ricker C, Culver JO, Lowstuter K, Gauderman WJ, Sturgeon D, Sturgeon JD, et al. Increased Yield of Actionable Mutations Using Multi-Gene Panels to Assess Hereditary Cancer Susceptibility in an Ethnically Diverse Clinical Cohort. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;5(6):1-8.