



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**

Ivan Sales Henriques

**ANÁLISE DO BANCO DE DADOS DE GENOTIPAGEM GERMINATIVA DO
LABORATÓRIO PERSONAL ONCOLOGIA**

Belo Horizonte
2023

Ivan Sales Henriques

**ANÁLISE DO BANCO DE DADOS DE GENOTIPAGEM GERMINATIVA DO
LABORATÓRIO PERSONAL ONCOLOGIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós - Graduação em Genética, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Genética.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia
Brunialti Godard

Coorientadora: Dr^a. Juliana Garcia
Carneiro

Belo Horizonte

2023

043

Henriques, Ivan Sales.

Análise do banco de dados de genotipagem germinativa do Laboratório Personal Oncologia [manuscrito] / Ivan Sales Henriques. – 2023.

71 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Brunialti Godard. Coorientadora: Dr^a. Juliana Garcia Carneiro.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

1. Genética. 2. Síndromes Neoplásicas Hereditárias. 3. Bases de Dados de Ácidos Nucleicos. 4. Sequenciamento de Nucleotídeos em Larga Escala. I. Godard, Ana Lúcia Brunialti. II. Carneiro, Juliana Garcia. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO / TESE

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO	332/2023 entrada
Ivan Sales Henriques	1º/2020 CPF: 836.455.356-91

Às nove horas do dia 28 de fevereiro de 2023, reuniu-se, a Comissão Examinadora de Dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: "Análise do Banco de Dados de Genotipagem Germinativa Do Laboratório Personal Oncologia", requisito para obtenção do grau de Mestre em Genética. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Ana Lúcia Brunialti Godard, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao candidato, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento e expedição de resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	CPF	Indicação
Ana Lúcia Brunialti Godard	Universidade Federal de Minas Gerais	107.961.538-50	APROVADO
Maria Raquel Santos Carvalho	Universidade Federal de Minas Gerais	349.651.730-15	APROVADO
André Márcio Murad	Universidade Federal de Minas Gerais- Faculdade de Medicina	400.208.276-87	APROVADO
Juliana Garcia Carneiro	Personal Diagnósticos de Precisão	012.525.146-70	APROVADO

Pelas indicações, o candidato foi considerado: APROVADO

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pela Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 28 de fevereiro de 2023.

Ana Lúcia Brunialti Godard

Maria Raquel Santos Carvalho

André Márcio Murad

Juliana Garcia Carneiro



Documento assinado eletronicamente por Ana Lucia Brunialti Godard, Professora do Magistério Superior, em 28/02/2023, às 11:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Juliana Garcia Carneiro, Usuário Externo, em 28/02/2023, às 12:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Maria Raquel Santos Carvalho, Membro, em 28/02/2023, às 13:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Andre Marcio Murad, Professor do Magistério Superior, em 28/02/2023, às 14:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2102669 e o código CRC E6985F45.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

FOLHA DE APROVAÇÃO

"Análise do Banco de Dados de Genotipagem Germinativa Do Laboratório Personal Oncologia"

Ivan Sales Henriques

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Ana Lúcia Brunialti Godard
Universidade Federal de Minas Gerais

Maria Raquel Santos Carvalho
Universidade Federal de Minas Gerais

André Márcio Murad
Universidade Federal de Minas Gerais-Faculdade de Medicina

Juliana Garcia Carneiro
Personal Diagnósticos de Precisão

Belo Horizonte, 28 de fevereiro de 2023.

102785



Documento assinado eletronicamente por **Ana Lucia Brunialti Godard, Professora do Magistério Superior**, em 28/02/2023, às 11:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliana Garcia Carneiro, Usuário Externo**, em 28/02/2023, às 12:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Raquel Santos Carvalho, Membro**, em 28/02/2023, às 13:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **André Marcio Murad, Professor do Magistério Superior**, em 28/02/2023, às 14:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 2102785 e o código CRC 0FCE4BA8.

Dedico esse trabalho a memória da minha mãe, vítima do câncer

AGRADECIMENTOS

Sobretudo à Deus, luz, orientação e força da minha vida nos momentos mais desafiadores, me permitindo manter o foco e seguir em frente.

Aos meus familiares, meu alicerce. Entre eles, meu pai, exemplo de determinação, coragem e fé. Minhas irmãs, sempre atenciosas e empenhadas em contribuir com as minhas demandas, e ainda, vibrantes com minhas conquistas. Meus sobrinhos, que sempre me trouxeram momentos de alegria, possibilitando me reestabelecer e motivar. A minha esposa, pela compreensão nos momentos de ausência e por vibrar com meus feitos. A meu filho, que mesmo sem saber, na sua inocência, me motiva a lutar por ele e para ele.

A minha orientadora e professora, Dra. Ana Lúcia Brunialti Godard, que me acolheu em um momento de muitas incertezas e compartilhou comigo seu conhecimento e experiência. Foi uma honra tê-la como orientadora.

Ao meu amigo e colaborador nas discussões científicas, professor Tiago Marcel. Comemoramos mutuamente as nossas conquistas.

Aos profissionais do Laboratório Personal, Dr. André, Juliana e Bruna, por nos fornecer os dados e acreditar no nosso trabalho.

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.”

Albert Einstein

RESUMO

O câncer é uma doença ou síndrome essencialmente genética, uma vez que a célula adquire um fenótipo maligno em decorrência de alterações em seu DNA, mais precisamente, mutações ou variantes em genes que regulam o ciclo celular. Uma série de características como suporte à sinalização proliferativa, evasão de supressores de crescimento, resistência à morte celular, favorecimento à replicação e imortalidade, indução de vascularização, ativação de invasão e metástase, entre outras, são necessárias para que uma célula adquira um fenótipo maligno e que estas tenham a capacidade de formar tumores. Algumas variantes que favorecem o desenvolvimento de tumores podem surgir ao longo da vida, o que configura a possibilidade de manifestações de cânceres esporádicos. Outras, no entanto, podem ser herdadas, chamadas de variantes germinativas, o que confere aos indivíduos a possibilidade de desenvolverem síndromes de cânceres hereditários. O Laboratório Personal, localizado em Belo Horizonte, Brasil, utiliza a tecnologia de NGS para o sequenciamento dos exomas tumorais e germinativos, com o propósito de detectar variantes genéticas, com fins diagnósticos e alvo-específicos para os medicamentos já disponíveis no mercado ou em fase de registro. As variantes identificadas são catalogadas no banco de dados próprio do laboratório, para fins de consultas futuras e revisões. O objetivo desse estudo foi analisar o banco de dados de genotipagem germinativa do Laboratório Personal. Foi traçado um perfil descritivo do banco em relação aos principais tipos de câncer, genes e variantes anotadas. Para tanto, foi realizada consulta aos bancos de dados públicos, como Varsome e Clinvar, e busca em literatura especializada. Foram avaliadas as frequências relativas das variantes, a predominância de algumas variantes na população analisada, a ocorrência da Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus (MINAS), bem como o genótipo e fenótipo associado. Foram identificados 89 genes no banco, sendo que 72 (80,89%) são supressores de tumor, 8 (8,98%) oncogenes e 9 (10,11%) de função dupla ou desconhecida. Foram identificadas 569 variantes e 537 pacientes. Foi calculada a frequência relativa das variantes. Foram destacadas as mais frequentes e os quatro cânceres com maiores ocorrências no banco, mama, ovário, colorretal e pâncreas e ainda, a penetrância dos genes mais frequentes em relação a esses tumores. Essa análise possibilitou a identificação de 4 pacientes com a possibilidade da ocorrência

da Síndrome de MINAS (Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome). Foram identificadas 28 situações de pacientes com a mesma variante e fenótipos diferentes. Dos 537 pacientes do banco, 324 (60,33%) distribuídos em 21 grupos, apresentaram diferentes genes e variantes, com um mesmo fenótipo de câncer. Acredita-se que estas informações combinadas, possibilitarão análises futuras como, avaliação da utilidade clínica dos painéis genéticos, uma melhor compreensão da doença, com conseqüente novas formas de prevenção, diagnóstico e alvos terapêuticos cada vez mais individualizados e precisos.

Palavras-chaves: banco de dados; NGS; painéis genéticos; síndromes de cânceres hereditários; variantes germinativas.

ABSTRACT

Cancer is essentially a genetic disease or syndrome since the cell acquires a malignant phenotype because of changes in its DNA, more precisely, mutations or variants in genes that regulate the cell cycle. A series of characteristics such as support for proliferative signaling, evasion of growth suppressors, resistance to cell death, favoring replication and immortality, induction of vascularization, activation of invasion and metastasis, among others, are necessary for a cell to acquire a malignant phenotype and that they have the ability to form malignant tumors. Some variants that favor the development of tumors may appear throughout life, which configures the possibility of manifestations of sporadic cancers. Others, however, can be inherited, called germline variants, which gives individuals the possibility of developing hereditary cancer syndromes. Personal Laboratory, located in Belo Horizonte, Brazil, uses NGS technology for the sequencing of tumor and germinal exomes, to detect genetic variants, with diagnostic and target-specific purposes for drugs already available on the market or in the register. The identified variants are cataloged in the laboratory's database, for future consultations and mutation reviews. This study aimed to analyze the Personal Laboratory germline genotyping database. Was traced a descriptive profile of the bank concerning the main types of cancer, genes, and annotated variants. For this purpose, public databases such as Varsome and Clinvar were consulted, and searches were carried out in specialized literature. It was evaluated the relative frequency of variants, the predominance of some mutations in the analyzed population, the occurrence of Hereditary Multilocus Neoplasia Syndrome (MINAS), as well as the associated genotype and phenotype. Were identified 89 genes in the database, 72 (80.89%) of which are tumor suppressors, 8 (8.98%) oncogenes, and 9 (10.11%) of dual or unknown function. Were identified 569 variants and 537 patients. Were calculated the relative frequency of the variants. Were highlighted the most frequent and the four most frequent cancers in the bank, breast, ovary, colorectal, and pancreas, and the penetrance of the most frequent genes to these tumors. This analysis enabled the identification of 4 patients with the possibility of MINAS Syndrome (Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome). Were identified 28 situations of patients with the same variant and different phenotypes. Of the 537 patients in the bank, 324 (60.33%) divided into 21

groups, had different genes and variants, with the same cancer phenotype. It is believed that this combined information will enable future analyzes such as evaluating the clinical utility of the genetic panels, a better understanding of the disease with consequent new forms of prevention, diagnosis, and therapeutic targets that are increasingly individualized and precise.

Keywords: database; NGS; genetic panels; hereditary cancer syndromes; germline variants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1A: Ação dos supressores de tumor no controle do ciclo celular, na indução da apoptose e nas vias de reparo do DNA.....	21
Figura 1B: Reparo por recombinação homóloga (HRR).....	21
Figura 1C: Reparo por despareamento ou incompatibilidade (MMR).....	21
Figura 2: Definição das variantes genéticas em relação ao tamanho.....	22
Figura 3: Nova proposta para classificação de variações sinônimas.....	24
Figura 4: Demonstração de uma variante <i>missense</i> ou de sentido trocado.....	25
Figura 5: Demonstração de uma variante <i>nonsense</i> ou sem sentido.....	26
Figura 6A: Genes encontrados no banco com variantes associadas ao câncer	35
Figura 6B: Genes com maiores quantidades de variantes, em porcentagem.....	35
Figura 7: Distribuição dos 89 genes encontrados no banco em relação à função.....	36
Figura 8: Distribuição e quantidade dos cânceres registrados no banco de dados do Laboratório Personal.....	39

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1: Tipos de variantes e a frequência com que causam doenças.....	23
ANEXO 1 - Quadro 2 : Critérios utilizados pela ACGM para classificação de variantes.....	67
ANEXO 2 - Quadro 3: Classificação final em função de combinações de classificações.....	69
Tabela 1: Exemplos de Genes e Penetrância relacionada aos cânceres de mama, ovário e colorretal.....	29
Tabela 2: Distribuição de variantes por pacientes no Banco de Dados do Laboratório Personal.....	37
Tabela 3: Frequência relativa das variantes e a quantidade no Banco de Dados do laboratório Personal.....	38
Tabela 4: Variantes mais frequentes e cânceres associados.....	40
Tabela 5: Genes com mais variantes e a penetrância em relação aos cânceres mais frequentes no banco.....	40
Tabela 6: Classificação das variantes. Link de acesso à Tabela 6 completa.....	41
Tabela 7: Possíveis pacientes de MINAS e variantes relacionadas.....	41
Tabela 8: Pacientes com a mesma variante e fenótipos diferentes.....	42
Tabela 9: Pacientes com diferentes variantes e fenótipos idênticos.....	45

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACGM - Colégio Americano De Genética E Genômica Médica

ACTs - Tumores Adrenocorticais

AMP - Associação Americana de Patologia Molecular

BASC - Complexo De Vigilância Do Genoma Associado a *BRCA1*

CCR - Câncer Colorretal

CPC - Carcinoma do Plexo Coroide

CPG - Genes De Predisposição Ao Câncer

CSGs - Genes De Susceptibilidade Ao Câncer (CSGs)

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

PRSs - Escores de Riscos Poligênicos

GECCO - Consórcio de Genética e Epidemiologia do Câncer Colorretal

GWAS - Estudos de Associação Ampla do Genoma

HTS - Síndrome De Tumores Hereditários

HRR - Reparo Por Recombinação Homóloga

INDELS - Inserções ou deleções

InSiGHT - Sociedade Internacional de Tumores Hereditários Gastrointestinais

LFS – Síndrome de Li-Fraumeni

LS - Síndrome De Lynch

MINAS – Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus

MMR - Reparo Por Despareamento (Mismatch Repair)

MSI - Instabilidades de Microssatélites

mRNA- RNA Mensageiro

NGS - Sequenciamento De Nova Geração

NMD - Decaimento do mRNA Mediado por Variantes Sem Sentido ou Nonsense

PDAC - Adenocarcinoma Ductal Pancreático

TSGs - Genes Supressores De Tumor

PTCs - Códon de Terminação Prematura

PV - Variante Patogênica

RNA – Ácido Ribonucleico

SNVs - Variantes de Nucleotídeo Único

UTSW - Universidade do Sudoeste do Texas

VS - Variantes Estruturais

VUS - Variante de Significância Incerta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 Mutações e Carcinogênese	19
1.2 Painéis Genéticos e o Laboratório Personal	28
2 OBJETIVOS	32
2.1 Objetivo Geral	32
2.2 Objetivos Específicos	32
3. METODOLOGIA	33
4. RESULTADOS	35
4.1 O Banco de Dados do Laboratório	35
4.2 Frequência Relativa das Variantes e a Quantidade	38
4.3 Variantes mais frequentes x cânceres com maiores ocorrências	39
4.4 Classificação Das Variantes	41
4.5 Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus	41
4.6 Pacientes com as mesmas variantes e fenótipos diferentes	42
4.7 Pacientes com diferentes variantes e mesmo fenótipo	45
5 DISCUSSÃO	46
5.1 Descrição Geral do Banco de Dados do Laboratório Personal	46
5.2 Análise de Genes e Variantes mais frequentes no Banco de Dados	47
5.3 Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus – MINAS	53
5.4 Pacientes com a mesma variante e fenótipos diferentes	54
5.5 Pacientes com diferentes variantes e mesmo fenótipo	55
6 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXOS	67
ANEXO 1: Quadro 2 - Critérios utilizados pela ACGM para classificação de variantes	67
ANEXO 2: Quadro 3 - Classificação final em função de combinações de classificações	69
ANEXO 3: Termo de Autorização de Exame – Painel Hereditário	70

1 INTRODUÇÃO

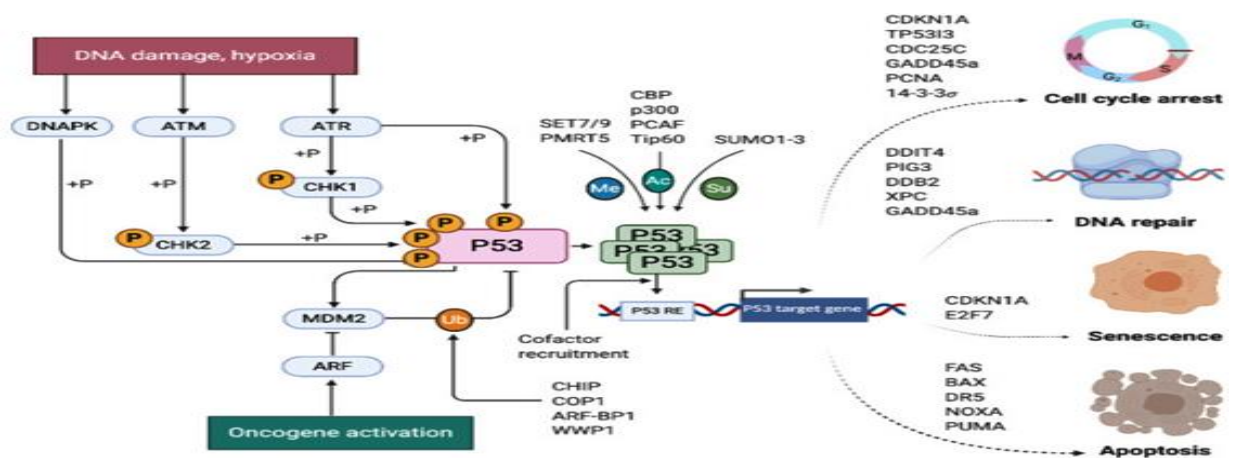
1.1 Mutações e Carcinogênese

Uma série de características são necessárias para que uma célula adquira um fenótipo maligno, processo denominado carcinogênese, e que estas tenham a capacidade de formar tumores malignos, como proposto no trabalho realizado por HANAHAN, D.; WEINBERG, 2011. As características descritas por esses autores incluíram a sustentação da sinalização proliferativa, a evasão dos supressores de crescimento, a resistência à morte celular, o favorecimento à replicação e à imortalidade, a indução da vascularização, a ativação da invasão e metástase, a reprogramação do metabolismo celular, o escape da destruição imunológica, a inflamação promotora de tumor e a instabilidade e mutação do genoma. HANAHAN, 2022, em seu novo trabalho de revisão acrescentou outras quatro características capacitadoras que incluíram a plasticidade celular, a reprogramação epigenética não mutacional, as variações polimórficas nos microbiomas de órgãos e tecidos e a inclusão de células senescentes de diferentes origens, incluindo células cancerígenas e várias células estromais, que contribuem funcionalmente para o desenvolvimento e progressão maligna.

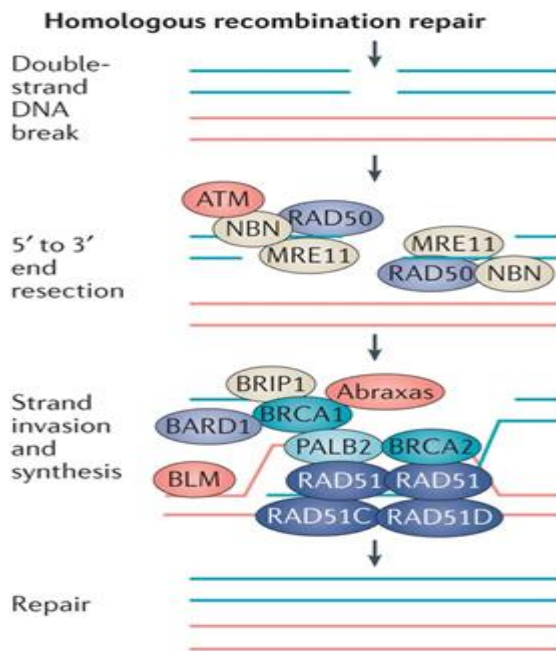
O câncer é uma doença ou conjunto de doenças (síndrome) essencialmente genética, uma vez que uma célula adquire um fenótipo maligno em decorrência de diversas alterações em seu material genético. Essas mudanças envolvem mais precisamente os genes que participam do reparo do DNA, do controle do crescimento e da proliferação celular, responsáveis por manter a arquitetura e a harmonia tecidual. As mutações e os polimorfismos em genes de predisposição ao câncer (CPG), como os oncogenes e genes supressores de tumor (TSGs) estão estritamente relacionadas com o surgimento do câncer. A carcinogênese pode ocorrer em função da ativação de oncogenes ou da inativação ou redução da expressão de genes supressores de tumor. Os oncogenes, quando ativados, participam da carcinogênese por agirem como fatores de crescimento celular, transdutores de sinais celulares e fatores de transcrição nuclear, induzindo a multiplicação descontrolada da célula. Já os supressores, inibem a carcinogênese por participarem no controle do ciclo celular, na indução da apoptose e nas vias de reparo do DNA (Figura 1A). Em particular, o reparo por recombinação homóloga

(HRR), conforme representado na Figura 1B e o reparo por despareamento ou incompatibilidade (MMR), Figura 1C. Os genes supressores de tumor podem deixar de realizar suas funções por pelo menos três vias: (1) por meio de mutações, nas quais suas funções são desativadas ou reduzidas; (2) perda de um dos alelos (perda da heterozigosidade); e (3) por desligamento via mudanças epigenéticas. Alfred G. Knudson postulou em 1971 a “hipótese dos dois golpes” onde, para o surgimento de alguns tumores hereditários, como o retinoblastoma, por exemplo, é necessário que ocorram duas mutações inativadoras (golpes), visando ambos os alelos de um suposto gene supressor de tumor. Para a situação em questão, a primeira mutação inativadora é herdada e a segunda, ocorre ao longo da vida. As mutações podem ocorrer de forma aleatória, uma vez que à cada ciclo de replicação do DNA poderá ocorrer erros na colocação de nucleotídeos, ou ainda, por influência de diversos fatores, como os químicos, físicos e biológicos, criando um ambiente celular propício à carcinogênese (BAYLIN, JONES, 2016; PETERS, GONZALEZ, 2018; KONTOMANOLIS, *et al.* 2020; CHERNOFF, 2021).

A Ação dos supressores de tumor no controle do ciclo celular, na indução da apoptose e nas vias de reparo do DNA



B



C

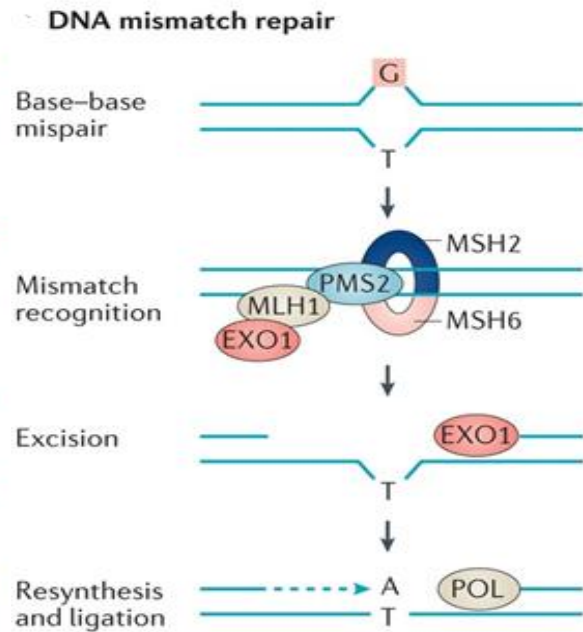


Figura 1: Visão geral da ação dos genes supressores de tumor na inibição da carcinogênese. **A:** Estresses celulares, causados por danos ao DNA, ativação de oncogenes, hipóxia e estresse de replicação/tradução ativam as proteínas DNA-PK, ATM, ATR, CHK1, CHK2, e p14ARF. Essas proteínas quinases fosforilam a proteína p53 (codificada pelo gene *TP53*), levando à estabilização e favorecendo a sua ligação ao receptor específico (p53RE). Esse processo, de várias etapas de ativação de p53, favorece o controle do ciclo celular, o reparo do DNA, a indução da senescência e da apoptose (Fonte: IZ, WAFIK, 2021). **B:** O reparo por recombinação homóloga (HRR) é organizado em etapas sequenciais iniciadas no local de quebra do DNA. Neste processo, ocorre a ressecção final da extremidade 5' do DNA, deixando uma fita de DNA de fita simples 3' (ssDNA). Este processo é promovido pela proteína ATM, codificada pelo gene *ATM* e pelo complexo MRN. A proteína BRCA2 (codificada pelo gene *BRCA2*) e PALB2 (codificada pelo gene *PALB2*) então carregam RAD51 (codificada pelo gene *RAD51*) na fita 3' ssDNA ressecada, formando o filamento de nucleoproteína. O filamento contendo RAD51 emparelha com a sequência de DNA complementar, na cromátide irmã, que é usada como molde para a síntese de DNA. A HRR é concluída pela ligação das extremidades do DNA. **C:** O reparo de incompatibilidade promove a correção do pareamento incorreto das bases do DNA. Os fatores homólogo mutL 1 (MLH1), homólogo mutS 2 (MSH2), PMS2 e os demais fatores são descritos como necessários para a reação de reparo. (Fonte: adaptado de NIELSEN; VAN OVEREEM HANSEN; SØRENSEN, 2016)

As mutações ou polimorfismos são alterações na sequência padrão de nucleotídeos de um determinado segmento do DNA. Mutações e polimorfismos são, portanto, variações em uma determinada sequência, sendo que em geral, as mutações ocorrem numa frequência menor que 1% ($< 1\%$), ao passo que os polimorfismos ocorrem numa frequência superior a 1% ($> 1\%$) (NUSSBAUM *et al.*, 2008).

Em diversas situações os termos mutações e polimorfismos foram usados de forma equivocada, como se mutações estivessem sempre associadas a efeitos patogênicos e polimorfismos a efeitos benignos, o que nem sempre é coerente. Diante disso, as diretrizes para a interpretação de variantes de sequência, elaborado pelo Colégio Americano de Genética e Genômica Médica (ACGM), em conjunto com a Associação de Patologia Molecular (AMP) recomenda a utilização do termo “variante”, a fim de uniformizar a nomenclatura e evitar tais equívocos (RICHARDS *et al.*, 2015).

As variantes genéticas são, em geral, definidas por seu tamanho. Conforme representada na Figura 2, as variantes de nucleotídeo único (SNVs) são caracterizadas por substituições de um par de bases no DNA, sendo os tipos de variantes mais numerosas no genoma humano. Já as inserções ou deleções (indels), envolvem ganhos ou perdas de um ou mais nucleotídeos, abrangendo até 50 pares de bases e resultando em mudança na fase de leitura (frameshift). As variantes estruturais (VS) correspondem a grandes alterações genoma, acima de 50 pares de bases. (NESTA, TAFUR, BECK, 2021).

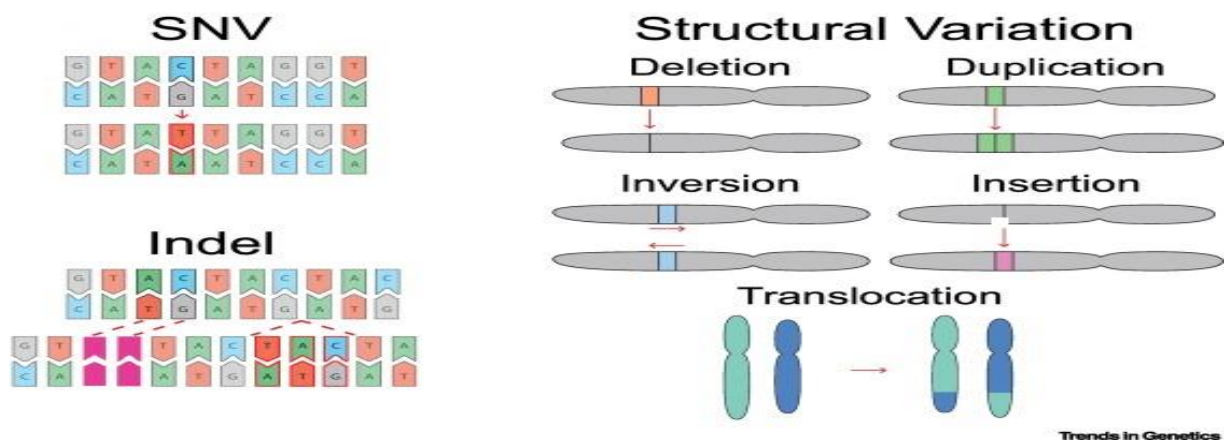


Figura 2: Definição das variantes genéticas em relação ao tamanho. As variantes de nucleotídeos únicos (SNVs) ocorrem por substituição de apenas um nucleotídeo. Indels correspondem a inserções ou deleções de um ou mais nucleotídeos, até o limite de 50. As variantes estruturais (VS) correspondem às duplicações, inversões, deleções e inserções, acima de 50 pares de bases (Fonte: NESTA, TAFUR, BECK, 2021).

Em relação aos efeitos produzidos, as variantes normalmente são classificadas em sinônimas (sem alterações na sequência de aminoácidos), *missense* ou de sentido trocado (ocorre a substituição de um aminoácido por outro) e *nonsense* ou variantes sem sentido (sinaliza para o término prematuro de uma proteína). Os tipos de variantes e a frequência com que estão envolvidas no surgimento de doenças estão representadas no Quadro 1. As variantes podem envolver regiões codificantes, que representam menos de 2% do genoma humano e as regiões não codificantes, como íntrons, regiões promotoras e intensificadoras, onde se encontram muitas variantes relacionadas ao câncer (NUSSBAUM *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2018)

Tipo de Mutação	Porcentagem de Mutações Causadoras de Doença
Substituições de Nucleotídeos	
Mutações de sentido trocado (<i>missense</i>): substituições de aminoácidos.	50%
Mutações sem sentido (<i>nonsense</i>): códons de término prematuros.	10%
Mutações no processamento do RNA (destroem sítios de <i>splicing</i> consensuais, sítios de capeamento e sítios de poliadenilação ou criam sítios ocultos).	10%
Mutações de sítios de <i>splicing</i> , levando a mutações de matriz de leitura (<i>frameshift</i>) e códons de término prematuros.	10%
Mutações reguladoras de longo alcance.	Raras
Deleções e Inserções	
Adição ou deleção de um pequeno número de bases.	25%
Deleções gênicas grandes, inversões, fusões e duplicações (podem ser mediadas pela homologia de sequência do DNA tanto dentro quanto entre as fitas de DNA).	5%
Inserção de elemento LINE ou <i>Alu</i> (perturbação da transcrição ou interrupção da sequência codificante).	Rara
Mutações dinâmicas (expansão de sequências de repetição de tri ou tetranucleotídeos).	Raras

Quadro 1: Tipos de variantes e a frequência com que causam doenças. Fonte: adaptado de NUSSBAUM *et al.*, 2008

As variantes sinônimas, em diversas situações, foram erroneamente classificadas como silenciosas, simplesmente por não alterarem a sequência de aminoácidos da proteína produzida. No entanto, estudos recentes destacaram o impacto dessas variantes no local de ligação dos fatores de transcrição do DNA, no *splicing* e na estabilidade do RNA e na tradução e dobramento de proteínas. Ainda, algumas variantes sinônimas podem alterar os sítios exônicos de ligação do miRNA e prejudicar a regulação da expressão gênica. Portanto, novas sistemáticas para classificação de variantes sinônimas são sugeridas, levando em consideração não apenas o RNA e a sequência de aminoácidos na proteína, mas também o efeito

dessas variantes ao nível de DNA e na ligação do fator de transcrição, conforme representado na Figura 3 (SHARMA *et al.*, 2019; VIHINEN, 2022).

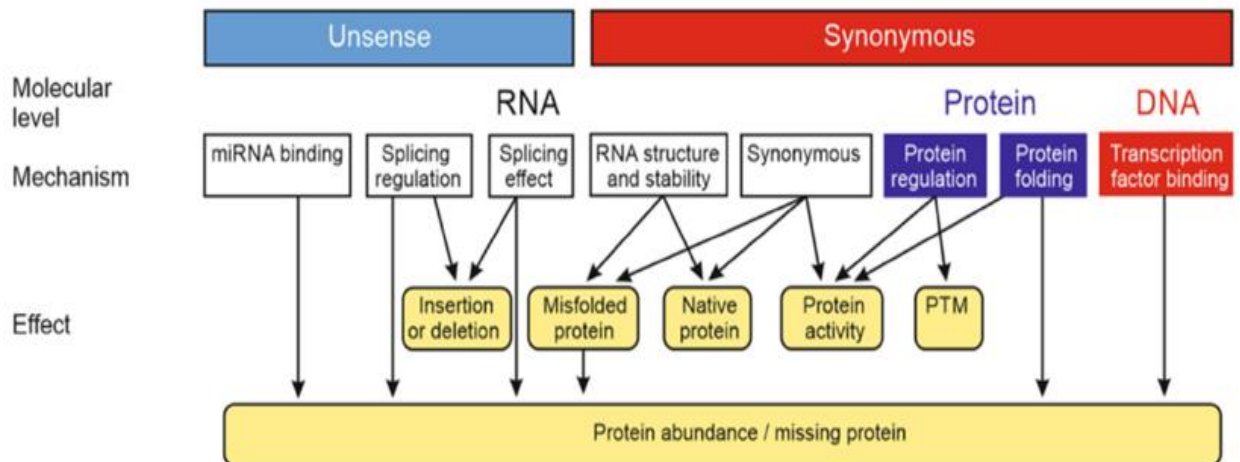


Figura 3: Nova proposta para classificação de variações sinônimas, levando em consideração os efeitos ao nível do DNA (caixa vermelha), RNA (caixa branca) e proteína (caixa azul). Já para as variantes *nonsense* (variantes sem sentido), leva-se em consideração o efeito no RNA (splicing, regulação ou ligação de miRNAs). PTM: modificação pós-translacional (Fonte: VIHINEN, 2022).

Para as variantes *missense*, ou de sentido trocado, uma única substituição de aminoácidos pode induzir desde simples ou drásticas alterações, capazes de afetar a estabilidade e estruturas cruciais das proteínas, a ponto de prejudicar suas funções (Figura 4). Os prejuízos dessas alterações estão ligados às propriedades dos aminoácidos afetados, como, por exemplo, propriedades físico-químicas (aromático, carregado ou polar), contexto estrutural (α -hélice, folha β , participação em pontes de hidrogênio) e seu papel na atividade proteica. A localização dos aminoácidos alterados, como hotspots mutacionais ou próximo a locais de fosforilação, também é outro fator crucial no impacto da substituição dos aminoácidos em variantes *missense*. Alguns autores consideram que no complexo cenário da evolução do câncer, a substituição de um único aminoácido pode ser considerada como uma tentativa de adaptação, a fim de produzir uma proteína mais funcional. Dessa forma, o impacto da substituição de aminoácidos na estabilidade da proteína é uma informação essencial para a medicina de precisão (PETROSINO *et al.*, 2021; QBAI *et al.*, 2020).

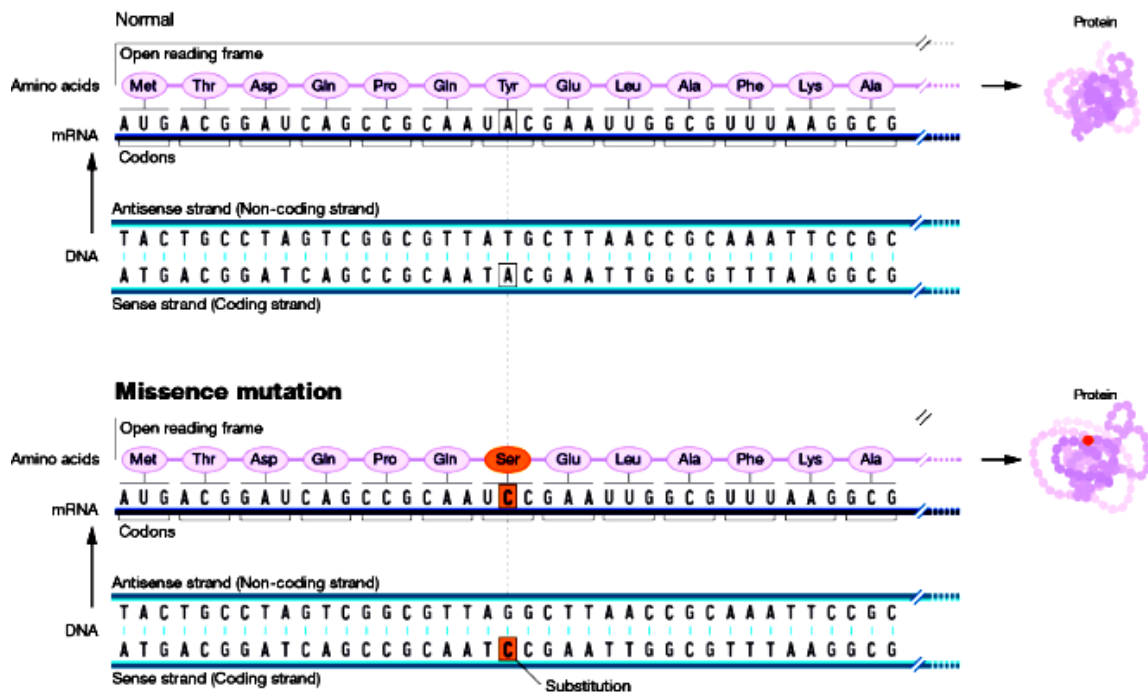


Figura 4: Demonstração de uma variante *missense* ou de sentido trocado. Nesta, a substituição de uma base adenina por uma citosina no DNA, implicou na substituição de uma Tirosina por uma Serina na cadeia polipeptídica. Estas substituições implicam em desde simples ou drásticas alterações nas proteínas, podendo prejudicar suas funções (Fonte: MISSENSE MUTATION, 2023)

As variantes sem sentido introduzem códons de parada prematuros às sequências codificadoras, o que confere á estas variantes características altamente deletérias (Figura 5). Contudo, as variantes sem sentido são menos frequentes e localizadas mais perto de códons de parada em genes relacionados ao desenvolvimento do câncer, em relação à outros genes, o que supostamente minimiza seus efeitos deletérios. Em algumas situações, os tumores exploram o decaimento do mRNA mediado por variantes sem sentido ou nonsense (NMD), processo onde ocorre a inspeção dos mRNAs em busca de códons de terminação prematura (PTCs). Como os genes supressores de tumor são caracterizados mais por mutações sem sentido indutoras de NMD a célula utiliza o NMD para sua função protetora. Com isso, a eliminação de transcritos que possam produzir proteínas truncadas em genes supressores, favorecem a formação do tumor (CHU, WEI, 2019; POPP, MAQUAT, 2018).

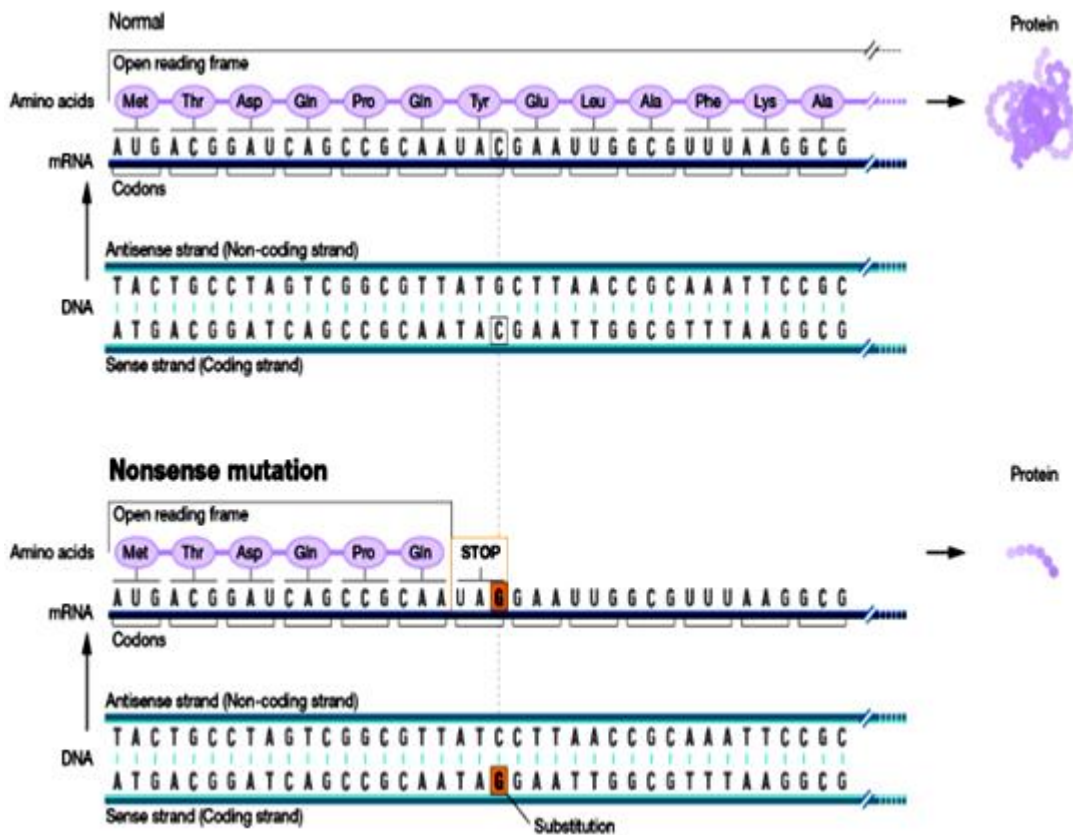


Figura 5: Demonstração de uma variante *nonsense* ou sem sentido. A substituição de uma citosina por uma guanina do DNA gerou um stop códon UAG no mRNA sinalizando para o término prematuro da proteína (Fonte: NONSENSE MUTATION, 2023)

As síndromes de cânceres hereditários têm por características se desenvolverem em decorrência de variantes germinativas surgidas em oncogenes ou genes supressores de tumor e transmitidas dos progenitores aos seus descendentes. Dessa forma, algumas características que definem um câncer hereditário são a idade precoce dos indivíduos acometidos, uma vez que já herdaram a variante, e ainda, tipos específicos de câncer para indivíduos numa linhagem familiar. As síndromes relacionadas ao câncer hereditário favorecem o surgimento simultâneo de mais de um tumor, como: câncer de mama, ovário, cólon, endometrial, tireóide medular, gástrico difuso, entre outros. Em geral, 5 a 10% dos casos de câncer correspondem a cânceres hereditários. Porém, em situações envolvendo cânceres altamente poligênicos, como em outros traços complexos, esse percentual pode ser mais alto, quando se leva em conta a herdabilidade envolvendo várias variantes. Alguns estudos abordaram que fatores poligênicos representam um aumento de 18% do risco relativo familiar para câncer de mama. Portanto, os escores de riscos poligênicos (PRSs) demonstraram fornecer

estratificação de risco adicional, quando combinado com teste de mutação de gene único, como por exemplo, para tumores de mama e ovários hereditários (RILEY *et al.*, 2012; YANES *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020; KUMUTHINI *et al.*, 2022;).

Outras peculiaridades dos cânceres hereditários são o fato de ocorrerem por transmissão vertical (de uma geração para outra), por meio de um padrão de herança mendeliano bem definido, em geral do tipo autossômico dominante. Nesta situação, ocorre 50% de risco de transmissão para a prole em cada gestação, independentemente do sexo, e apresentarem elevada taxa de penetrância, como revisou VENKITARAMAN A.R. 2019. Neste estudo, o autor destacou que variantes monoalélicas ou heterozigotas que afetam o gene supressor de tumor *BRCA2*, em particular, possam ser suficientes para a carcinogênese. Para essa situação, mesmo quando o alelo do tipo selvagem remanescente permanece ativamente expresso, o indivíduo portador da variante tem um risco elevado de desenvolver lesões associadas à síndrome durante toda a vida.

A identificação de anormalidades genéticas, como as instabilidades de microssatélites (MSI), variantes em genes supressores de tumor e variantes fundadoras reconhecidas, podem otimizar a identificação de indivíduos em risco de desenvolverem síndromes hereditárias de câncer e favorecer a conduta terapêutica. Variantes nos genes responsáveis pelo reparo por incompatibilidade tornam as células mais sujeitas a instabilidades de microssatélites, contribuindo para o desenvolvimento de tumores, como por exemplo, o que ocorre na Síndrome de Lynch. Nesta, indivíduos que possuem variantes patogênicas nos genes *MSH2*, *MLH1*, *MSH6* e *PMS2*, têm maior risco de desenvolverem tumores de cólon e reto (80%), endométrio (65%), ovário (21%) e outros tumores, menos frequentes, em demais órgãos. Em relação a variantes fundadoras, estas aumentam o risco do desenvolvimento de câncer. Como por exemplo, a variante R337H do gene *TP53*, presente em aproximadamente 0,3% dos indivíduos das populações do sul e sudeste do Brasil. Indivíduos portadores desse alelo fundador têm um risco aumentado de desenvolverem a síndrome de Li-Fraumeni (LFS) e múltiplos tumores. Entre estes, tumores adrenocorticais (ACTs), de mama, sarcoma de partes moles, osteossarcoma, carcinoma do plexo coroide (CPC) e cânceres de tireoide e pulmão (DE ANGELIS DE CARVALHO *et al.*, 2020; PINTO *et al.*, 2020; RAMROOP *et al.*, 2019; SANDOVAL *et al.*, 2021; SOARES *et al.*, 2018)

Em algumas situações, alguns indivíduos podem herdar mais de uma variante patogênica em diferentes genes, associados a riscos altos ou moderados para o desenvolvimento do câncer e com isso manifestarem síndromes hereditárias de câncer em idade precoce. Esse fenômeno é conhecido como Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus - MINAS (STRADELLA *et al.*, 2019). Combinações de variantes em diferentes genes de susceptibilidade ao câncer (CSGs) interferem nos riscos de acometimento de MINAS, como revisou MCGUIGAN *et al.*, 2022.

1.2 Painéis Genéticos e o Laboratório Personal

Com o advento do sequenciamento de nova geração (NGS), painéis de genes têm sido comumente usados para identificar variantes em genes que conferem riscos para o desenvolvimento de um ou mais tipos de câncer. Isso possibilita caracterizar as síndromes hereditárias de predisposição ao câncer. A utilidade clínica desses painéis tem relação direta com os resultados proporcionados aos pacientes que se submetem a testes genéticos, como, formas de prevenção, diagnósticos e tratamentos individualizados. Os testes envolvendo painéis genéticos permitem avaliar vários genes simultaneamente, quando mais de um gene pode explicar um determinado fenótipo, ao invés de gene único. A utilização dos painéis genéticos favorecem, portanto, a identificação de pacientes com mais de uma de variante patogênica em genes de risco alto ou moderado para o desenvolvimento da Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus (MINAS), como demonstrado no estudo de MURAD, DA ROCHA, CARNEIRO, 2022. Os autores do referido estudo analisaram uma coorte de 1.234 pacientes não relacionados com suspeita de câncer hereditário, usando um painel NGS validado, com 20 genes associados ao câncer hereditário. A penetrância dos genes envolvidos nos painéis, ou seja, a proporção de indivíduos que possuem um determinado genótipo e exibem os sintomas clínicos esperados é outro ponto relevante na escolha dos genes que compõem um painel. Genes de alta penetrância possuem um corpo de evidências consistentes em relação as associações entre esses genes e riscos elevados para alguns tipos de cânceres. Genes de penetrância moderada e baixa são bem menos definidos, podendo ter validade clínica modesta. A Tabela 1 abaixo apresenta alguns exemplos

de genes e as respectivas penetrâncias em relação aos cânceres de mama, ovário e colorretal. (Shah, Nathanson, 2017; AKRAS *et al.*, 2019; Kingdom, Wright, 2022).

Tabela 1: Exemplos de Genes e Penetrância relacionada aos cânceres de mama, ovário e colorretal

Tipo de Câncer	Genes		
	Alta Penetrância	Penetrância Moderada	Baixa Penetrância
Câncer de Mama	<i>BRCA1, BRCA2, TP53</i>	<i>ATM, CHECK2, PALB2, BARD1, RAD51C, RAD51, PTEN</i>	<i>MUTYH, MSH6, BRIP1,</i>
Câncer de Ovário	<i>BRCA1, BRCA2</i>	<i>ATM, CHECK2, MSH2, BRIP1, PALB2, BARD1, MLH1, RAD51C, RAD51</i>	<i>MSH6, TP53</i>
Câncer Colorretal	<i>MUTYH, APC, MSH6, MLH1, POLE</i>	<i>CHECK2, TP53</i>	<i>CDKN2A, PTEN, ATM</i>

Outro exemplo de utilização de painéis multigênicos foi o estudo de FERRER-AVARGUES *et al.*, 2021, envolvendo uma coorte com 84 probandos com diagnóstico prévio de Síndrome de Lynch (LS) por sequenciamento de Sanger. Esta coorte foi reanalisada usando NGS, por meio de um painel comercial com 94 genes envolvidos na carcinogênese hereditária. Através da utilização deste painel foram identificadas cinco famílias com pelo menos duas variantes patogênicas na linhagem germinativa em genes relacionados ao câncer: *MLH1-BRCA2-NBN*, *MLH1-BRCA1*, *MSH2 -ATM*, *MSH6-NF1* e *MLH1-FANCA*.

Com o objetivo de avaliar a sensibilidade de um grande painel com 86 genes, HENN *et al.*, 2019 avaliaram uma coorte com 173 pacientes (grupo U) que apresentavam múltiplos tumores em idade precoce, com suspeita para a síndrome de tumores hereditários (HTS), porém, sem nenhuma variante germinativa inicialmente identificada e 64 pacientes (grupo K) com HTS e um amplo espectro de variantes germinativas conhecidas. Após a utilização do painel, 192 variantes adicionais foram encontradas, 58 no grupo K (0,9 por paciente) e 134 no grupo U (0,8 por paciente). Este estudo demonstrou a importância da utilização de painéis genéticos na detecção de variantes germinativas conhecidas e variantes raras potencialmente patogênicas.

Os testes utilizando painéis multigenes podem abranger genes associados a um ou mais fenótipos específicos de câncer familiar, favorecendo a identificação de pacientes com risco de predisposição hereditária. As sequências provenientes do NGS podem ser depositadas em bancos de dados para serem utilizadas posteriormente por demais oncologistas e pesquisadores, para rastreamento familiar e classificação de variantes. O histórico familiar de um paciente, ainda que este não tenha manifestado o fenótipo tumoral, pode ser utilizado para prevenção do desenvolvimento de tumores neste e em seus familiares. Podem ainda, fornecer informações genéticas clinicamente relevantes para a oncologia de precisão, favorecendo assim um tratamento personalizado e otimizado, em função do perfil genotípico do paciente (LADUCA *et al.*, 2020; LI, WARNER 2020; REID, PAL 2020).

A expansão nos projetos de sequenciamento faz com as análises em grande escala de variantes, com grandes painéis de genes se tornem cada vez mais necessárias. Isto, porque, as variantes comumente conhecidas explicam apenas uma pequena porcentagem dos cânceres hereditários e que há vários genes abrigando alelos raros de predisposição. E ainda, a maioria dos estudos envolvendo variantes de linhagem germinativa em câncer abordaram tipos únicos e específicos de câncer, mesmo diante das evidências de que alguns cânceres possam compartilhar genes e variantes de predisposição (KUAN-LIN *et al.*, 2018).

O Laboratório Personal, privado, localizado em Belo Horizonte, Brasil, utiliza a tecnologia NGS para sequenciamento de exomas tumorais e germinativos, com painéis genéticos envolvendo diversos genes relacionados ao desenvolvimento de vários tipos de câncer. Atualmente, o laboratório utiliza quatro painéis, sendo: 1 painel, abordando unicamente os genes *BRCA1* e *BRCA2*; 1 painel específico para os cânceres de mama e ovário, abordando 26 genes, incluindo os genes *BRCA1* e *BRCA2*; 1 painel de 41 genes e 1 painel expandido, com 141 genes. Os pacientes são submetidos à triagem genética e o painel a ser utilizado depende da situação clínica de cada paciente. As variantes encontradas e seus respectivos genes são catalogadas no banco de dados do próprio laboratório. Nas análises de bioinformática podem ser detectadas variantes encontradas em demais genes, além dos estabelecidos no painel, o que configura os achados incidentais e que também são anotadas no banco de dados.

A patogenicidade das variantes encontradas é classificada conforme as recomendações e diretrizes propostas pelo (ACGM) e a AMP, que levam em consideração vários critérios para classificar as variantes (ANEXO 1). De acordo com esses critérios as variantes são classificadas desde muito fortemente patogênicas, passando por fortemente patogênicas, moderadamente patogênicas, de suporte patogênicas, de suporte benignas, até fortemente benignas. Podem ocorrer conflitos em função de algumas variantes obterem classificações distintas em diferentes laboratórios. Por esta razão, o ACGM estabeleceu combinações de possíveis classificações a fim da obtenção de um consenso (ANEXO 2) em relação ao grau de Patogenicidade/Benignidade final (RICHARDS *et al.*, 2015).

Considerando a evolução do conhecimento científico e dos testes genéticos, faz-se necessário reclassificar periodicamente as variantes, em função da identificação de informações e evidências adicionais, conforme demonstrado no estudo realizado por MERSCH *et al.*, 2018. Neste estudo, as autoras realizaram uma análise retrospectiva de uma coorte de indivíduos submetidos a testes genéticos entre os anos de 2006 a 2016 em um único laboratório comercial e de prontuários de pacientes da Universidade do Sudoeste do Texas (UTSW) Medical Center. As autoras deste estudo identificaram que a reclassificação para uma categoria clínica diferente foi rara entre variantes únicas inicialmente classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas (0,7%, 61 de 9112) e benigno ou provavelmente benigno (0,2%, 15 de 8995). No entanto, 7,7% (2.048 de 26.670) de variantes únicas de significado incerto foram reclassificadas: 91,2% (1867 de 2048) foram rebaixadas para benignas ou provavelmente benignas e 8,7% (178 de 2048) foram atualizadas para variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas. Esse estudo demonstrou a importância de um programa de reclassificação de variantes eficiente e preciso. Seja para garantir um manejo clínico atualizado e reduzir o risco de câncer hereditário quando variantes classificadas de significado incerto forem atualizadas para patogênicas ou provavelmente patogênicas, ou seja para minimizar o risco de manejo inadequado e ansiedade desnecessária, quando se referir a reclassificação de variante de significância incerta para benigna.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Analisar o banco de dados de genotipagem germinativa com painel de genes de tumores hereditários do Laboratório Personal, a fim de traçar um perfil descritivo do banco, em relação aos principais tipos de câncer, genes e variantes anotadas.

2.2 Objetivos Específicos:

- Determinar a frequência relativa das variantes.
- Determinar a predominância de algumas variantes na população analisada.
- Determinar a prevalência da Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus (MINAS), bem como o genótipo e fenótipo associado.
- Investigar por que indivíduos com as mesmas variantes possuem perfis clínicos diferentes.
- Correlacionar os indivíduos com múltiplas variantes com o fenótipo apresentado.

3. METODOLOGIA

O DNA genômico proveniente de sangue periférico e Swab bucal foi coletado por funcionários do Laboratório Personal Oncologia, privado, localizado em Belo Horizonte, Brasil. No Laboratório Personal, as variantes foram identificadas através da utilização do Sequenciador de Nova Geração Ion Torrent S5 e painéis germinativos que abordam as regiões codificantes, sítios de splicing e regiões promotoras de genes relacionados ao desenvolvimento de tumores. Foi utilizada também PCR por tecnologia digital em gotas – Digital Droplet. São utilizados os seguintes painéis genéticos: painel exclusivo *BRCA1* e *BRCA2*; painel de triagem mama e ovário (*ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MRE11*, *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PIK3CA*, *PMS1*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *SMARCA4*, *STK11*, *TP53*, *XRCC2*, painel de triagem 41 genes (*APC*, *ATM*, *AXIN2*, *BARD1*, *BMPR1A*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CDK4*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *EPCAM*, *FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCL*, *FANCM*, *GALNT12*, *HOXB13*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MUTYH*, *NTHL1*, *PALB2*, *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *SMAD4*, *STK11*, *TP53*) e painel de triagem estendido de 141 genes (*AIP*, *ALK*, *APC* (inclui promotor), *ARHGAP30*, *ATM*, *ATR*, *AXIN2*, *BAP1*, *BARD1*, *BLM*, *BMPR1A* (inclui promotor), *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *BUB1B*, *CASR*, *CDC73*, *CDH1*, *CDK4*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CEBPA*, *CTC1*, *CTNNA1*, *CEP57*, *CHEK2*, *CYLD*, *DDB2*, *DICER1*, *DIS3L2*, *DKC1*, *EGFR*, *EGLN1*, *EPCAM*, *ERCC1*, *ERCC2*, *ERCC3*, *ERCC4*, *ERCC5*, *EXT1*, *EXT2*, *EZH2*, *FAN1*, *FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCL*, *FANCM*, *FH*, *FLCN*, *GALNT12*, *GATA2*, *GPC3*, *GREM1* (inclui promotor e enhancer), *HNF1A*, *HOXB13*, *HRAS*, *KIF1B*, *KIT*, *KMT2D* (*MLL2*), *LZTR1*, *MAX*, *MC1R*, *MDH2*, *MEN1*, *MERTK*, *MET*, *MITF*, *MLH1* (inclui promotor), *MLH3*, *MRE11* (*MRE11A*), *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *NF1*, *NF2*, *NHP2*, *NOP10*, *NSD1*, *NTHL1*, *PALB2*, *PDGFRA*, *PHOX2B*, *PIK3CA*, *PMS1*, *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *POLH* (inclui promotor), *POT1*, *PRF1*, *PRKAR1A*, *PRSS1*, *PTCH1*, *PTCH2*, *PTEN* (inclui promotor), *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RB1*, *RECQL4*, *RET*, *RHBDF2*, *RNF43*, *RUNX1*, *SBDS*, *SDHA*, *SDHAF2*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SLX4*, *SMAD4*, *SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *STK11*, *SUFU*, *TERT* (inclui promotor), *TINF2*, *TMEM127*, *TP53* (inclui promotor),

TSC1, TSC2, TYR, VHL, WRAP53, WRN (inclui promotor), *WT1, XPA, XPC, XRCC2* e *TER*. Um termo intitulado Termo De Autorização De Exame – Painel Hereditário (ANEXO 3) foi disponibilizado aos pacientes. Neste termo é solicitado aos pacientes o consentimento para o uso da amostra em estudos epidemiológicos realizados pelo laboratório, a fim de contribuir com um melhor entendimento do desenvolvimento tumoral e no auxílio na detecção de novas variantes. Diante disso, as variantes relacionadas ao desenvolvimento de tumores foram catalogadas no banco de dados do laboratório, inclusive variantes encontradas em painéis solicitadas a terceiros e variantes encontradas em análises posteriores de bioinformática, os achados incidentais. As variantes anotadas no banco compreenderam o período entre os anos de 2017 e 2022. Foram comparados os dados anotados no banco do Laboratório Personal Oncologia com os bancos de dados públicos e a literatura especializada, a fim de descrever o perfil geral do banco em relação aos principais tipos de câncer, genes e variantes anotadas. Para isso, foram realizadas buscas no *Varsome, Clinvar, National Cancer Database (NCDB), Leiden Open Variation Database for MINAS, e National Center for Biotechnology Information (NCBI)*.

4. RESULTADOS

4.1 O Banco de Dados do Laboratório

Os resultados deste estudo, referem-se a análise do banco de dados do Laboratório Personal. A análise do banco foi realizada no ano de 2022. Os dados entregues para a análise compreenderam o período entre os anos de 2017 (segundo semestre) a 2022 (primeiro semestre). Neste estudo foram identificados 89 genes. A Figura 6A representa todos os genes anotados no banco de dados do laboratório no referido período. A Figura 6B representa os genes com maiores quantidades de variantes, em porcentagem.

A



B

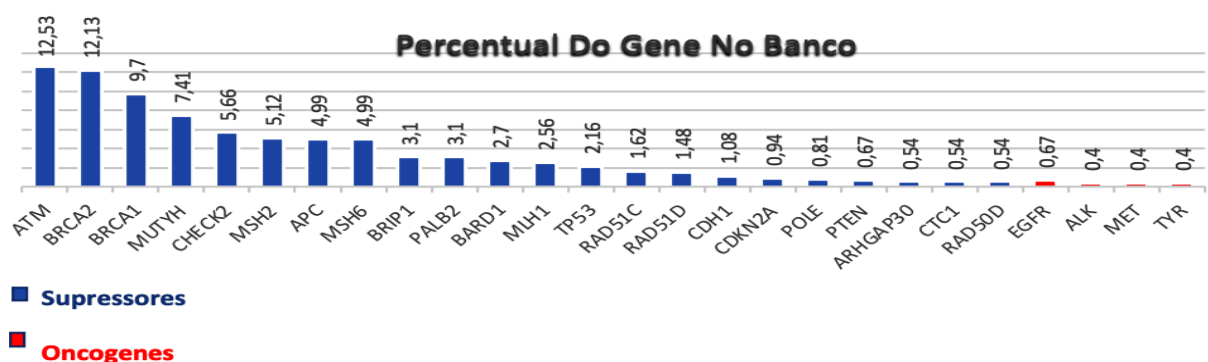


Figura 6. Genes identificados no Banco de Dados do Laboratório Personal.

Legenda: Genes e variantes. **A.** Genes encontrados no banco com variantes associadas ao câncer. O tamanho da fonte está relacionado a quantidade de variantes encontradas em cada gene. **B.** Os genes ATM, BRCA2, BRCA1, MUTYH, CHECK2, MSH2, APC, MSH6, , BRIP1, PALB2, BARD1, MLH1, TP53, RAD51C, RAD51D, CDH1, CDKN2A, POLE, PTEN, ARHGAP30, CTC1, RAD50D possuem, nesta ordem, maiores quantidades de variantes entre os supressores, e os genes EGFR, ALK, MET, TYR possuem, nesta ordem, maiores quantidades de variantes entre os oncogenes.

Dos 89 genes catalogados, 72 (80,89%) foram identificados como supressores de tumor, 8 (8,98%) como oncogenes e 9 (10,11%) de função dupla ou desconhecida (Figura 7), conforme levantamento realizado na literatura especializada, através do site do National Center for Biotechnology Information (GENE, 2022). Entre os supressores de tumor, foram identificados genes envolvidos no *checkpoint* celular, verificação e reparo do DNA.

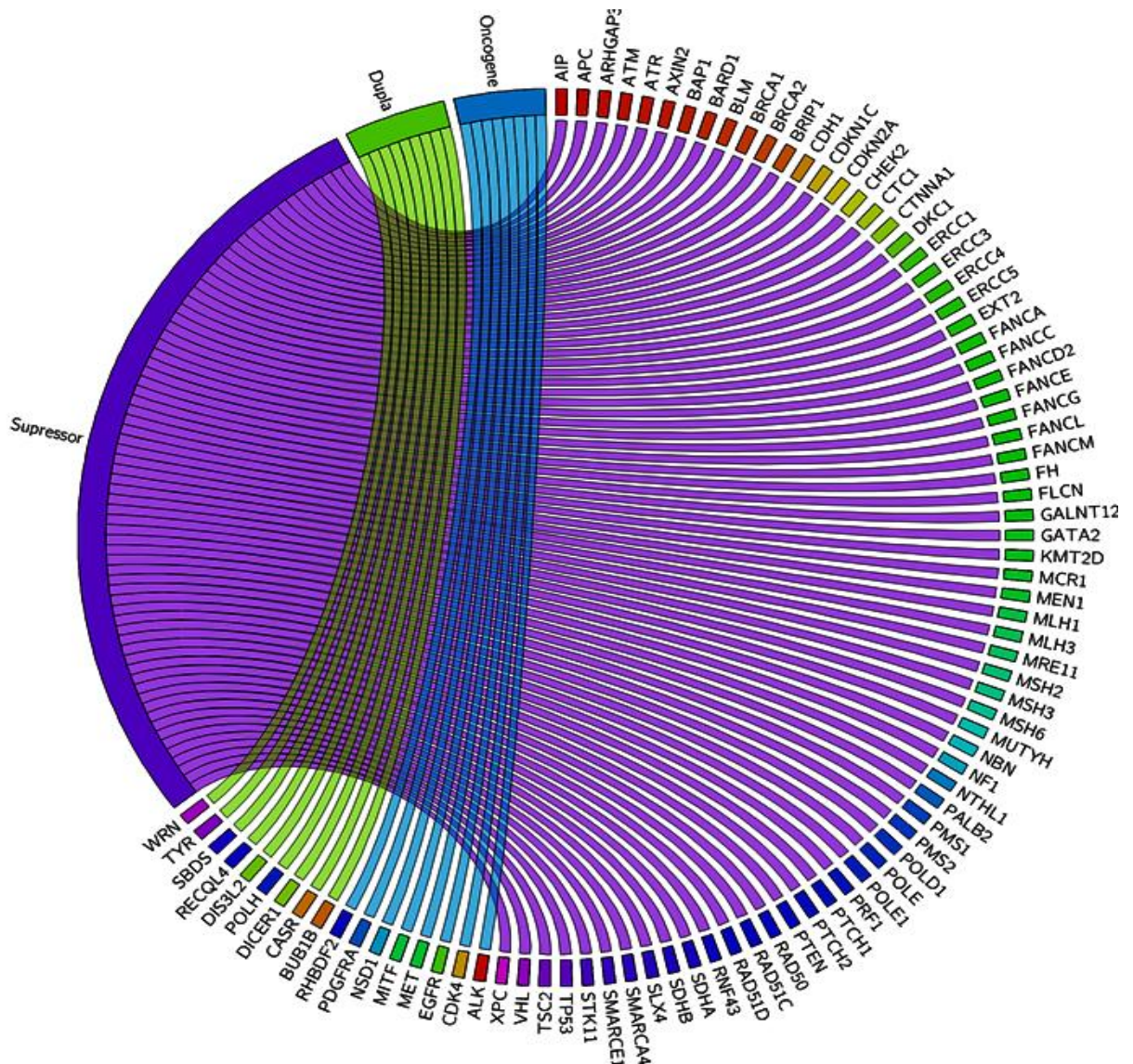


Figura 7: Distribuição dos 89 genes encontrados no banco. Distribuição da funcionalidade de todos os genes catalogados do banco de dados do laboratório: supressores de tumor, oncogenes ou dupla função. Fonte: elaborado pelo autor, conforme levantamento em literatura especializada (GENE, 2022).

Foram identificadas 569 variantes no banco de dados do laboratório até o primeiro semestre de 2022. No período correspondente a esta análise foram genotipados 537 pacientes. Como algumas variantes foram identificadas em vários pacientes, o total de variantes catalogadas foram de 757. A distribuição das variantes por pacientes está apresentada na Tabela 2 (Para acesso a Tabela completa 2 completa, clicar em: [Link de acesso à Tabela 2 completa](#)).

Tabela 2 - Distribuição de variantes por pacientes no Banco de Dados do Laboratório Personal (para acesso à tabela completa clicar em: [Link de acesso à Tabela 2 completa](#)).

Paciente	Gene	Variante	Fenótipo
1906	<i>BRCA1</i>	c.190T>C; p.Cys64Arg	Câncer de mama triplo negativo aos 45 anos.
2020	<i>MUTYH</i>	c.985G>A, p.Val329Met	C50.9
18003	<i>BRCA1</i>	c.4258C>T, p.Gln1420Ter	Não informado.
18008	<i>ATM</i>	c.1236-2A>G	Não informado.
18014	<i>PALB2</i>	c.3194C>G; p.Ser1065Cys	Câncer gástrico difuso aos 42 anos; câncer de intestino aos 40 anos; pólipos múltiplos.
18015	<i>MSH2</i>	c.2152C>T; p.Gln718Ter	Não informado.
	<i>MSH6</i>	c.3019T>C, p.Trp1007Arg	Não informado.
18017	<i>MUTYH</i>	c.1187G>A; p.Gly396Asp	Câncer de mama.
18018	<i>MSH2</i>	c.1130A>G; p.Gln377Arg	Assintomática.
18019	<i>MSH6</i>	c.2667G>T; p.Gln889His	Câncer de mama.
18021	<i>ATM</i>	c.8156G>A; p.Arg2719His	Câncer de mama aos 42 anos.

CID C50.9: Carcinoma da Glândula Mamária, CDIS: Carcinoma ductal in situ, CID C54.1: Adenocarcinoma do Endométrio, CID C16: Neoplasia maligna do estômago, CID C56: Neoplasia maligna do ovário. (World Health Organization, 2013)

4.2 Frequência Relativa das Variantes e a Quantidade

Na Tabela 3 (acesso à tabela completa através do link: [Tabela 3 completa](#)) estão listadas as 569 variantes em ordem decrescente de quantidade, bem como a frequência relativa de cada uma. A frequência relativa foi calculada dividindo a quantidade de cada variante pelo número total encontrado no banco.

Tabela 3 - Frequência relativa das variantes e a quantidade no Banco de Dados do laboratório Personal (acesso à tabela completa através do link: [Tabela 3 completa](#))

Gene	Variante	Quantidade Da Variante no Banco	Frequência Relativa
<i>TP53</i>	c.1010G>A; p.Arg337His	14	1,85%
<i>MUTYH</i>	c.1187G>A; p.Gly396Asp	13	1,72%
<i>BRCA1</i>	c.5329_5330insC; p.Gln1777fs	9	1,19%
<i>MUTYH</i>	c.536A>G; p.Tyr179Cys	9	1,19%
<i>BRCA2</i>	c.2808_2811delACAA; p.Ala938Profs	6	0,79%
<i>MSH2</i>	c.2152C>T; p.Gln718Ter	5	0,66%
<i>BRCA1</i>	c.3331_3334delCAAG; p.Gln1111Asnfs	5	0,66%
<i>MSH2</i>	c.380A>G; p.Asn127Ser	5	0,66%
<i>CHEK2</i>	c.599T>C; p.Ile200Thr	5	0,66%
<i>ATM</i>	c.8156G>A; p.Arg2719His	5	0,66%
<i>BRIP1</i>	c.2220G>T; p.Gln740His	4	0,53%
<i>MSH6</i>	c.3019T>C; p.Trp1007Arg	4	0,53%
<i>ATM</i>	c.3240C>A; p.Asp1080Glu	4	0,53%
<i>MSH6</i>	c.3299C>G; p.Thr1100Arg	4	0,53%
<i>BRCA1</i>	c.4040G>A; p.Arg1347Lys	4	0,53%
<i>CHEK2</i>	c.478A>G; p.Arg160Gly	4	0,53%
<i>ATM</i>	c.5821G>C; p.Val1941Leu	4	0,53%
<i>BRCA2</i>	c.6988A>G; p.Ile2330Val	4	0,53%
<i>BRCA2</i>	c.8716-1G>A IVS19-1G>A	4	0,53%

4.3 Variantes mais frequentes x cânceres com maiores ocorrências

Para a definição de variantes mais frequentes foram consideradas aquelas encontradas no mínimo 4 vezes no banco, de acordo com a Tabela 3. Em relação aos tipos de câncer mais frequentes, a contagem foi realizada levando em consideração o câncer manifestado apenas no paciente registrado no banco, e não em parentes. Os tipos, a quantidade e a distribuição dos cânceres encontrados no banco de dados do laboratório estão representados na Figura 8.

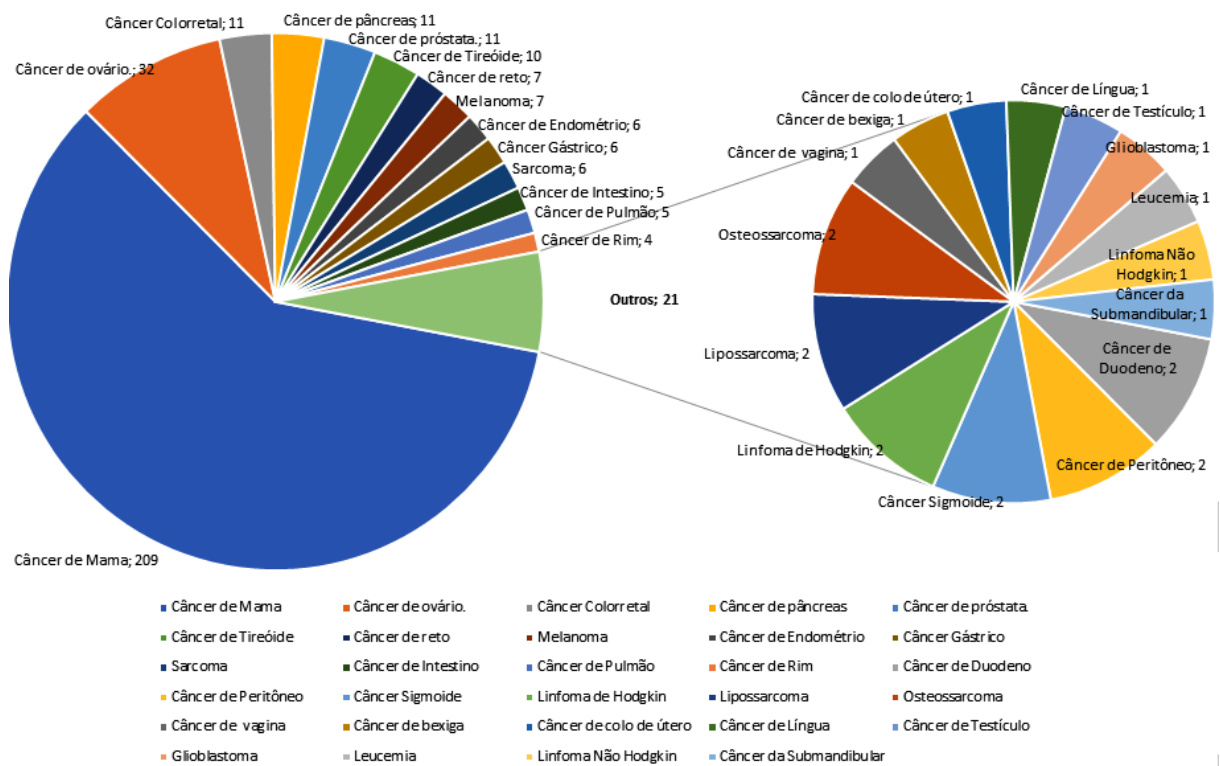


Figura 8: Distribuição e quantidade dos cânceres registrados no banco de dados do Laboratório Personal. Os cânceres de mama (n= 209), ovário (n= 32), colorretal (n=11), pâncreas (n=11), e próstata (n=11) foram encontrados com maiores frequências no banco de dados do Laboratório Personal.

A Tabela 4 abaixo apresenta a associação entre as variantes mais frequentes, localizadas nos genes *MUTYH*, *BRCA2*, *ATM*, *MSH2* e *BRCA1* e os quatro cânceres com maiores ocorrências no banco, mama, ovário, colorretal e pâncreas.

Tabela 4 - Variantes mais frequentes e cânceres associados.

Gene	Variantes Mais frequentes	Tumores Mais Frequentes Associados
<i>MUTYH</i>	c.1187G>A; p.Gly396Asp	Mama e Pâncreas
<i>BRCA2</i>	c.6988A>G; p.Ile2330Val	
<i>BRCA2</i>	c.2808_2811delACAA; p.Ala938Profs	Mama, Ovário e Pâncreas
<i>ATM</i>	c.3240C>A; p.Asp1080Glu	Mama e Ovário
<i>MSH2</i>	c.380A>G; p.Asn127Ser	
<i>BRCA1</i>	c.5329_5330insC; p.Gln1777fs	
<i>BRCA2</i>	c.2808_2811delACAA; p.Ala938Profs	
<i>MUTYH</i>	c.536A>G; p.Tyr179Cys	Cólon, Mama e Ovário.

A Tabela 5 abaixo foi elaborada para demonstrar a penetrância dos genes com maiores quantidades de variantes (conforme Figura 6B), em relação aos 4 tipos de cânceres mais frequentes (mama, ovário, colorretal e pâncreas). A penetrância para cada um dos genes foi baseada no compilado dos trabalhos de AKRAS *et al.*, 2019; TSAOUSIS, PAPADOPOULOU, 2019 e TAEUBNER *et al.*, 2018

Tabela 5: Genes com mais variantes e a penetrância em relação aos cânceres mais frequentes no banco.

	Câncer de Mama	Câncer de Ovário	Câncer de Cólon	Câncer de Pâncreas
Alta Penetrância	<i>BRCA1, BRCA2, TP53, PTEN, CDH1</i>	<i>BRCA1, BRCA2,</i>	<i>MUTYH, MSH2, APC, MSH6, MLH1, POLE</i>	
Penetrância Moderada	<i>ATM, CHECK2, PALB2, RAD51C, RAD51D, RAD50D, BARD1</i>	<i>ATM, CHECK2, MSH2, BRIP1, PALB2, BARD1, MLH1, RAD51C, RAD51D, RAD50D</i>	<i>TP53, CHECK2</i>	<i>TP53</i>
Baixa Penetrância	<i>MUTYH, MSH2, MSH6, BRIP1, MLH1</i>	<i>MSH6, TP53</i>	<i>CDKN2A, PTEN, ATM</i>	<i>BRCA1, BRCA2, ATM, APC, MSH6, PALB2, MLH1, CDKN2A</i>

Fonte: AKRAS *et al.*, 2019; TSAOUSIS, PAPADOPOULOU, 2019 e TAEUBNER *et al.*, 2018

4.4 Classificação Das Variantes

As variantes catalogadas no banco de dados do laboratório foram classificadas em relação à patogenicidade seguindo os critérios da ACGM e AMP, conforme descrito no Quadro 2 (ANEXO 1) (RICHARDS *et al.*, 2015). Das variantes catalogadas, 26,71% corresponderam a variantes patogênicas, 5,52 % corresponderam a variantes provavelmente patogênicas e 67,76% corresponderam a variantes de significância incerta (VUS), conforme descrito na Tabela 6 (acesso a tabela completa através do link: Classificação das Variantes)

4.5 Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus

Considerando a definição de MINAS (Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome), citada anteriormente, foram identificados 4 pacientes no banco de dados do laboratório com mais de uma variante patogênica em linhagem germinativa de genes relacionados ao desenvolvimento de tumores, conferindo possibilidade da ocorrência da síndrome, conforme apresentado na (Tabela 7).

Tabela 7 - Possíveis pacientes de MINAS e variantes relacionadas

Gene	Variante	Paciente	Informação Fenotípica
<i>BRCA2</i>	c.2808_2811delACAA; p.Ala938Profs	18455	Câncer de mama aos 35 anos
<i>MUTYH</i>	c.1187G>A, p.Gly396Asp		
<i>BRCA2</i>	c.2T>G; p.Met1Arg	19269	História pessoal e familiar de câncer
<i>CHEK2</i>	c.599T>C, p.Ile200Thr		
<i>TP53</i>	c.949delC; p.Gln317fs	19362	Glioblastoma de alto grau aos 14 anos, mãe com câncer de mama aos 23 anos.
<i>BRCA2</i>	c.2808_2811delACAA; p.Ala938Profs		
<i>MSH6</i>	c.3260C>A; p.Pro1087His		
<i>BRCA1</i>	c.5329_5330insC; p.Gln1777fs	20127	Nódulos na mama e história familiar de câncer de mama e útero. Mãe com variante patogênica em <i>BARD1</i> , <i>BRCA1</i> e <i>MUTYH</i>
<i>MUTYH</i>	c.1187G>A, p.Gly396Asp		

Pacientes do banco com mais de uma variante patogênica em genes relacionados ao desenvolvimento de tumores.

4.6 Pacientes com as mesmas variantes e fenótipos diferentes

Dos 537 pacientes registrados no banco de dados do Laboratório Personal, 62 (11,54%), foram reunidos em 28 grupos com a mesma variante e fenótipos diferentes, conforme apresentado na Tabela 8. Alguns pacientes apresentaram tumores diferentes do que se espera para variantes de determinados genes. Por exemplo, o paciente 18391, apresentando câncer de pâncreas aos 16 anos, associado a variante do gene *MSH6*, mais comumente associado ao câncer de cólon, reto ou síndrome de Lynch; paciente 19004, apresentando câncer de reto com metástase e o paciente 19026 apresentando melanoma metastático aos 42 anos, ambos associados a variantes do gene *BRCA1*, mais comumente associado ao câncer de mama e ovário.

Tabela 8: Pacientes com a mesma variante e fenótipos diferentes.

Gene	Variante	Paciente	Fenótipo
<i>BRIP1</i>	139C>G; p.Pro47Ala	18105	Lesões polipoides.
		21759	Câncer de mama RH negativo, Her2 hiperexpresso, diagnosticado aos 45 anos de idade. Histórico familiar desconhecido.
<i>RHBDF2</i>	c.2179G>A; p.Val727Met	21693	Lipossarcoma de baixo grau (27 anos) e câncer de mama (35 anos).
		21695	Melanoma cutâneo aos 41 anos e câncer de próstata aos 53 anos; história familiar de câncer de intestino e próstata.
<i>PALB2</i>	c.229T>C; p.Cys77Arg	19206	Assintomática com cistos na mama.
		19303	Câncer de próstata de alto grau.
		20356	Suspeita de síndrome hereditária de predisposição a câncer.
<i>ATM</i>	c.2494C>T; p.Arg832Cys	18321	Adenocarcinoma de peritônio/ovário recidivado.
		21413	Portador de vários sarcomas de partes moles (lipossarcoma), além de carcinoma pancreático. História familiar positiva para câncer de mama.
<i>ATM</i>	c.2932T>C; p.Ser978Pro	18454	Tumor desmóide.
		19349	Câncer de ovário.
<i>MSH6</i>	c.3019T>C, p.Trp1007Arg	18356	Pólipos colônicos aos 40 anos.
		18391	Câncer de pâncreas aos 16 anos.
<i>ATM</i>	c.3240C>A; p.Asp1080Glu	19245	Câncer de ovário aos 50 anos.
		20016	Câncer de mama bilateral; história familiar rica em vários tumores.

Gene	Variante	Paciente	Fenótipo
MSH6	c.3260C>A; p.Pro1087His	19362	Glioblastoma de alto grau aos 14 anos, mãe com câncer de mama aos 23 anos.
		21043	Assintomático.
MSH6	c.3299C>G; p.Thr1100Arg	18077	Paciente de 44 anos com diagnóstico de câncer de mama estágio III.
		21094	Lesão cística septada no pâncreas; história familiar de câncer de próstata e pâncreas.
MSH2	c.380A>G; p.Asn127Ser	19486	Adenocarcinoma de reto intramucoso e história familiar de câncer de reto.
		19555	Câncer de ovário endometrióide direito e história familiar de câncer gástrico, de testículo e cerebral.
		19589	Câncer de mama triplo negativo em idade precoce.
BRCA1	c.4453C>A; p.Pro1485Thr	19004	Câncer de reto com metástase.
		19026	Melanoma metastático aos 42 anos.
CHEK2	c.449-5T>A	20316	Paciente com câncer de mama.
		21384	Paciente hígida com história familiar compatível com Li Fraumeni.
ATM	c.5821G>C; p.Val1941Leu	18034	Câncer de ovário.
		20110	História familiar altamente positiva para câncer de mama e pâncreas.
RAD51C	c.656T>C; p.Leu219Ser	18100	Assintomática.
		18204	Câncer de mama bilateral.
BRCA2	c.6988A>G; p.Ile2330Val	18259	Câncer de pâncreas.
		18434	Câncer de mama aos 29 anos.
BRCA2	c.7712A>G; p.Glu2571Gly	18296	Câncer de células claras vagina/ovário.
		19611	Adenocarcinoma de próstata; história familiar de câncer de próstata e pulmão.
ATM	c.8156G>A; p.Arg2719His	18021	Câncer de mama aos 42 anos.
		18090	Câncer de tireoide.
		21321	Adenoma serrilhado séssil, com displasia de baixo grau; história familiar de câncer de cólon.
ATM	c.8560C>T; p.Arg2854Cys	18097	Câncer de mama recidivado.
		19256	Neoplasia de próstata aos 58 anos.

Gene	Variante	Paciente	Fenótipo
<i>MUTYH</i>	c.985G>A, p.Val329Met	18062	Pólipo gástrico.
		2020	C50.9
<i>MUTYH</i>	c. 1147delC; p.Ala385Profs	18230	Câncer de mama.
		19481	CID: C56
<i>TP53</i>	c.1010G>A; p.Arg337His	19469	Câncer de mama bilateral aos 33 anos triplo positivo.
		20065	Adenocarcinoma de duodeno com 33 anos e história familiar de câncer de endométrio.
		21542	Paciente com sarcoma de glúteo, adenocarcinoma de mama, carcinoma de tireoide; história familiar rica em várias neoplasias.
		21597	História familiar teste genético positivo.
<i>MUTYH</i>	c.1187G>A; p.Gly396Asp	18017	Câncer de mama.
		18259	Câncer de pâncreas.
<i>BRCA1</i>	c.1687C>T; p.Gln563Ter	18215	Câncer de mama triplo negativo aos 40 anos.
		21690	Cistoadenocarcinoma papilar seroso com história familiar altamente positiva para câncer de ovário.
<i>MSH6</i>	c.2194C>T; p.Arg732Ter	18222	Câncer de mama aos 40 anos.
		19446	Carcinoma de células renais de alto grau inclassificável por IHQ. História familiar de câncer de mama e útero.
<i>BRCA2</i>	c.2808_2811delACAA; p.Ala938Profs	18455	Câncer de mama aos 35 anos.
		19038	Câncer de pulmão aos 77 anos, câncer de pâncreas aos 79 anos.
		19362	Glioblastoma de alto grau aos 14 anos, mãe com câncer de mama aos 23 anos.
<i>BRCA1</i>	c.3817C>T; p.Gln1273Ter	21004	Câncer de mama aos 28 anos; história familiar de câncer de mama bilateral.
		20160	Adenocarcinoma de ovário seroso de alto grau.
<i>BRCA1</i>	c.5329_5330insC; p.Gln1777fs	18024	Carcinoma papilar seroso de ovário.
		18267	Câncer de mama aos 48 anos, triplo negativo.
		21623	Assintomática; teste preditivo para a variante germinativa familiar BRCA1 Gln1756Profs detectada em duas filhas.
<i>MUTYH</i>	c.536A>G; p.Tyr179Cys	18386	Câncer cólon e polipose.
		18321	Adenocarcinoma de peritônio/ovário recidivado.
		19379	Câncer de mama triplo negativo aos 38 anos; desconhece história familiar.
		19623	Câncer de testículo e história familiar rica em tumores variados.

CID C50.9: Carcinoma da Glândula Mamária, CID C56 : Neoplasia maligna do ovário (World Health Organization, 2013)

4.7 Pacientes com diferentes variantes e mesmo fenótipo

Dos 537 pacientes identificados no banco de dados do Laboratório Personal, 312 (58,10%) foram reunidos em 21 grupos, sendo que cada grupo apresentava diferentes genes e variantes e um mesmo fenótipo de câncer, conforme apresentado na Tabela 9 (acesso à tabela completa através do link: Tabela 9 completa)

Tabela 9: Pacientes com diferentes variantes e fenótipos idênticos (acesso à tabela completa através do link: Tabela 9 completa)

Gene	Variante	Paciente	Fenótipo
<i>BRCA2</i>	c.8360G>A; p.Arg2787His	18208	Câncer de cólon.
<i>MSH6</i>	c.334A>G; p.Asn112Asp	20377	
<i>MUTYH</i>	c.536A>G; p.Tyr179Cys	18386	
<i>BARD1</i>	c.298C>T; p.Gln100Ter	18183	
<i>BARD1</i>	c.2252G>A; p.Arg751Gln	20381	
<i>MSH2</i>	c.2321T>C; p.Ile774Thr	18445	
<i>MSH2</i>	c.2575G>T; p.Glu859Ter	19224	
<i>BARD1</i>	c.266C>T; p.Pro89Leu	19470	Adenocarcinoma de duodeno.
<i>TP53</i>	c.1010G>A; p.Arg337His	20065	
<i>MUTYH</i>	c.1228_1229insGG; p.Glu410fs	18167	Adenocarcinoma de reto.
<i>MSH2</i>	c.380A>G; p.Asn127Ser	19486	
<i>MUTYH</i>	c.1508G>A; p.Gly503Glu	18456	Câncer de endométrio.
<i>MSH6</i>	c.719G>A; p.Arg240Gln	18438	
<i>CDK4</i>	c.770T>A; p.Val257Glu	21176	
<i>CDKN2A</i>	c.301G>T; p.Gly101Trp	18241	

5 DISCUSSÃO

5.1 Descrição Geral do Banco de Dados do Laboratório Personal

O banco de dados do Laboratório Personal consiste em anotações de variantes germinativas. Portanto, variantes herdadas em genes de predisposição ao câncer (CPG), os genes supressores e os oncogenes. Em se tratando de genes de susceptibilidade ao câncer, os genes supressores de tumor apareceram com maior frequência no Banco de Dados do Laboratório Personal, como representado na Figura 7. Estes genes possuíam maiores quantidades de variantes em comparação aos oncogenes (Figura 6B). Esse resultado, juntamente com as características da maioria dos tumores apresentados nos indivíduos da Tabela 2, como, idade precoce e vários tumores bilaterais, vai de encontro com o esperado para bancos de tumores hereditários, como proposto no estudo de RAMROOP *et al.*, 2019. Neste, os autores utilizaram o modelo proposto por Alfred Knudson 1971, hoje conhecida como a “hipótese dos dois golpes”, para propor que indivíduos que herdaram uma variante patogênica (PV) em um gene supressor podem desenvolver tumores mais precocemente em comparação com indivíduos que não herdaram a variante. Indivíduos que herdaram uma variante patogênica em um gene supressor de tumor necessitariam apenas de outra variante somática no alelo selvagem para a perda da heterozigosidade (LOH). Neste mesmo trabalho, os autores destacaram a relação das instabilidades geradas no genoma tumoral, como as instabilidades de microssatélites (MSI), influenciadas por variantes germinativas. As instabilidades de microssatélites foram observada em alta frequência no câncer colorretal (CRC) com variantes patogênicas (PVs) em genes de reparo por incompatibilidade.

Os tumores mais frequentes encontrados no banco foram os de mama (n= 209), ovário (n= 32), colorretal (n=11), pâncreas (n=11) e próstata (n=11), conforme demonstrado na Figura 8. As Tabelas 4 e 5 apresentam, respectivamente, as variantes mais frequentes associadas aos tumores mais comuns e a penetrância dos genes mais frequentes em relação aos cânceres mais comuns. Estas informações permitiram uma melhor descrição do banco no que se refere aos principais tipos de tumores, os genes mais frequentes e a penetrância destes genes. Estas informações, combinadas, permitem uma possível avaliação do rendimento e

validade clínica dos painéis multigênicos, como os utilizados no Laboratório Personal, conforme proposto por SHAH, NATHANSON, 2017.

5.2 Análise de Genes e Variantes mais frequentes no Banco de Dados

Como critério para definição das variantes mais frequentes, foi levado em consideração aquelas encontradas no mínimo quatro vezes no banco de dados do laboratório, conforme Tabela 3. As variantes mais frequentes e suas relações com os quatro principais tipos de câncer foram apresentadas na Tabela 4.

As variantes c.1187G>A; p.Gly396Asp do gene *MUTYH* (patogênica) e c.6988A>G; p.Ile2330Val do gene *BRCA2* (VUS) foram encontradas associadas ao câncer de mama e ao câncer de pâncreas. Quando associadas ao câncer de pâncreas, ambas estavam presentes em um mesmo paciente. Em relação ao câncer de mama, foram identificadas em diferentes pacientes, sendo a variante c.6988A>G; p.Ile2330Val do gene *BRCA2* em um único paciente e c.1187G>A; p.Gly396Asp do gene *MUTYH* em 5 pacientes. O gene *MUTYH*, localizado no braço curto do cromossomo 1, na posição 1p34.1, codifica a enzima DNA glicosilase, envolvida no reparo por excisão de bases. Em situações envolvendo lesões oxidativas do DNA, a enzima participa da excisão da base adenina, quando esta se encontra incorretamente pareada. Variantes no gene *MUTYH* estão intimamente relacionadas ao câncer colorretal hereditário (*MUTYH DNA GLYCOSYLASE*, 2023). O gene *BRCA2*, localizado no braço longo do cromossomo 13, na posição 13q13.1, participa da manutenção da estabilidade do genoma, via reparo de quebras de fita dupla do DNA. Variantes no gene *BRCA2* estão intrinsecamente relacionadas ao desenvolvimento de tumores de mama e ovário (*BRCA2 DNA REPAIR ASSOCIATED*, 2023). CHAFFEE *et al.*, 2018, avaliaram a prevalência de variantes germinativas em genes de susceptibilidade ao câncer entre pacientes com adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC). No referido estudo, os autores sugeriram maior investigação e estudos adicionais a fim de verificar se *MUTYH* está associado com o PDAC ou se os casos relatados são achados incidentais. Portanto, o paciente com câncer de pâncreas, registrado no banco de dados do Personal, com as variantes nos genes *MUTYH* e *BRCA2*, ambos com baixa penetrância para câncer de pâncreas, não correspondeu ao padrão esperado para pacientes com

variantes nestes genes. Já para os pacientes com câncer de mama, apenas aqueles com variantes em *BRCA2* corresponderam ao fenótipo esperado. O gene *MUTYH* possui baixa penetrância para o câncer de mama

Localizada no gene *BRCA2*, a variante c.2808_2811delACAA; p.Ala938Profs, teve a patogenicidade confirmada pelo Clinvar (CLINVAR [VCV000009322.81], 2022). Um dos critérios que estabeleceu a sua patogenicidade foi a introdução de um códon de término de tradução prematura. No banco de dados do Laboratório Personal, ela apareceu associada aos tumores de mama, ovário e pâncreas. A variante foi identificada em um paciente que apresentou dois tumores (mama e ovário), em 3 pacientes que apresentaram somente tumor de mama e em um paciente que apresentou tumor de pâncreas. Para os tumores de mama e ovário, o resultado é consistente com o que se espera para as variantes do gene *BRCA2*, já reforçado por vários trabalhos, como o de DA COSTA *et al.*, 2020. Neste trabalho, os autores sequenciaram 95 indivíduos do Sudeste do Brasil, diagnosticados com a síndrome de câncer de mama e ovário hereditários (HBOC), utilizando um painel de 21 genes relacionados às vias de reparo do DNA. Dos 95 indivíduos, 25 foram avaliados em relação a inserções e deleções nos genes *BRCA1/BRCA2*. Quatro pacientes apresentaram esta variante, o equivalente a 4,21% da coorte analisada. Para o câncer de pâncreas, o gene *BRCA2* apresenta baixa penetrância. Contudo, como citado no trabalho de ROSEN *et al.*, 2021, estudos relacionados ao câncer de mama identificaram um risco aumentado de 2,3 e 3,5 vezes de câncer de pâncreas em portadores de variantes nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, respectivamente. Dessa forma, síndromes genéticas associadas aos genes de reparo do DNA parecem estar relacionadas ao câncer de pâncreas, embora a causa genética não esteja bem esclarecida.

Localizada no éxon 22 do gene *ATM*, na posição 11q22.3, a variante c.3240C>A; p.Asp1080Glu, de sentido trocado, possui 7 submissões no Clinvar. Destas, 6 foram consideradas de significância incerta (VUS) e 1 provavelmente benigna. As submissões dessa variante no Clinvar não foram precisas em relação a sua patogenicidade, considerando que as previsões *in silico* para a variante foram inconclusivas, além de não haver evidências de impacto funcional ao nível da proteína (CLINVAR [VCV000407683.12], 2022). O gene *ATM* está localizado no cromossomo 11, mais precisamente na posição 11q22–23, possui 66 éxons e

codifica uma proteína de 3056 aminoácidos. A proteína ATM tem papel fundamental no reconhecimento e reparo de quebras de fita dupla do DNA (DSBs). ATM participa da ativação da proteína supressora de tumor P53 e a atividade reduzida de ambas estão relacionadas a vários tipos de câncer (ESTIAR, MEHDIPOUR, 2018). A variante c.3240C>A; p.Asp1080Glu do gene *ATM* apareceu associada aos cânceres de mama e ovário em dois pacientes, sendo um com tumor de mama e outro com tumor de ovário. Considerando ainda que o gene *ATM* possui penetrância moderada para os cânceres de mama e ovário, o resultado encontrado no banco está em consonância com a literatura.

A variante c.380A>G; p.Asn127Ser, localizada no éxon 3 do Gene *MSH2*, possui 25 submissões no Clinvar com as seguintes interpretações: 1 não fornecida, 1 patogenicidade desconhecida, 1 significado incerto (VUS), 2 provavelmente benignas e 20 benignas. O conflito em relação a patogenicidade da variante deveu-se ao fato de que alguns estudos funcionais a consideraram benigna por não afetar a via de reparo de incompatibilidade ou despareamento no DNA (MMR), enquanto outros consideraram a sua capacidade de reduzir a atividade desta via (CLINVAR [VCV000036577.30], 2022). A Sociedade Internacional de Tumores Hereditários Gastrointestinais (InSiGHT) realizou uma investigação sistemática de 24 variantes dos genes *MLH1* e *MSH2* a fim de melhorar os critérios de classificação das variantes dos genes de reparo de incompatibilidade ou despareamento (MMR). Neste trabalho, realizado por TRICARICO *et al.*, 2017 a variante c.380A>G; p.Asn127Ser do Gene *MSH2* não mostrou efeitos significativos, sendo, portanto, confirmada como não patogênica. Foram identificados no banco dois pacientes com câncer de mama, um paciente com câncer de ovário e nenhum paciente com Síndrome de Lynch ou câncer colorretal, mesmo com forte evidência da participação da variante neste tipo e câncer. Esses resultados não corroboram com o esperado, uma vez que o gene *MSH2* possui baixa penetrância para o câncer de mama e alta para a Síndrome de Lynch e câncer colorretal.

Localizada no gene *BRCA1*, a variante c.5329_5330insC; p.Gln1777fs (c.5266dupC; p.Gln1756Profs*74), foi considerada patogênica por alterar a sequência de aminoácidos da proteína e ainda, com um códon de terminação prematuro (CLINVAR [VCV000017677.88], 2022). O gene *BRCA1*, localizado no braço longo do cromossomo 17, na posição 17q21.31, codifica uma fosfoproteína

nuclear de 190 KD que, associada a outros supressores de tumor, forma o complexo de vigilância do genoma associado a *BRCA1* (BASC). Este complexo de proteínas está envolvido no reparo de quebras de fita dupla do DNA, recombinação e indução da apoptose celular. Variantes neste gene estão intimamente relacionadas aos casos de câncer de mama e ovário hereditários, na ordem de 40% e 80% respectivamente (BRCA1 DNA REPAIR ASSOCIATED, 2023). COTRIM, *et al.*, 2019 avaliaram 158 pacientes com carcinoma de ovário submetidas a testes genéticos germinativos dos genes *BRCA1/2* no AC Camargo Cancer Center (Brasil), entre 2015 e 2017. Neste trabalho, os autores demonstraram a alta prevalência da variante c.5329_5330insC; p.Gln1777fs (c.5266dupC; p.Gln1756Profs*74) do gene *BRCA1*, sendo que esta foi encontrada em cinco pacientes. Destes, quatro apresentavam carcinoma ovariano seroso de alto grau (três com histórico familiar e um sem histórico familiar) e uma apresentava carcinoma ovariano indiferenciado, sem histórico familiar. Com o objetivo de investigar haplótipos em um grupo de famílias brasileiras que herdaram a variante c.5266dupC; p.Gln1756Profs*74 do gene *BRCA1*, GOMES *et al.*, 2020 analisaram 14 probandos heterozigotos não aparentados com a variante c.5266dupC e 26 parentes de oito famílias, entre os anos de 2004 a 2016. Dentre os indivíduos recrutados, 33 eram portadores da variante, sendo que 21 tinham sido diagnosticadas com câncer de mama e/ou ovário em idades variando de 22 a 63 anos (mediana = 43 anos). Destas, 13 apresentaram câncer de mama bilateral, corroborando com outros estudos que associam a variante c.5266dupC; p.Gln1756Profs*74 do gene *BRCA1* ao surgimento de lesões bilaterais da mama. A faixa etária das 12 não afetadas pelo câncer variou de 22 a 66 anos (mediana = 47). Ambos os estudos citados foram consistentes com o trabalho de PALMERO *et al.*, 2018 onde a variante c.5266dupC; p.Gln1756Profs*74 do gene *BRCA1* foi a mais comumente encontrada, correspondendo a 20,2% de todas as variantes do gene *BRCA1*. No banco de dados do Laboratório Personal, um paciente apresentou câncer de ovário e 4 apresentaram câncer de mama associados à variante c.5266dupC; p.Gln1756Profs*74 do gene *BRCA1*. E ainda, esta possuiu a maior frequência relativa entre as variantes do gene *BRCA1*. Estes resultados corroboraram com os resultados dos estudos citados.

Conforme descrito no trabalho realizado por FABIŠÍKOVÁ *et al.*, 2020 a variante patogênica c.536 A>G (p.Tyr179Cys) do gene *MUTYH* confere maior risco

para o desenvolvimento do câncer colorretal (CCR), quando comparada com outras variantes patogênicas do mesmo gene. Neste trabalho, os autores destacaram que, de acordo com estudos funcionais, a média de idade do diagnóstico do CCR é de 46 anos para indivíduos homozigotos *MUTYH* c.536 A>G (p.Tyr179Cys), 52 anos para indivíduos heterozigotos *MUTYH* c.1187 G>A (p.Gly396Asp)/c.536 A>G (p.Tyr179Cys) e 58 anos para indivíduos homozigotos *MUTYH* c.1187G>A (p.Gly396Asp). Uma análise de sequenciamento do exoma completo foi realizada por SCHUBERT *et al.*, 2020 em pelo menos três pacientes com CRC diagnosticados antes dos 60 anos de idade, em uma família composta por 22 indivíduos. Vinte e duas variantes raras foram compartilhadas pelos três pacientes, incluindo a variante em *MUTYH* c.536 A>G, p.Tyr179Cys (NM_001128425.1). Os três indivíduos apresentaram co-herança das variantes germinativas *MSH6* p.Thr1100Met e *MUTYH* c.536 A>G, p.Tyr179Cys. Dados levantados pelo estudo reforçaram a classificação da variante *MUTYH* c.536 A>G, p.Tyr179Cys como patogênica, com frequência na população de 0.001538. Os resultados dos estudos citados reforçam a participação e interação da variante do gene *MUTYH* c.536 A>G, p.Tyr179Cys com variantes de *MSH6* na atividade de reparo de *MUTYH* no DNA, causados pelo stress oxidativo. No banco de dados do Laboratório Personal, a variante do gene *MUTYH* c.536A>G; p.Tyr179Cys, quando associada aos tumores de cólon, mama e ovário, foi identificada em um paciente com câncer de cólon, outro com câncer de ovário e dois com tumores de mama. Para os cânceres de mama e ovário este resultado não condiz com o esperado para a variante, uma vez que o gene *MUTYH* possui baixa penetrância para os cânceres de mama e ovário.

Outra variante de destaque, por ser a mais frequente no banco de dados do laboratório, é a variante c.1010 G>A; p.Arg337His (R337H) do gene *TP53*. O gene *TP53*, está localizado no braço curto do cromossomo 17. Sob condições de stress celular e danos ao DNA, a proteína p53 é capaz de induzir a parada do ciclo celular, participar do reparo do DNA, induzir a apoptose, a senescência, ou realizar alterações no metabolismo. Vários tipos de tumores e síndromes de cânceres hereditários, como a síndrome de Li-Fraumeni, tem forte relação com variantes no gene *TP53* (*TP53 TUMOR*, 2023). A variante c.1010 G>A; p.Arg337His (R337H) do gene *TP53* possui 20 submissões no Clinvar, sendo 17 consideradas patogênicas e 3 provavelmente patogênica (CLINVAR [VCV000012379.63], 2022). Os indivíduos

registrados no banco de dados do Laboratório Personal com tumores associados a variante apresentaram a Síndrome de Li-Fraumeni, sarcoma de retroperitônio, sarcoma de glúteo, câncer de mama e adenocarcinoma de duodeno. Esses resultados corroboram com os achados do estudo realizado por PASKULIN, *et al.*, 2015, onde a variante c.1010 G>A; p.Arg337His do gene *TP53* foi identificada na linhagem germinativa de indivíduos que apresentavam a Síndrome de Li-Fraumeni (LFS). A síndrome em questão está associada a cânceres de mama de início precoce, sarcoma de tecidos moles, carcinoma do plexo coroide, tumor adrenocortical e tumores de sistema nervoso central. A taxa de prevalência da variante no banco de dados do laboratório foi a mais alta, corroborando também com os dados levantados no estudo de PASKULIN, *et al.* Neste, a frequência da variante, considerada fundadora no Brasil, correspondeu à 0,3%, abrangendo principalmente os estados da região Sul e Sudeste. No trabalho realizado por JEFFERS, *et al.*, 2021 foi introduzida a variante de sentido trocado R334H do gene *TP53* na linhagem germinativa de camundongos, que corresponde à variante c.1010 G>A; p.Arg337His (R337H) do gene *TP53* humano, à fim de abordar a variabilidade da penetrância, latência e espectro do tumor associado à variante. Os camundongos mutantes p53-R334H desenvolveram tumores com longa latência e penetrância incompleta, consistente com muitos portadores humanos. Esse modelo de camundongo demonstrou que a variante germinativa c.1010 G>A; p.Arg337His do gene *TP53* é menos prejudicial às atividades supressoras de tumor *TP53* e está associada a um melhor prognóstico para a Síndrome de Li-Fraumeni (LFS), quando comparada com outras variantes comumente associadas a LFS.

No estudo realizado por Pinto *et al.*, 2020 foram identificados indivíduos europeus (Espanha, Portugal, e França) que compartilharam a variante c.1010 G>A; p.Arg337His (R337H) do gene *TP53* com brasileiros. Esse achado, juntamente com a maior frequência da variante na região Sul e Sudeste pode ser justificado pela colonização do Brasil pelos europeus e sua rota de dispersão anteriormente sugerida para o sul do Brasil. Neste mesmo estudo, Pinto *et al.*, 2020 identificaram a variante E134* (Glu134Ter) no gene *XAF1* atuando em conjunto com a variante c.1010 G>A; p.Arg337His (R337H) do gene *TP53*. A co-segregação das variantes E134* do gene *XAF1* e a variante c.1010 G>A; p.Arg337His (R337H) do gene *TP53* favorecem ao surgimento de um fenótipo de câncer mais agressivo,

quando comparada a segregação da variante R337H do gene *TP53* sozinha. Portanto, esses achados apresentam grande relevância para o aconselhamento genético, vigilância e manejo clínico dos portadores dessas variantes

5.3 Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus – MINAS

A Síndrome da Neoplasia Hereditária Multilocus (MINAS) é caracterizada pelo desenvolvimento de tumores em indivíduos com variantes patogênicas germinativas em dois ou mais genes associados a riscos altos ou moderados de câncer (STRADELLA *et al.*, 2019). Foram identificados no banco de dados do Laboratório Personal 4 pacientes com mais de uma variante patogênica em diferentes genes de susceptibilidade ao câncer (CSGs), com alta ou moderada penetrância, conforme apresentado na Tabela 7, possibilitando a ocorrência de MINAS. Foi possível constatar que o gene *BRCA2* apareceu com maior frequência entre estes pacientes, corroborando com o estudo de MCGUIGAN, *et al.*, 2022. Neste, os autores destacaram que os genes *BRCA1* e *BRCA2* aparecem entre as principais combinações de genes de susceptibilidade ao câncer (CSGs) e como eles interagem para o surgimento da síndrome de MINAS. No estudo realizado por WHITWORTH, *et al.*, 2016, os autores identificaram na literatura 82 casos envolvendo 17 genes em câncer herdados. Os exemplos mais conhecidos, assim como no estudo anterior, envolveram variantes em *BRCA1* e *BRCA2*. A combinação de variantes coexistentes nos genes *BRCA1 / BRCA2*, *BRCA2/TP53*, *BRCA1/MLH1* e *APC/MLH1* ocorreram em mais de uma família. Os resultados demonstrados nos dois trabalhos anteriores corroboram com a possibilidade de MINAS nos pacientes do Laboratório Personal. Sobretudo, aqueles com casos de câncer diagnosticados na família, como os pacientes 19269, 19362 e 20127 e que carregam variantes nos genes *BRCA1/BRCA2* e *TP53*. Portanto, cabe destacar a importância de uma análise mais minuciosa, uma vez que MINAS é pouco descrita na literatura, e associada a manifestações clínicas mais graves. Tanto os pacientes diagnosticados com MINAS quanto seus familiares exigirão cuidados especializados e de longo prazo. Ambos poderão se beneficiar de um acompanhamento clínico adequado em relação aos riscos e escolhas reprodutivas (STRADELLA *et al.*, 2019).

5.4 Pacientes com a mesma variante e fenótipos diferentes

Dos 537 pacientes registrados no banco, 62 (11,54%) foram reunidos em 28 grupos com a mesma variante e fenótipos diferentes (Tabela 8). Dessa forma, foi possível identificar variantes genéticas que afetam mais de uma característica, fenômeno conhecido por pleiotropia. Um mesmo gene ou uma mesma variante genética podem estar envolvidos em mais de uma característica fenotípica. A identificação destes genes ou variantes pleiotrópicas podem ter importantes implicações na medicina de precisão, onde, por exemplo, um medicamento usado para tratar um tipo de câncer pode beneficiar o tratamento de outro. Testes genéticos para variantes pleiotrópicas podem ajudar a identificar pacientes com alto risco de desenvolverem cânceres múltiplos, conforme abordado no trabalho de WU, *et al.*, 2018. Os autores deste estudo identificaram 1.431 associações entre variantes e risco de câncer, compostas por 989 variantes únicas associadas a 27 tipos de câncer e 20 grupos de variantes pleiotrópicas (2,1%) compostos por 33 variantes (3,3%). Neste mesmo estudo, os autores identificaram variantes pleiotrópicas associadas aos cânceres de próstata, mama, leucemia, linfoma, colorretal, pancreático, pele e pulmão, corroborando com os resultados apresentados na Tabela 8. Por exemplo, a variante c.2179G>A, do gene *RHBDF2*, está associada ao melanoma cutâneo, câncer de próstata e história familiar de câncer de intestino e próstata. A variante c.3019T>C, do gene *MSH6* está associada a pólipos colônicos e câncer de pâncreas. A variante c.3299C>G, do gene *MSH6*, está associada ao câncer de mama e lesão cística septada no pâncreas. A variante c.6988A>G, do gene *BRCA2*, associada ao câncer de mama e pâncreas.

FEHRINGER, *et al.*, 2016, conduziram um estudo utilizando dados da rede *Genetic Associations and Mechanism in Oncology* (GAME-ON) e da *Genetic and Epidemiology of Colorectal Cancer Consortium* (GECCO) à fim de investigar associações pleiotrópicas em câncer de pulmão, mama, colorretal, ovário e próstata. Neste estudo, os autores identificaram a variante c.9976A>T (p.Lys3326Ter) do gene *BRCA2* associada aos cânceres de ovário e pulmão. Esse achado corrobora com a possibilidade de pleiotropia das variantes no gene *BRCA2* identificadas na Tabela 8. Nesta, a variante c.2808_2811delACAA; p.Ala938Profs do gene *BRCA2*

está associada aos cânceres de mama, pulmão e pâncreas e a variante c.7712A>G; p.Glu2571Gly do gene *BRCA2*, associada aos tumores de ovário, próstata e pulmão.

A pleiotropia pode ser abordada no âmbito das variantes ou no âmbito dos genes. BIEN; PETERS, 2019, apresentaram o resultado do estudo com genes pleiotrópicos próximos a locus de câncer identificado por GWAS. Neste, o gene *BRCA1* estava associado a diversos cânceres ou a outro fenótipo relevante. Na Tabela 8, o gene *BRCA1* aparece associado aos cânceres de reto, melanoma, mama e ovário, corroborando com a possibilidade de pleiotropia.

5.5 Pacientes com diferentes variantes e mesmo fenótipo

Na Tabela 9 é possível identificar diferentes genes ou locus gênicos contribuindo para fenótipos idênticos de câncer. Para o câncer de mama, por exemplo, diferentes genes como *APC*, *ATM*, *BARD1*, entre outros, contribuem para a manifestação do mesmo câncer. Essa situação é definida como heterogeneidade de locus, como abordada por NIELSEN; VAN OVEREEM HANSEN; SØRENSEN (2016) ao examinarem, além dos genes *BRCA1* e *BRCA2*, novos genes associados aos cânceres de mama e ovário (HBOC). Os autores deste estudo destacaram a heterogeneidade de locus no HBOC. Os diversos genes identificados estão envolvidos na manutenção do genoma. Estes genes, possuem como ponto em comum a participação no reparo do DNA por recombinação homóloga (HRR), a proteção de forquilhas de replicação de DNA e o controle do ponto de verificação do ciclo celular. Comparando os genes associados aos cânceres de mama da Tabela 9, com os destacados no estudo de NIELSEN; VAN OVEREEM HANSEN; SØRENSEN (2016) foi possível identificar a correspondência entre os genes *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *CHECK2*, *FANCC*, *MLH*, *MSH2*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RECQL4*, *STK11* e *TP53* (heterogeneidade de locus para o câncer de mama). Para o câncer de ovário foi observado a correspondência dos genes *ATM*, *BLM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2*, *NBN* e *TP53* e (heterogeneidade de locus para o câncer de ovário). Essa correspondência entre os genes corrobora com a heterogeneidade de locus para HBOC. Os genes envolvidos participam de forma sinérgica nas vias de controle do ponto de verificação do ciclo celular e no reparo por recombinação homóloga (HRR). Por exemplo, *ATM* fosforila *CHK2* (codificado

por *CHEK2*), *BRCA1* e *PALB2*. *CHK2*, fosforila e ativa *TP53*. Com isso, a proteína p53 induz a transcrição do inibidor da quinase dependente de ciclina 1A (*CDKN1A*, que codifica p21). Portanto, *ATM*, *CHEK2*, *TP53* e os dímeros *BRCA1-BARD1* participam da regulação do ciclo celular nas fases G1, S e G2. No reparo por recombinação homóloga (HRR), *ATM*, *RAD50* e *NBN* participam do corte da extremidade 5', deixando uma fita simples de DNA. *BRCA2* e *PALB2* transportam *RAD51* até a fita simples e o filamento de nucleoproteína contendo *RAD51* emparelha com a sequência de DNA complementar na cromátide irmã, que é usada como molde para a síntese de DNA.

Em relação aos demais cânceres reportados na Tabela 9 e a heterogeneidade de locus, foi destacado que os genes diretamente envolvidos no controle do ciclo celular, no reparo por recombinação homóloga e no reparo por incompatibilidade ou despareamento (MMR), estão associados a diversos tumores. Por exemplo, *ATM* está associado a 9 diferentes tipos de câncer, *BARD1* associado a 8, *TP53*, *BRCA1* e *BRIP* associados a 5 diferentes tumores. O fato de genes como *ATM*, *BRCA1* e *TP53* estarem associados a diversos tipos de câncer pode ser explicado pelo fato do ponto de verificação da fase G1 ser suportada por *ATM* que fosforila *BRCA1* e ativa a via *TP53-p21*. A depleção de *BRCA1-BARD1* e a perda de *TP53* está associada à Síndrome de Li-Fraumeni, caracterizada pela manifestação dos cânceres de mama, sarcoma, tumores cerebrais e adrenais. Variantes patogênicas nos genes da via MMR, como o *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2* estão relacionados à Síndrome de Lynch (NIELSEN; VAN OVEREEM HANSEN; SØRENSEN, 2016)

6 CONCLUSÃO

O câncer é uma doença ou síndrome essencialmente genética, uma vez que a célula adquire um fenótipo maligno em decorrência de variantes em genes de predisposição ao câncer (CPG), envolvidos na regulação do ciclo celular e reparo do DNA. A utilização do sequenciamento de nova geração (NGS) e a painéis multigênicos favorecem a identificação de vários genes simultaneamente, possibilitando assim a anotação de um número considerável de variantes. A utilização destes painéis é de grande relevância na medicina de precisão, uma vez que favorece uma melhor definição do perfil molecular do tumor, um melhor prognóstico e tratamento personalizado. O Laboratório Personal, privado, localizado em Belo Horizonte, utiliza painéis multigênicos somáticos e germinativos para detecção de variantes em CPGs. As variantes identificadas são catalogadas no banco de dados próprio do laboratório.

Este estudo consistiu em analisar o banco de dados de genotipagem germinativa do Laboratório Personal e traçar um perfil descritivo do banco. Foram identificados 89 genes no total. Destes, 72 genes (80,89%) eram supressores de tumor, 8 (8,98%) oncogenes e 9 (10,11%) de função dupla ou desconhecida, condizente com o esperado para um banco de variantes germinativas. Essa análise possibilitou a identificação de 4 pacientes com a possibilidade da Síndrome de MINAS (Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome), ainda pouco descrita na literatura. Foram identificados diversos pacientes com a mesma variante e fenótipos diferentes, possibilitando a ocorrência de genes ou variantes pleiotrópicas, que podem ter importantes implicações para a medicina de precisão. Dos 537 pacientes registrados no banco de dados do laboratório, 324 (60,33%), distribuídos em 21 grupos, apresentavam diferentes genes e variantes, com um mesmo fenótipo de câncer, referente a heterogeneidade de locus ou heterogeneidade e alélica. Estas informações combinadas com outras análises futuras, possibilitarão uma melhor compreensão da doença, melhoria nos alvos terapêutico e nos tratamentos individualizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKRAS, Z.; BUNGO, B.; LEACH, B., H. *et al.* Primer on Hereditary Cancer Predisposition Genes Included Within Somatic Next-Generation Sequencing Panels. **JCO Precis Oncol.** 2019;3:1-11.

BAYLIN, S. B.; JONES, P. A. Epigenetic Determinants of Cancer. **Cold Spring Harb Perspect Biol.** 2016 Sep 1; 8 (9): a019505.

BIEN, S., A.; PETERS, U. Moving from one to many: insights from the growing list of pleiotropic cancer risk genes. **Br J Cancer.** 2019 Jun; 120 (12): 1087-1089.

BRCA1 DNA Repair Associated. **National Center for Biotechnology Information**, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/672>>, 2022. Acesso em: 2 de jan. de 2023.

BRCA2 DNA REPAIR ASSOCIATED. **National Center for Biotechnology Information**, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/675>>. Acesso em: 3 de jan. de 2023.

CHAFFEE, K., G.; OBERG, A., L. *et al.* Prevalence of germ-line mutations in cancer genes among pancreatic cancer patients with a positive family history. **Genet Med.** 2018 Jan; 20 (1): 119-127.

CHERNOFF J. The two-hit theory hits 50. **Mol Biol Cell.** 2021; 32 (22)

CHU, D., WEI, L. Nonsynonymous, synonymous and nonsense mutations in human cancer-related genes undergo stronger purifying selections than expectation. **BMC Cancer** 19, 359 (2019).

CLINVAR [VCV000036577.30]. **National Center for Biotechnology Information**, 2022 Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000036577.30>> Acesso em: 1 de ago. 2022.

CLINVAR [VCV000017677.88]. **National Center for Biotechnology Information**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000017677.88>> Acesso em: 1 de ago. 2022.

CLINVAR [VCV000012379.63]. **National Center for Biotechnology Information**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000012379.63>> Acesso em: 3 de ago. 2022

CLINVAR [VCV000009322.81]. **National Center for Biotechnology Information**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000009322.81>> Acesso em: 3 de ago. 2022.

CLINVAR [VCV000407683.12]. **National Center for Biotechnology Information**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000407683.12>> Acesso em: 4 de ago. 2022.

COTRIM, D., P.; RIBEIRO, A., R., G.; PAIXÃO, D. *et al.* Prevalence of *BRCA1* and *BRCA2* pathogenic and likely pathogenic variants in non-selected ovarian carcinoma patients in Brazil. **BMC Cancer** **19**, 4 (2019).

DA COSTA, S; CURY N., M. *et al.* Germline variants in DNA repair genes associated with hereditary breast and ovarian cancer syndrome: analysis of a 21 gene panel in the Brazilian population. **BMC Med Genomics**. 2020; 13 (1): 21.

DE ANGELIS DE CARVALHO N.; NIITSUMA, B., N.; KOZAK, V., N. *et al.* Clinical and Molecular Assessment of Patients with Lynch Syndrome and Sarcomas Underpinning the Association with *MSH2* Germline Pathogenic Variants. **Cancers (Basel)**. 2020;12 (7):1848.

ESTIAR, M., A.; MEHDIPOUR, P. ATM in breast and brain tumors: a comprehensive review. **Cancer Biol Med**. 2018; 15(3): 210-227.

FABIŠÍKOVÁ, Katarína; HAMIDOVÁ Olívia, *et al.* Case Report: The Role of Molecular Analysis of the MUTYH Gene in Asymptomatic Individuals. **Frontiers in Genetics** vol.11, 2020.

FEHRINGER, G.; KRAFT, P., PHAROAH, P., D. *et al.* Cross-Cancer Genome-Wide Analysis of Lung, Ovary, Breast, Prostate, and Colorectal Cancer Reveals Novel Pleiotropic Associations. **Cancer Res.** 2016; 76 (17): 5103-5114.

FERRER-AVARGUES, R.; CASTILLEJO, M., I. *et al.* Co-occurrence of germline pathogenic variants for different hereditary cancer syndromes in patients with Lynch syndrome. **Cancer Commun (Lond)**. 2021 Mar; 41 (3): 218-228.

GENE. **National Center for Biotechnology Information**, 2022. Disponível em: <[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=>](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=), 2022. Acesso em: 9 de nov. de 2022

GOMES, R; SOARES, B., L. *et al.* Haplotypic characterization of BRCA1 c.5266dupC, the prevailing mutation in Brazilian hereditary breast/ovarian cancer. **Genet Mol Biol.** 2020 May 20; 43 (2): e20190072.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R., A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell.** 2011;144 (5): 646-674

HANAHAN D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discov.** 2022;12 (1): 31-46.

HENN, J.; SPIER, I.; ADAM, R., S. *et al.* Diagnostic yield and clinical utility of a comprehensive gene panel for hereditary tumor syndromes. **Hered Cancer Clin Pract.** 2019; 17:5.

HORMOZDIARI, F.; ZHU, A. *et al.* Widespread Allelic Heterogeneity in Complex Traits. **Am J Hum Genet.** 2017 May 4; 100 (5): 789-802.

IZ J. Hernández Borrero, WAFIK S. El-Deiry. Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**. Volume 1876, Issue 1, 2021.

JEFFERS, JOHN, R. *et al.* The Common Germline TP53-R337H Mutation Is Hypomorphic and Confers Incomplete Penetrance and Late Tumor Onset in a Mouse Model. **Cancer Research** vol. 81, 9 (2021): 2442-2456.

KINGDOM, Rebecca; WRIGHT, Caroline, F. Incomplete Penetrance and Variable Expressivity: From Clinical Studies to Population Cohorts. **Frontiers in Genetics**. Vol. 13, 2022.

KONTOMANOLIS, E., N.; KOUTRAS, A.; SYLLAIOS, A. *et al.* Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. **Anticancer Res.** 2020; 40 (11): 6009-6015.

KUAN-LIN HUANG, R. *et al.* Pathogenic Germline Variants in 10,389 Adult Cancers, **Cell**, Volume 173, Issue 2, 2018, Pages 355-370.

KUMUTHINI, J., ZICK, B., BALASOPOULOU, A. *et al.* The clinical utility of polygenic risk scores in genomic medicine practices: a systematic review. **Hum Genet** 141, 1697–1704 (2022).

LADUCA, Holly *et al.* A clinical guide to hereditary cancer panel testing: evaluation of gene-specific cancer associations and sensitivity of genetic testing criteria in a cohort of 165,000 high-risk patients. **Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics** vol. 22, 2 (2020): 407- 415.

LI, Xuanyj; WARNER, Jeremy, L. A Review of Precision Oncology Knowledgebases for Determining the Clinical Actionability of Genetic Variants. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, vol 8, 2020.

MCGUIGAN, A.; WHITWORTH, J.; ANDREOU, A. *et al.* Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome (MINAS): An update. **Eur J Hum Genet** 30, 265–270 (2022).

MERSCH, J.; BROWN, N.; PIRZADEH-MILLER, S.; *et al.* Prevalence of Variant Reclassification Following Hereditary Cancer Genetic Testing. **JAMA**. 2018; 320 (12):1266–1274

MISSENSE MUTATION. **National Human Genome Research Institute**, 2023. Disponível em: <<https://www.genome.gov/genetics-glossary/Missense-Mutation>>. Acesso em 7 de Abril de 2023

MURAD, André Marcio; DA ROCHA, José Claudio Casali; CARNEIRO Juliana Garcia. Scenery of Multilocus Inherited Neoplasia Alleles Syndrome (MINAS) In a Single Brazilian Institution. **Journal of Clinical Oncology** 2022 40:16_suppl, 10598-10598

MUTYH DNA GLYCOSYLASE. **National Center for Biotechnology Information**, 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4595/>>, 2022. Acesso em: 2 de jan. de 2023.

NESTA, AV; TAFUR, D; BECK, CR. Hotspots of Human Mutation. **Trends Genet.** 2021; 37 (8): 717-729.

NIELSEN, F., C; VAN, OVEREEM HANSEN, T; SØRENSEN, C., S. Hereditary breast and ovarian cancer: new genes in confined pathways. **Nat Rev Cancer**. 2016; 16(9): 599-612.

NONSENSE MUTATION. **National Human Genome Research Institute**, 2023. Disponível em: < <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Nonsense-Mutation> >. Acesso em 7 de Abril de 2023

NUSSBAUM, R. L; MCINNES, R., R.; HUNTINGTON, F., W. **Thompson & Thompson genética médica**. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

PALMERO, E., I.; CARRARO, D., M.; ALEMAR, B. *et al.* The Germline mutational landscape of *BRCA1* an *BRCA2* in Brazil. **Sci Rep**, 9188 (2018)

PASKULIN, Diego, *et al.* Ancestry of the Brazilian TP53 c.1010G>A (p.Arg337His, R337H) Founder Mutation: Clues from Haplotyping of Short Tandem Repeats on Chromosome 17p. **Plos One** vol. 10, 11; Nov. 2015.

PETERS, J, M; GONZALEZ, F., J. The Evolution of Carcinogenesis. **Toxicol Sci**. 2018; 165 (2): 272-276.

PETROSINO M, NOVAK L, PASQUO A, CHIARALUCE R, TURINA P, CAPRIOTTI E, CONSALVI V. Analysis and Interpretation of the Impact of Missense Variants in Cancer. **Int. J. Mol. Sci**. 2021, 22, 5416.

PINTO, E., M.; FIGUEIREDO, B.,C.; CHEN, W., *et al.* *XAF1* as a modifier of p53 function and cancer susceptibility. **Sci Adv**. 2020; 6 (26): eaba3231. Published 2020 Jun 24.

POPP MW, MAQUAT LE. Nonsense-mediated mRNA Decay and Cancer. **Curr Opin Genet Dev**. 2018; 48: 44-50.

QBAI S, PÉREZ-PALMA E, JESPERSEN JB, *et al.* Comprehensive characterization of amino acid positions in protein structures reveals molecular effect of missense variants. **Proc Natl Acad Sci USA**. 2020; 117 (45): 28201-28211.

RAMROOP, J., R; GERBER, M., M; TOLAND, A., E. Germline Variants Impact Somatic Events during Tumorigenesis. **Trends Genet**. 2019; 35 (7): 515-526.

REID S, PAL T. Update on multi-gene panel testing and communication of genetic test results. **Breast J**. 2020;26(8):1513-1519.

RICHARDS, S.; AZIZ, N.; BALE, S. *et al.* 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. **Genet Med.** 2015; 17 (5): 405-424.

RILEY, B., D.; CULVER, J., O; SKRZYNNIA, C. *et al.* Essential Elements of Genetic Cancer Risk Assessment, Counseling, and Testing: Updated Recommendations of the National Society of Genetic Counselors. **J Genet Counsel** 21, 151–161 (2012).

ROSEN, M., N.; GOODWIN, R., A.; VICKERS, M., M. *BRCA* mutated pancreatic cancer: A change is coming. **World J Gastroenterol.** 2021 May 7; 27 (17): 1943-1958.

SANDOVAL, R., L.; MASOTTI, C.; DE MACEDO, M., P.; *et al.* Identification of the *TP53* p.R337H Variant in Tumor Genomic Profiling Should Prompt Consideration of Germline Testing for Li-Fraumeni Syndrome. **JCO Glob Oncol.** 2021; 7: 1141.

SCHUBERT, S., A.; RUANO, D. *et al.* Digenic inheritance of *MSH6* and *MUTYH* variants in familial colorectal cancer. **Genes Chromosomes Cancer.** 2020 Jul 2; 59 (12): 697–701.

SHAH, P., D.; NATHANSON, K., L. Application of Panel-Based Tests for Inherited Risk of Cancer. **Annu Rev Genomics Hum Genet.** 2017; 18: 201-227.

SHARMA, Y., MILADI, M., DUKARE, S. *et al.* A pan-cancer analysis of synonymous mutations. **Nat Commun** 10, 2569 (2019).

SOARES, B., L.; BRANT, A., C.; GOMES, R. *et al.* Screening for germline mutations in mismatch repair genes in patients with Lynch syndrome by next generation sequencing. **Familial Cancer** 17, 387–394 (2018)

STRADELLA, Agostina *et al.* “Does multilocus inherited neoplasia alleles syndrome have severe clinical expression?” **Journal of medical genetics** vol. 56,8 (2019): 521-525.

TAEUBNER J; WIECZOREK, D.; YASIN, L. *et al.* Penetrance and Expressivity in Inherited Cancer Predisposing Syndromes. **Trends Cancer**. 2018; 4 (11): 718-728.

TP53 TUMOR. **National Center for Biotechnology Information**, 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7157>>, 2022. Acesso em: : 2 de jan. de 2023.

TRICARICO, R.; KASELA, M.; MARENI, C. *et al.* Assessment of the InSiGHT Interpretation Criteria for the Clinical Classification of 24 MLH1 and MSH2 Gene Variants. **Hum Mutat**. 2017; 38 (1): 64-77.

TSAOUSIS, G., N.; PAPADOPOULOU, E.; APESSOS, A. *et al.* Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: novel and multiple pathogenic mutations. **BMC Cancer** 19, 535 (2019).

VENKITARAMAN A R. How do mutations affecting the breast cancer genes BRCA1 and BRCA2 cause cancer susceptibility? **DNA Repair (Amst)**. 2019; 81:102668.

VIHINEN, M. When a Synonymous Variant Is Nonsynonymous. **Genes** 2022, 13, 1485.

WHITWORTH, J.; SKYTTE, A.; SUNDE, L. *et al.* Multilocus Inherited Neoplasia Alleles Syndrome: A Case Series and Review. **JAMA Oncol**. 2016; 2 (3): 373–379.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2013). International classification of diseases for oncology (ICD-O), 3rd ed., 1st revision. **World Health Organization**.

WU, Y., H.; GRAFF, R., E.; PASSARELLI, M., N. *et al.* Identification of Pleiotropic Cancer Susceptibility Variants from Genome-Wide Association Studies Reveals Functional Characteristics. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. 2018; 27 (1): 75-85.

YANES, T., YOUNG, MA., MEISER, B. *et al.* Clinical applications of polygenic breast cancer risk: a critical review and perspectives of an emerging field. **Breast Cancer Res** 22, 21 (2020).

ZHANG, W.; BOJORQUEZ-GOMEZ, A.; VELEZ, D., O. *et al.* A global transcriptional network connecting noncoding mutations to changes in tumor gene expression. **Nat Genet** 50, 613–620 (2018).

ZHANG, Y.D., HURSON, A.N., ZHANG, H. *et al.* Assessment of polygenic architecture and risk prediction based on common variants across fourteen cancers. **Nat Commun** 11, 3353 (2020).

ANEXOS

ANEXO 1: Quadro 2 - Critérios utilizados pela ACGM para classificação de variantes

CRITÉRIOS		FORÇA PATOGENICIDADE/BENIGNIDADE
Dados Populacionais	Quando a variante encontrada é significativamente maior nos casos que nos controles, em um estudo com relevada significância estatística.	Evidência Forte de Patogenicidade 4 (PS4)
	Quando a variante encontrada está ausente nos casos controle dos Projetos de Sequenciamento Exome, 1000 Genomes ou ExAC.	Evidência Moderada de Patogenicidade 2 (PM2)
	Quando a frequência do alelo está acima de 5% em projetos de sequenciamento de exoma, 1000 genomas ou ExAC.	Evidência Independente de Impacto Benigno (BA1)
	Quando a frequência do alelo é maior do que o esperado para o distúrbio.	Forte Evidência de Impacto Benigno (BS1)
Dados Computacionais e Preditivos	Quando a variante é encontrada em um determinado gene em que sua perda de função é um conhecido mecanismo causador de doença.	Evidência Muito Forte de Patogenicidade (PVS1)
	Quando o aminoácido alterado pela variante é o mesmo que ocorre por conta de outra variante patogênica conhecida, levando em consideração algumas ressalvas, como, quando a variante afeta sítio de splicing.	Evidência Forte de Patogenicidade 1 (PS1)
	Quando a variante é ocasionada por deleções/inserções no quadro de leitura de uma região não repetida ou quando ocorre a perda de um códon de parada, acarretando alterações no comprimento da proteína.	Evidência Moderada de Patogenicidade 4 (PM4)
	Quando uma nova variante missense acarreta a alteração de um determinado aminoácido específico, sendo que a alteração deste aminoácido já tenha sido considerada patogênica em uma variante anterior.	Evidência Moderada de Patogenicidade 5 (PM5)
	Quando múltiplas linhas de evidência computacional suportam um efeito deletério no gene ou produto do gene (conservação, evolução, impacto de splicing).	Evidência de Suporte de Patogenicidade 3 (PP3)
	Quando múltiplas linhas de evidência computacional sugerem nenhum impacto no gene ou produto do gene (conservação, evolução, impacto de splicing, etc).	Evidência de Apoio de Impacto Benigno (BP4)
	Quando uma variante sem sentido está em um gene em que as variantes truncadas são conhecidas por causarem doenças.	Evidência de Apoio de Impacto Benigno (BP1)
	Quando algoritmos de previsão de splicing não preveem nenhum impacto na sequência de consenso de splicing em uma variante sinônima (silenciosa).	Evidência de Apoio de Impacto Benigno (BP7)

	Quando a variante encontrada já foi submetida a estudos funcionais <i>in vitro</i> ou <i>in vivo</i> que apoiam o efeito patogênico do produto gênico em questão.	Evidência Forte de Patogenicidade 3 (PS3)
Dados de Análises Funcionais	Quando a variante afeta uma região conhecida por ser um local favorável a mutações (hotspots) e um domínio funcional importante, como um sítio ativo de uma enzima.	Evidência Moderada de Patogenicidade 1 (PM1)
	Presença de uma variante missense em um gene com baixa taxa de variação missense benigna e onde as variantes missense são mecanismos comuns de doenças.	Evidência de Suporte de Patogenicidade 2 (PP2)
	Quando os estudos funcionais <i>in vitro</i> ou <i>in vivo</i> bem estabelecidos não mostram nenhum efeito prejudicial na função da proteína ou nos sítios de splicing.	Forte Evidência de Impacto Benigno (BS3)
Dados de Segregação	Quando ocorre a Co-segregação com doenças em vários membros da família de afetados por um gene causador da doença.	Evidência de Suporte de Patogenicidade 1 (PP1)
	Quando não ocorre a segregação nos membros afetados de uma família.	Forte Evidência de Impacto Benigno (BS4)
Dados Alélicos	Para distúrbios recessivos, com variantes patogênicas detectadas em <i>trans</i> .	Evidência Moderada de Patogenicidade 3 (PM3)
	Quando observada em <i>trans</i> com uma variante patogênica para um gene / distúrbio dominante totalmente penetrante, ou observada em <i>cis</i> com uma variante patogênica em qualquer padrão de herança.	Evidências de Apoio de Impacto Benigno (BP2)
Utilização de Outros Bancos de Dados	Quando uma fonte confiável relata a variante como patogênica, mas a evidência não está disponível para o laboratório realizar uma avaliação independente.	Evidência de Suporte de Patogenicidade 5 (PP5)


Critérios propostos pelo Colégio Americano de Genética e Genômica Médica (ACGM) para se classificar as variantes em: muito fortemente patogênicas, fortemente patogênicas, moderadamente patogênicas, de suporte patogênicas, de suporte benignas, até fortemente benignas. (RICHARDS *et al.*, 2015)

ANEXO 2: Quadro 3 - Classificação final em função de combinações de classificações.

COMBINAÇÕES DE CRITÉRIOS DE FORÇAS	CLASSIFICAÇÃO QUANTO À PATOGENICIDADE/BENIGNIDADE
1 Muito forte (PVS1) juntamente com: ≥ 1 Forte (PS1 – PS4) OU ≥ 2 Moderado (PM1-PM6) OU 1 Moderado (PM1-PM6) e 1 de suporte (PP1-PP5) OU ≥ 2 Suporte (PP1 – PP5)	PATOGÊNICAS
≥2 Forte (PS1 – PS4) 1 Forte (PS1 – PS4) juntamente com: ≥ 3 Moderado (PM1-PM6) OU 1 Moderado (PM1 – PM6) e ≥ 2 Suporte (PP1 – PP5) OU 1 Moderado (PM1 – PM6) e ≥ 4 Suporte (PP1 – PP5)	
1 Muito forte (PVS1) e 1 Moderado (PM1-PM6) OU 1 Forte (PS1 – PS4) e 1-2 Moderado (PM1 – PM6) OU 1 Forte (PS1 – PS4) e ≥ 2 Suporte (PP1 – PP5) OU ≥ 3 Moderado (PM1-PM6) OU 2 Moderado (PM1 – PM6) e ≥ 2 Suporte (PP1 – PP5) OU 1 Moderado (PM1 – PM6) e ≥ 4 Suporte (PP1 – PP5)	PROVAVELMENTE PATOGÊNICAS
1 Autônomo (BA1) OU ≥ 2 Forte (BS1 – BS4)	BENIGNAS
1 forte (BS1 – BS4) e 1 de suporte (BP1 – BP7) OU ≥ 2 Suporte (BP1 – BP7)	PROVAVELMENTE BENIGNAS
Variantes que não se encaixam nos critérios acima ou se os critérios para Patogênicos e Benignos forem contraditórios.	VARIANTES DE SIGNIFICÂNCIA INCERTA (VUSs)

Como algumas variantes podem obter diferentes classificações, o Colégio Americano de Genética e Genômica Médica (ACGM), estabeleceu as diretrizes para obtenção de um consenso em função de combinações de classificações.

ANEXO 3: Termo de Autorização de Exame – Painel Hereditário

	PERSONAL - DIAGNÓSTICOS DE PRECISÃO
	ANEXO 03 – POP 001
	TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE EXAME – PAINEL HEREDITÁRIO

PAINEL HEREDITÁRIO

Os painéis hereditários compreendem genes sabidamente associados ao risco de desenvolvimento ou à resposta terapêutica em diferentes tipos de câncer. Os painéis avaliam todos os genes relevantes para diferentes tipos tumorais, detectando as variações com potencial valor preditivo. A detecção destas variações ocorre por meio da análise do DNA, através da técnica NGS (sequenciamento de nova geração). As amostras de DNA são armazenadas em nosso laboratório com um código alfanumérico, não sendo, portanto, divulgados quaisquer dados pessoais sobre o paciente.

O material genético é extraído a partir do sangue ou de células bucais. O DNA é então submetido ao sequenciamento completo dos genes, de acordo com a solicitação médica. O laudo do exame, contendo as mutações detectadas no sequenciamento, deve ser levado ao seu médico de confiança, para que ele possa interpretar o resultado e definir qual a melhor forma de tratamento para você. Algumas vezes o resultado do sequenciamento detectar ausência de mutações. Isso não significa que o exame não funcionou, mas sim que a sua amostra não possuía mutações. Caberá também ao seu médico, na presença de um resultado negativo, determinar qual a melhor conduta a ser adotada. Em algumas situações é necessária a confirmação do resultado por novos exames, utilizando diferentes técnicas. Estes exames são cobrados à parte, e a necessidade de sua realização é comunicada ao médico e ao paciente, e feita mediante autorização de ambas as partes.

Se, durante a análise inicial, for constatada quantidade insuficiente de material genético para análise, o exame será cancelado e será feito o reembolso parcial (serão cobrados apenas os custos de extração do DNA). Opcionalmente, poderá ser solicitada uma nova coleta do material para reanálise. O DNA extraído do sangue ou das células bucais fica armazenado em nosso laboratório por um período de 3 (três) anos, salvo situação em que todo o material genético foi utilizado para a análise a qual se destinou.

Em relação ao envio do resultado do exame, o mesmo será fornecido apenas para o email informado na ficha cadastral do paciente ou responsável legal, ou ainda para o médico solicitante do exame responsável pelo paciente. O mesmo pode ser retirado no laboratório na forma impressa apenas pelo paciente ou responsável legal, ou mediante procuração registrada em cartório. O envio para outro médico que não seja o médico solicitante do exame, mesmo que solicitado pelo paciente, não será realizado a fim de proteção das informações pessoais do paciente e sigilo. O laudo do exame, contendo as mutações detectadas no sequenciamento, deve ser levado ao seu médico de confiança, para que ele possa interpretar o resultado e definir qual a melhor forma de tratamento para você.

Após a leitura do texto acima, contendo as informações sobre o exame, declaro estar ciente dos procedimentos de análise, das possíveis limitações da técnica e dos possíveis resultados que podem ser obtidos. Declaro também estar ciente dos valores dos exames e das formas de pagamento.

Autorizo o uso da minha amostra em estudos epidemiológicos realizados pelo laboratório, que irão contribuir com um melhor entendimento de como ocorre o desenvolvimento tumoral e irão auxiliar na detecção de novas mutações associadas a uma resposta terapêutica eficaz. É importante ressaltar que a amostra é utilizada em caráter sigiloso, não sendo, em nenhum momento, revelada a identidade do paciente. Nenhuma informação pessoal é compartilhada, abrangendo dados para contato, informações e dados do paciente, em concordância com Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais (LGPD), Lei nº 13.709/2018.

Belo Horizonte, ____/____/____

Assinatura do paciente ou responsável legal