

Cancro da mama hereditário: dupla heterozigotia para variantes patogénicas nos genes *BRCA1* e *ATM*

Patrícia Theisen¹, Pedro Rodrigues¹, Catarina Silva^{2,3}, Leonor Ribeiro⁴, Helena Carreiro⁴, Helena Gervásio⁵, Luís Vieira^{2,3}, João Gonçalves^{1,3}

1-Unidade de Genética Molecular, Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa; 2-Unidade de Tecnologia e Inovação, Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa; 3-Centro de Toxicogenómica e Saúde Humana – ToxOmics, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa; 4-Serviço de Hemato-Oncologia, Hospital CUF Infante Santo, Lisboa; 5-Serviço de Hemato-Oncologia, Hospital CUF Viseu

Introdução

O cancro da mama hereditário (CMH) representa 5-10% dos casos de cancro da mama, dos quais aproximadamente 30% se devem a variantes patogénicas germinativas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Vários outros genes de suscetibilidade para CMH têm sido identificados, apresentando diferentes graus de penetrância.

A identificação da causa genética nas famílias com CMH permite reduzir a incidência de cancro assim como a morbilidade e mortalidade associadas, uma vez que possibilita oferecer: (i) um acompanhamento clínico personalizado aos indivíduos afetados portadores da(s) variante(s) patogénica(s) e (ii) o teste genético aos familiares saudáveis em 1º grau, após aconselhamento genético, com a implementação de programas de vigilância clínica/cirurgias profiláticas para os portadores da(s) variante(s) patogénica(s).

A sequenciação de nova geração (NGS) veio revolucionar o diagnóstico molecular do CMH, associando uma elevada eficiência a custos reduzidos, através da utilização de painéis multigénicos.

Objetivo

Sequenciação, por NGS, de um painel de genes de suscetibilidade para CMH numa doente com história pessoal de cancro da mama e ovário e história familiar de diferentes tipos de cancro em ambos os ramos de ascendência (Fig 1).

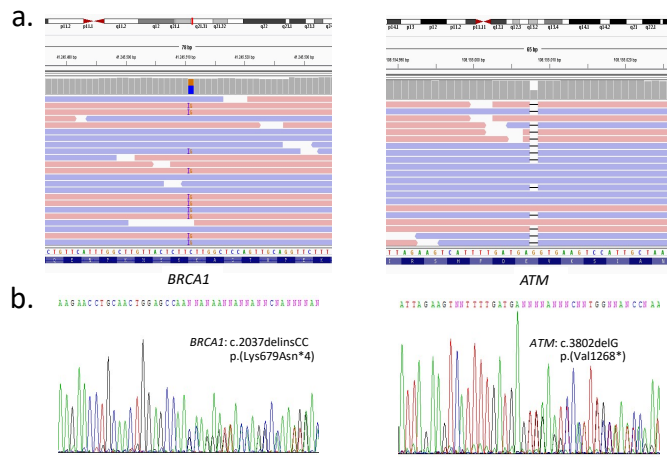


Figura 3. Dupla heterozigotia para as variantes patogénicas *BRCA1*: c.2037delinsCC, p.(Lys679Asn*4) e *ATM*: c.3802delG, p.(Val1268*). a. Visualização das variantes no programa *Integrative Genomics Viewer*, a partir dos resultados de NGS e b. Confirmação das variantes identificadas por NGS usando a sequenciação de Sanger.

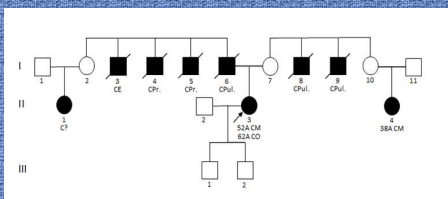


Figura 1. Árvore genealógica representativa da história familiar e pessoal de cancro da doente analisada (caso index, assinalado com seta). CM: cancro da mama; CO: cancro do ovário; CPR: cancro da próstata; Cpul.: cancro do pulmão; CE: cancro do esófago; C?: cancro em órgão desconhecido.

Materiais e Métodos

NGS com preparação das bibliotecas de sequências-alvo a partir de DNA genómico do caso index utilizando o kit *TruSight® Cancer* (Illumina) que permite sequenciar as regiões codificantes de 94 genes de suscetibilidade para cancro, de acordo com as especificações do fabricante. A sequenciação foi realizada na plataforma *MiSeq* (Illumina), com leituras *paired-end* (2x150 pb).

A análise bioinformática dos resultados de NGS foi efetuada em paralelo com os programas *MiSeq Reporter* e *Enrichment* (Illumina), para alinhamento de sequências e identificação de variantes; estas foram anotadas no programa *Variation Studio* (Illumina) e visualizadas, sempre que aplicável, no *Integrative Genomics Viewer* (Broad Institute). A análise de variantes restringiu-se aos genes incluídos no painel CMO2 (Fig. 2). A avaliação da patogénicidade foi realizada com recurso a consulta de bases de dados populacionais (*dbSNP*, *Ensembl*, *gnomAD*, *1000 Genomes*) e específicas de gene(s)/patologia(s) (*ClinVar*, *HGMD Professional*, *LOVD*, *BRCA Exchange*, *BRCA Share*, *UMD*) e, sempre que necessário, procedeu-se à avaliação *in silico* das variantes utilizando diversas ferramentas bioinformáticas (*Alamut Visual*, *Human Splicing Finder*, *UMD-Predictor*, *VarSome*, *Mutation Taster*). As variantes patogénicas identificadas por NGS nos genes *BRCA1* e *ATM* do caso index foram confirmadas por sequenciação de Sanger e pesquisadas nos familiares analisados por esta última metodologia.

Conclusões

A análise por NGS de um painel de genes de suscetibilidade para CMH permitiu identificar um caso raro de dupla heterozigotia para variantes patogénicas nos genes *BRCA1* e *ATM*. Esta abordagem analítica foi crucial pois possibilitou um aconselhamento genético orientado em função das variantes identificadas e do risco de desenvolvimento de tumores associado a uma ou a ambas as variantes. Este caso demonstra a vantagem da sequenciação de um painel multigénico face à análise molecular limitada aos genes *BRCA1* e *BRCA2*.

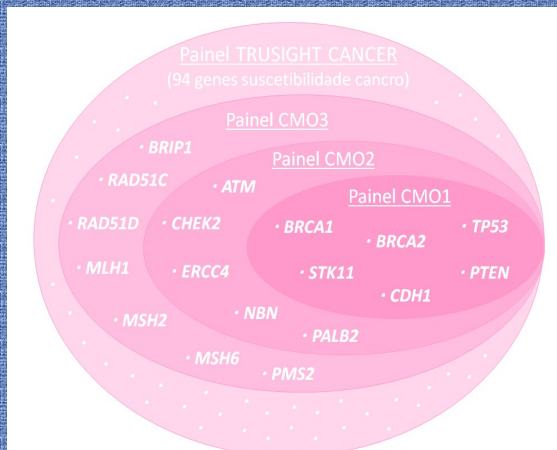


Figura 2. Painéis de genes de suscetibilidade para cancro da mama/ovário (CMO) definidos com base no *TruSight Cancer Sequencing Panel* (Illumina). O painel CMO1 contempla 6 genes de penetrância elevada, CMO2 inclui CMO1 e 5 genes de penetrância moderada e o painel mais alargado (CMO3) compreende 18 genes (painel CMO2 e 7 genes de penetrância baixa/moderada).

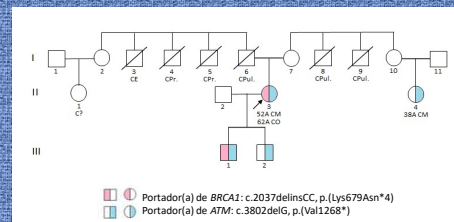


Figura 4. Árvore genealógica representativa das variantes patogénicas identificadas no caso index (dupla heterozigotia para as variantes *BRCA1*: c.2037delinsCC, p.(Lys679Asn*4) e *ATM*: c.3802delG, p.(Val1268*)) e pesquisadas em três familiares. CM: cancro da mama; CO: cancro do ovário; CPR: cancro da próstata; Cpul.: cancro do pulmão; CE: cancro do esófago; C?: cancro em órgão desconhecido.

Resultados

Foi identificado um caso raro de dupla heterozigotia para as variantes patogénicas *BRCA1*: c.2037delinsCC, p.(Lys679Asn*4) e *ATM*: c.3802delG, p.(Val1268*) numa doente que desenvolveu cancro da mama aos 52 anos e cancro do ovário dez anos mais tarde (Fig. 3). A identificação da variante patogénica no gene

ATM decorreu da análise dos genes incluídos no painel CMO2 (Fig. 2), e assume particular relevância no aconselhamento genético e consequente disponibilização do teste genético aos familiares em risco de ter herdado uma ou ambas as variantes patogénicas. Com uma estratégia de análise molecular limitada aos genes *BRCA1* e *BRCA2*, ter-se-ia apenas identificado a variante patogénica no gene *BRCA1* como causa da doença no caso index.

A pesquisa das duas variantes numa prima materna do caso index, afetada com cancro da mama, revelou que esta é portadora da variante patogénica no gene *ATM*. A realização do teste genético preditivo, após aconselhamento genético, nos dois filhos saudáveis do caso index permitiu diagnosticá-los como portadores de uma ou de ambas as variantes patogénicas (Fig. 4). Estes 3 familiares apresentam, assim, um risco aumentado de desenvolvimento de tumores malignos, pelo que deverá ser reforçado o seu acompanhamento clínico para a prevenção e deteção precoce dos mesmos.