

Variantes no gene ATM (ataxia-telangiectasia, mutado) em Pacientes portadoras de câncer de mama no estado da Bahia

Analysis of variants in the ATM gene (ataxia-telangiectasia, mutated) in patients with breast cancer in the state of Bahia

Thâmara Cláudia de Melo Ferreira¹, Maria Betânia Pereira Toralles^{2*}

¹Médica formada pela Universidade Federal de Alagoas – UFAL, com Residência médica pelo Instituto Nacional de Câncer – INCA, Médica do Hospital São Rafael, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas da universidade Federal da Bahia – UFBA; ^{2*}Médica graduada pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMS, Residência em Pediatria, Endocrinologia Pediátrica pela Universidade Federal da Bahia – UFBA; Mestre em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia – UFBA, Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia – UFBA, Professora Titular de Genética Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia – UFBA, Professora do Programa de Pós-Graduação em Processos Integrativos dos Órgãos e Sistemas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia – UFBA

Resumo

Introdução: o câncer de mama é o mais comum em mulheres em todo o mundo, com altas taxas de mortalidade. Aproximadamente 10% dos novos casos de câncer de mama são hereditários. A principal síndrome de predisposição hereditária ao câncer de mama é provocada por mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, (HBOC, para *hereditary breast and ovary cancer*). Entretanto, apenas 10% dos pacientes confirmam a presença de mutações germinativas em *BRCA1* ou *BRCA2*. Variantes patogênicas em outros genes, conhecidos como de moderada penetrância, como *PALB2*, *CHEK2* e *ATM*, também contribuem para aumento do risco de ocorrência do câncer de mama. Cerca de 3 a 5% das mulheres que se apresentam para avaliação de risco hereditário de câncer de mama ou ovário têm variantes patogênicas em um gene de moderada penetrância. **Objetivo:** descrever os aspectos clínicos e moleculares de pacientes que apresentaram mutações no gene *ATM* e foram submetidos a aconselhamento genético e teste genético com painel multigenes para genes de alto e moderado risco para câncer. avaliados no período de 2007 a 2023. **Metodologia:** estudo estatístico descritivo, com análise quantitativa em amostra retrospectiva e prospectiva de pacientes submetidas a sequenciamento por Sanger, admitidas no serviço de oncogenética da UFBA, no ICS da UFBA, bem como de pacientes submetidas a sequenciamento de nova geração, que preencheram critérios clínicos para síndrome de susceptibilidade ao câncer hereditário, com base em critérios dos *guidelines* do NCCN e conforme diretrizes da Agência Nacional de Saúde, constantes no rol de procedimentos em saúde, admitidas para aconselhamento genético no período de 07/2007 a 05/2023. **Resultados:** os achados podem elucidar diferenças entre pacientes caucasianos e pacientes miscigenados, esses últimos pouco estudados até o presente momento, mas que podem representar a população brasileira em sua maioria. **Conclusão:** os resultados encontrados possibilitam o delineamento do perfil dos pacientes com mutação em *ATM*: epidemiológico, de variabilidade genética ou alélica, perfil clínico, tumoral e de apresentação de tumores na história familiar. **Palavras-chave:** Gene *ATM*. câncer hereditário; risco para câncer; teste genético; aconselhamento genético

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common cancer in women worldwide, with high mortality rates. Approximately 10% of new cases of breast cancer are hereditary. The primary hereditary breast cancer predisposition syndrome is caused by mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes (HBOC, for *hereditary breast and ovary cancer*). However, only 10% of patients confirm the presence of germline mutations in *BRCA1* or *BRCA2*. Pathogenic variants in other genes known as having moderate penetrance, such as *PALB2*, *CHEK2* and *ATM*, also contribute to an increased risk of breast cancer. About 3 to 5% of women presenting for evaluation for hereditary risk of breast or ovarian cancer have pathogenic variants in a moderate penetrance gene. **Objective:** to describe the clinical and molecular aspects of patients who presented mutations in the *ATM* gene and underwent genetic counselling and testing with a multigene panel for high and moderate-risk genes for cancer evaluated from 2007 to 2023. **Methodology:** descriptive statistical study, with quantitative analysis in a retrospective and prospective sample of patients submitted to Sanger sequencing, admitted to the oncogenetics service of UFBA, in the ICS of UFBA, as well as patients submitted to the sequencing of new generation, who met clinical criteria for hereditary cancer susceptibility syndrome, based on criteria of the NCCN guidelines and following the guidelines of the National Health Agency, included in the list of health procedures, admitted for genetic counselling in the period 07/2007 to 05/2023. **Results:** the findings may elucidate differences between Caucasian and mixed-race patients, the latter little studied so far, but which may represent most of the Brazilian population. **Conclusion:** the results made it possible to delineate the profile of patients with *ATM* mutation: epidemiological, genetic or allelic variability, clinical, tumoral and presentation profile of tumours in the family history. **Keywords:** *ATM* gene; hereditary cancer; risk for cancer; genetic test; genetic counselling.

Correspondente/Corresponding: *Maria Betânia Pereira Toralles – Instituto de Ciências da Saúde – Universidade Federal da Bahia – End: Av. Reitor Miguel Calmon s/n – Vale do Canela. CEP 40.110-100 - Tel.: (71)99965-9211 – E-mail: m.toralles@uol.com.br

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o mais comum em mulheres em todo o mundo, com altas taxas de mortalidade quando não diagnosticado precocemente, tornando-se um problema de saúde pública em todo o mundo¹.

No Brasil, segundo dados do ministério da Saúde, INCA, cerca de 66.280 novos casos de câncer de mama são diagnosticados a cada ano, o que corresponde a 29,7% de todos os cânceres. Na Bahia, 3.460 novos casos de câncer de mama foram diagnosticados durante o biênio 2020–2022².

Aproximadamente 10% dos novos casos de câncer de mama são hereditários, geralmente ocorrendo em mulheres jovens, com histórico familiar de câncer³ e com maior risco de recorrência, podendo acometer a mama contralateral⁴. A principal síndrome de predisposição hereditária ao câncer de mama é provocada por mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, (HBOC, para *hereditary breast and ovary cancer*). Entretanto, apenas 10% dos pacientes confirmam a presença de mutações germinativas em *BRCA1* ou *BRCA2*⁵.

Variantes patogênicas em outros genes, conhecidos como de moderada penetrância, como *PALB2*, *CHEK2* e *ATM* também contribuem para aumento do risco de câncer de mama⁶. Cerca de 3% a 5% das mulheres que se apresentam para avaliação de risco hereditário de câncer de mama ou ovário têm variantes patogênicas em um gene de moderada penetrância⁷.

No Brasil, a maior coorte de pacientes com câncer de mama identificou que mutações em *BRCA1/2* contribuem com quase 50% de todas as variantes germinativas. Identificou, também, variantes em outros genes de susceptibilidade ao câncer de mama em 8% dos pacientes. Entre os genes acionáveis, *ATM*, *CHEK2* e *PALB2* foram os mais frequentemente mutados⁸.

A incapacidade para o reparo de dano ao DNA é característica do câncer e resulta em instabilidade genômica e acúmulo de anormalidades genéticas⁹. Mutações germinativas em genes envolvidos no reparo de danos ao DNA, como *ATM*, *BRCA1* e *TP53*, resultam em aumento para o risco de vários tipos de câncer¹⁰.

O gene *ATM* (*ataxia telangiectasia, mutated*) foi clonado pela primeira vez em 1995, durante estudos para a síndrome de ataxia telangiectasia¹¹. Localizado no cromossoma 11 (11q22.3), tem 66 éxons, dos quais 62 são transcritos e 9168 pares de bases codificantes¹². É um dos maiores genes do genoma, atua como gene supressor e codifica uma proteína serina-treoninacina de 370 kDa, cujo domínio catalítico está relacionado com a subunidade catalítica da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)¹³.

Esse gene tem importante ação no reconhecimento de danos ao DNA e no auxílio à preservação da estabilidade genômica¹⁴, auxiliando, ainda, no controle do ciclo celular, em resposta a danos causados por radiação ionizante, drogas quimioterápicas, *stress* oxidativo ou lesões ao DNA que ocorram durante a recombinação na meiose,

bem como rearranjo de genes durante a maturação de células B¹⁵⁻¹⁷.

O gene *ATM* tem papel central magnificado nesse processo; ele codifica uma proteína cinase, que atua no reconhecimento de lesões no DNA. Quando ocorre a quebra da dupla fita, o complexo proteico *MRE11-RAD50-NBS1* (MRN) recruta e ativa, então, a proteína ATM. Uma vez ativada, essa proteína fosforila uma série de proteínas efetoras com atividade no controle do ciclo celular (*CHEK1*, *CHEK2*), no reparo de danos ao DNA (*BRCA1*, *RAD51*) e apoptose celular. Mutações em *ATM* podem, assim, contribuir para o não efetivo reparo nos danos ao DNA e instabilidade genômica, favorecendo o desenvolvimento de câncer¹².

A frequência de mutações germinativas em heterozigose no gene *ATM*, na população geral, é estimada em 0,5 a 1%, e variantes patogênicas truncadas são raras, em torno de 0,29%, com a ampla maioria desses estudos conduzidos em populações americanas, caucasianas^{18,19}.

Indivíduos portadores de variantes patogênicas em heterozigose no gene *ATM* têm um risco aproximadamente duas vezes maior de desenvolver câncer de mama do que os não portadores. O risco cumulativo de câncer de mama, ao longo da vida, é de aproximadamente 30%¹⁹, havendo uma maior relação para câncer de mama com o receptor de estrogênio positivo. Algumas dessas variantes patogênicas no gene *ATM* podem apresentar maior risco para o câncer de mama, magnificando a importância da identificação dessas variantes para a tomada de decisões e o aconselhamento de riscos para esses pacientes e suas famílias²⁰.

Os indivíduos portadores de variantes patogênicas em homozigose no gene *ATM* desenvolvem ataxia-telangiectasia (AT), doença autossômica recessiva caracterizada por degeneração cerebelar, apraxia oculomotora, telangiectasia conjuntival, imunodeficiência, predisposição ao câncer e sensibilidade à radiação²¹.

Além do câncer de mama, outros cânceres também são descritos como potencialmente relacionados a mutações em *ATM*, tais como o câncer de pâncreas²², o câncer de ovário, de próstata e do trato gastrointestinal^{22,23}.

A maioria dos estudos sobre câncer hereditário foi realizada em populações caucasianas, necessitando melhor análise em populações de múltiplas etnias²⁴. A frequência de algumas variantes genéticas é diferente entre populações e (ou) regiões geográficas distintas, e a análise de marcadores genéticos população-específica é de suma importância para a compreensão da diversidade genética populacional e da possível contribuição das populações ancestrais na formação de populações, como é empregado nos estudos de mapeamento genético e associação com doenças²⁵⁻²⁷ e também como foi abordado em estudos de avaliação de variantes patogênicas no Nordeste do Brasil²⁸.

Permitir a identificação de variantes patogênicas germinativas em genes de alta ou moderada penetrância tem sido uma constante fonte de interesse em todo

o mundo^{29,30}. Em nosso meio, tem sido um desafio: as dificuldades para acesso ao aconselhamento genético e à realização de testagem genética para indivíduos com suspeita de síndrome de câncer hereditário limitam a difusão do conhecimento acerca de como essas síndromes de predisposição ao câncer se comportam em nosso país³¹.

Estudos, anteriormente referenciados indicam a necessidade de construção de novos conhecimentos sobre a temática em pauta, particularmente no que se refere à análise do perfil de variantes do gene *ATM* em indivíduos portadores de câncer de mama³². Ademais, toda área de conhecimento científico requer o desenvolvimento de um corpo de conhecimento próprio, pautado em ações empíricas que possam possibilitar aos pesquisadores categorizar, interpretar, estruturar e dar sentido à sua área do saber. Por isso, o presente estudo se revela como necessário na contribuição para o avanço do conhecimento contemporâneo em saúde.

O presente estudo se justifica, ainda, para suprir a literatura sobre a temática e possibilitar auxílio na compreensão das variantes do gene *ATM* em indivíduos portadores de câncer de mama, levantando questões e oferecendo subsídios que poderão ser retomados e complementados em outros estudos e pesquisas.

Partindo dessas considerações, o presente estudo tem como objetivo identificar o perfil de variantes do gene *ATM* em indivíduos portadores de câncer de mama admitidos para aconselhamento genético no Instituto de Ciências de Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA), na cidade de Salvador, no estado da Bahia, classificados como de risco para síndromes hereditárias de câncer, no período de 2007 a 2023, descrevendo as variantes encontradas e suas características fenotípicas.

METODOLOGIA

Local do estudo

Instituto de Ciências da Saúde, ambulatório de oncogenética da Universidade Federal da Bahia. Av. Reitor Miguel Calmon, s/n – Canela, Salvador – BA, 40231-300.

Tipo de estudo

Estudo estatístico descritivo com análise quantitativa em amostra retrospectiva e prospectiva.

População e amostra

Foram considerados elegíveis para esta análise pacientes não aparentados, acima de 18 anos, encaminhados ao serviço de oncogenética da UFBA, no ICS da UFBA, que preencheram critérios clínicos para síndrome de susceptibilidade ao câncer hereditário com base em critérios dos *guidelines* do NCCN³³ e conforme diretrizes da Agência Nacional de Saúde³⁴, constantes no rol de procedimentos em saúde, e que foram admitidas para aconselhamento genético no período de 07/2007 até 05/2023.

As pacientes que não preencheram esses critérios não foram incluídas na amostra.

No estudo, foi realizada uma análise retrospectiva das pacientes submetidas a sequenciamento por Sanger, admitidas no serviço de oncogenética, bem como das pacientes submetidas a sequenciamento de nova geração, a partir de julho de 2007, e prospectivamente até maio de 2023.

A avaliação clínica e a confecção de heredograma são realizadas em pacientes que preenchem os critérios do NCCN ou da ANS para suspeita de síndrome de câncer hereditário. Após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, em anexo) as pacientes foram submetidas a coleta de amostra de sangue periférico, mediante venopunção periférica. As amostras de sangue coletadas foram, então, submetidas a sequenciamento de nova geração e (ou) sequenciamento de Sanger (para confirmação de variantes patogênicas e pesquisa de mutação familiar).

Coleta e análise

Após consulta de aconselhamento genético e assinatura do TCLE, uma amostra de sangue periférico foi coletada para viabilizar a extração de DNA e posteriormente analisada em painel multigênico de 18 genes através de sequenciamento de nova geração^{35,36}, que incluiu os genes *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *TP53*, *SLX4*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e

PMS2. A análise, para este estudo, foi restrita a indivíduos que apresentaram variantes no gene *ATM*.

Foram analisadas todas as variantes encontradas no gene *ATM*. As alterações patogênicas identificadas foram confirmadas por sequenciamento automático de Sanger³⁷. Os pacientes que não tiveram mutação patogênica identificada por NGS também tiveram os genes *BRCA1* e *BRCA2* avaliados para grandes rearranjos por MLPA³⁸. Para as variantes encontradas em *ATM*, foi avaliada ainda a frequência alélica das variantes.

Para as pacientes com mutação germinativa identificada no gene *ATM*, foi ofertada a análise da mutação familiar para os demais membros da família, em maiores de 18 anos, e todos foram submetidos a aconselhamento genético.

A análise molecular foi realizada por sequenciamento de nova geração em um painel de 18 genes de susceptibilidade para câncer do LABIMUNO da UFBA, em que são avaliados 599 fragmentos de DNA de 18 diferentes genes de maneira concomitante, através da técnica de amplicons, em que os 599 fragmentos são amplificados e os nucleotídeos da sequência são definidos concomitantemente em um *chip* que permite a análise massiva. Para essa técnica, é usada a plataforma S5 da ThermoFisher Scientific, que conta com a plataforma de análise *Ion reporter*, onde os resultados gerados pelo sequenciamento são submetidos a pipelines de

bioinformática que permitem identificar as variantes presentes em cada região gênica analisada. As variantes encontradas foram confirmadas em sequenciamento de Sanger, em que, para cada região de interesse, é feita a amplificação através da técnica de PCR, utilizando-se *primers* específicos, que delimitam as regiões a serem sequenciadas. Posteriormente, é realizada a purificação do produto de PCR, para a retirada das sobras de reagentes, tais como, *primers* e dntp não utilizados. Esse produto purificado é usado como DNA molde na reação de sequenciamento, usando-se BigDye® (ThermoFisher Scientific) como dNTP terminador de cadeia. Nessa etapa do processo, as sequências são geradas usando-se dNTPs normais e terminadoras de cadeia fluorescente. Uma vez inseridas essas últimas na sequência, o fragmento tem sua amplificação interrompida e, assim, são gerados fragmentos de diferentes tamanhos. Na eletroforese capilar, os fragmentos de diferentes tamanhos migram pelo capilar do menor para o maior, e a fluorescência da última base de cada fragmento será identificada, assim, a sequência de DNA, com a ordem em que aparecem os nucleotídeos definida.

As alterações encontradas por NGS foram verificadas no *software* IonReportere nos bancos de dados Varsome³⁹ e Clinvar⁴⁰. As sequências geradas por sequenciamento de Sanger foram avaliadas no programa BioEdit⁴¹, através de alinhamento com sequências de referências dos genes analisados, disponíveis no GenBank⁴². A estatística descritiva foi utilizada para os dados demográficos. Para a determinação das frequências alélicas e equilíbrio de Hardy-Weinberg, foi utilizado o programa GENEPOP⁴³.

Para a classificação das variantes, foram adotadas as categorias utilizadas pelo Colégio Americano de Genética Médica⁴⁴, que as classifica em benignas, provavelmente benignas, variantes de significado incerto, variantes provavelmente patogênicas e variantes patogênicas. Foi feita a análise das características fenotípicas das pacientes que apresentaram variantes em *ATM*: presença de câncer sincrônico, metacrônico, segundos tumores primários, *status* dos receptores de estrogênio e progesterona e análise de HER-2, presença de câncer em mama contralateral, idade de início de doença, histórico familiar, e se houve progressão de doença.

Aspectos éticos

Foram atendidas as diretrizes emanadas da Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 12 de

dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde, que aprova as “diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos” assegurando às participantes do estudo os princípios da bioética de autonomia, não maleficência, beneficência, justiça e equidade⁴⁵.

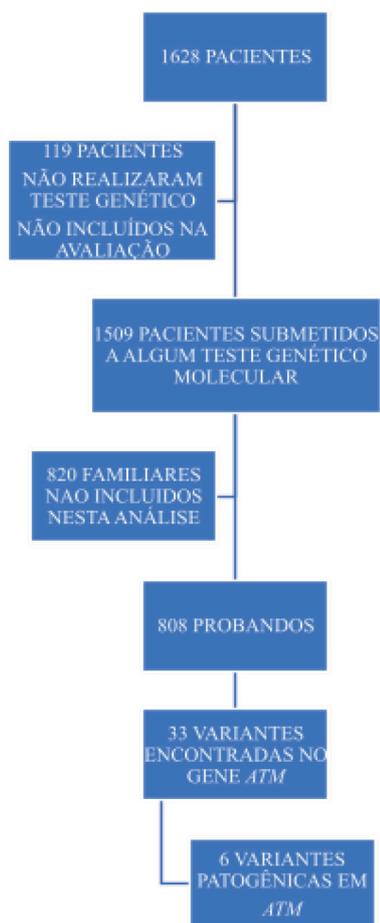
O presente estudo faz parte de um projeto maior, intitulado: “Análise da ancestralidade e de genes de susceptibilidade em portadores de câncer de mama e de próstata do estado da Bahia”, aprovado pelo parecer consubstanciado da CONEP: 1.382.884 em 31/12/2015. O projeto foi avaliado pelo CONEP, pois parte das análises de sequenciamento de nova geração foram realizadas em parceria com a Universidade de Chicago. O projeto “guarda-chuva” possui também aprovação do comitê de ética em pesquisa da SOMESB (Sociedade Mantenedora de Educação Superior da Bahia LTDA) em 14/09/2009.

RESULTADOS

Neste estudo, foi analisada uma coorte de 1628 pacientes que foram submetidos a sequenciamento de nova geração e sequenciamento de Sanger, no período de julho de 2007 até maio de 2023, como parte de uma iniciativa para o estudo de perfis genéticos na população da Bahia, de forma prospectiva. Foram atendidos, no serviço de oncogenética do Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular da UFBA, um total de 1628 indivíduos. Desses, 808 eram probandos e 820 familiares, esses últimos incluídos para investigação de variante familiar. Todos os pacientes atendidos no serviço realizaram aconselhamento genético pré e pós-teste. Não houve estudo pareado com tecido tumoral e, portanto, os dados aqui apresentados representam as variantes em linhagem germinativa apenas.

Destes 1628, em 1.509 indivíduos participantes foi realizado algum tipo de teste genético – painel NGS e (ou) sequenciamento Sanger e (ou) MLPA –, perfazendo 92,7% da genotipagem com resultados distintos: inconclusivos, positivos ou negativos para variantes patogênicas e identificação de VUS. As variantes no gene *ATM* estão apresentadas na Tabela 1. Dentre os pacientes que foram submetidos a algum teste genético, identificamos 33 variantes no gene *ATM* em 28 indivíduos (Figura 1).

Figura 1 – Seleção da amostra



Fonte: autoria própria

Em 28 probandos, 05 variantes foram classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas (c.1780 G>T, c.3403-2_3403insT, 3801delG, c.7913G>A, c.8364delATAAG e c.9139 C>T). A maioria das variantes (31) foi identificada no sexo feminino. Somente 01 variante, classificada como patogênica, foi identificada em indivíduo do sexo masculino, sem câncer (c.9139 C>T). Todas as demais variantes patogênicas encontradas em indivíduos com mutação em *ATM* estavam associadas ao diagnóstico de câncer de mama, cujas idades variaram entre 31 e 55 anos.

Em 09 indivíduos que apresentaram mutação em *ATM*, 2 ou mais variantes foram encontradas no teste genético, como demonstra a Tabela 2. Todas as variantes encontradas foram determinadas através de estudo de painéis multigenes de susceptibilidade ao câncer e foram confirmadas através de sequenciamento de Sanger.

A caracterização epidemiológica dos probandos mostrou que o tipo de câncer predominante nos indivíduos com variantes no gene *ATM* foi o câncer de mama (22 pacientes). Nessa amostra, 01 paciente com VUS em *ATM* teve câncer de ovário (VUS_ *ATM* c.5178-4delT) e, dentre os pacientes avaliados com mutação em *ATM*, uma probanda teve câncer de mama bilateral (carci-

noma ductal invasivo em uma das mamas e carcinoma ductal *in situ* na mama contralateral, e também leucemia (VUS_ *SLX4*c.1372A>G, VUS_ *ATM*c.5178-4delT). Foram identificados 04 indivíduos portadores assintomáticos, ou seja, com variante patogênica germinativa identificada no gene *ATM*, mas que não tinham diagnóstico de câncer, encaminhados ao serviço de oncogenética do LABIMUNO da UFBA para pesquisa de variante patogênica familiar.

Em 02 dos probandos avaliados, a informação de tipo de tumor não estava disponível.

Foram 33 variantes encontradas (patogênicas, provavelmente patogênicas e VUS) em 28 pacientes, 22 das quais identificadas com câncer de mama. Em 08 indivíduos, uma variante patogênica no gene *ATM* foi identificada e, em 05 dessas pacientes, o câncer de mama estava presente antes dos 40 anos de idade. O tipo histológico predominante foi o carcinoma ductal infiltrante (17 pacientes), seguido de carcinoma ductal *in situ*, em 02 pacientes, 01 paciente com carcinoma lobular da mama. Em 02 pacientes, os dados histológicos não foram fornecidos.

Tabela 1 – Variantes no gene *ATM* encontradas no presente estudo.

N	Variantes	Classificação
1	c.1780 G>T	Patogênica ou provavelmente patogênica
3	c.3403-2_3403insT	
1	c.3801delG	
1	c.7913G>A	
1	c.8364delATAAG	
1	c.9139 C>T	
N	Variantes	Classificação
1	c.295 G>A	Variantes de significado incerto (VUS)
1	c.320G>A	
1	c.334G>A	
1	c.497-8_497-7	
1	c.663-3 C>G	
1	c.749 G>A	
2	c.1229 T>C	
1	c.1516 G>T	
1	c.1703 G>T	
1	c.2289 T>A	
1	c.3154-8 T>C	
1	c.3801delG	
2	c.4148 C>T	
1	c.5178-4delT	
1	c.6176 C>T	
1	c.6554 T>C	
1	c.7187C>G	
1	c.7208 A>T	
1	c.7313 C>T	
1	c.7740 A>C	
1	c.7907 C>T	
1	c.8246 A>T	
1	c.8503T>C	

Fonte: dados da pesquisa.

A análise imunohistoquímica desses pacientes revelou receptores hormonais positivos para estrogênio ou progesterona em 11 indivíduos. Receptores hormonais para estrogênio e (ou) progesterona foram negativos em 03 pacientes e, em 08 pacientes, os dados histológicos não estavam acessíveis. Análise de HER2 foi positiva para amplificação em 04 pacientes, negativa em 10 pacientes, e com dados não disponibilizados em outras 08 pacientes. Na avaliação e consulta inicial, 2 pacientes já se apresentavam com doença recidivada; uma delas com recidiva na mesma mama, e a outra paciente com doença metastática óssea e pulmonar.

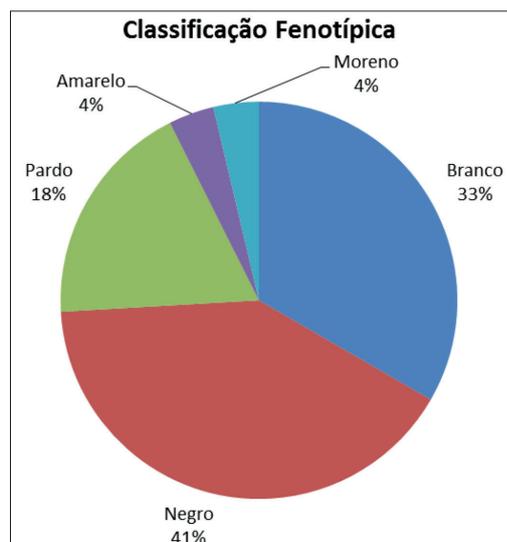
Para esses 28 indivíduos, 10 se declararam brancos, 07 se autodeclararam pardos, 01 moreno, 01 amarelo e 07 negros. Em 01 paciente, a informação não constava no prontuário, conforme é demonstrado na Figura 2. Em 17 pacientes desta análise, o histórico familiar foi positivo para câncer de mama. Nas pacientes com variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas, excetuando-se uma das probandas, todas as demais relataram histórico familiar para câncer de mama em idade abaixo de 50 anos. Uma paciente tinha câncer de mama bilateral.

Tabela 2 – Variantes encontradas em outros genes.

Genes	Classificação	Outras variantes associadas
SLX4	VUS	SLX c.1372 A>G (2)
	VUS	SLX c.4739+6 C>A
PALB	VUS	PALB2 c.2996+5 G>T
MSH6	VUS	MSH6 c.2681 A>G
	VUS	PMS2 c.1708 A>G
	VUS	PMS2 c.2350 G>A
CHEK2	VUS	CHEK2 c.904 G>A
RAD51C	VUS	RAD51C c.-40525 C>T
BRCA2	PATOGÊNICA	BRCA2 c.1796-1800 delCTTAT

Fonte: dados da pesquisa.

Figura 2 – Avaliação de fenótipo, autodenominação de cor da pele.



Fonte: dados da pesquisa.

DISCUSSÃO

Compreender a etiologia dos fatores que levam ao desenvolvimento do câncer é um grande desafio para a medicina. O câncer de mama é o câncer mais frequente no mundo, também o é no Brasil. No maior estudo de avaliação de pacientes brasileiras com câncer de mama, publicado em 2022, 10% da coorte tinha mutações abrigadas nos genes *BRCA1/BRCA2*. A detecção de variantes germinativas nos genes *BRCA1* e *BRCA2* foi responsável por 50% das variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas encontradas no estudo⁸. Nesse mesmo estudo, aproximadamente 8% dos pacientes apresentavam variantes germinativas em outros genes que não *BRCA1/2* e *TP53*. Para além desses, *ATM*, *CHEK2* e *PALB2* foram os mais frequentemente mutados, e *ATM* foi identificado como quinto gene com maior número de variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas encontradas e também com o maior número de variantes de significado incerto (VUS)⁸. Nossa coorte contou com 1509 pacientes submetidos a teste genético, com base nos critérios para realização de teste genético dos *guidelines* do NCCN³³ e nas indicações do Rol de Procedimentos em Saúde da Agência Nacional de Saúde³⁴. Em 808 probandos analisados, encontramos 33 variantes do gene *ATM*, o que correspondeu à prevalência de 4,08% da amostra. Dessas, 06 variantes foram classificadas como patogênicas ou provavelmente patogênicas, o que correspondeu a 18% das variantes encontradas (6/33).

À semelhança de literatura mundial – em que mutações em *ATM* também têm forte associação com câncer de mama e receptores hormonais positivos³ –, 12 pacientes das 28 probandas eram positivas para receptor hormonal estrogênio, 4 eram negativas para receptores hormonais, e, em 12 pacientes, os dados não constavam nas informações coletadas em prontuário. 42% das pacientes com variantes patogênicas tinham receptores de estrogênio e progesterona positivos. Variantes que provocam perda de função da proteína em *ATM* foram associadas com risco significativo de câncer de mama, embora o tamanho do efeito não difira significativamente entre europeus e asiáticos¹⁸. Em nosso estudo, a maioria dos pacientes com variantes identificadas se declarou parda ou negra 57% (16/28), e, dentre as variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas encontradas, 05 deles se definiram como pardos ou negros 71% (5/7). A análise de diferenças étnicas já foi reportada em estudos de ancestralidade na população brasileira^{26,27,46}. Em grandes estudos populacionais de painéis multigênicos, há uma prevalência maior de população caucasiana, não hispânica e branca, e a população afrodescendente é sub-representada^{47,48}.

Das 33 variantes encontradas no gene *ATM*, 25 foram classificadas como de significado incerto. Quanto mais genes são avaliados num painel genético, mais VUS são identificadas, e há uma clara diferença nas taxas de VUS quando estudamos populações étnicas⁴⁹. Há um benefício

para a incerteza? As implicações para o encontro dessas VUS são substanciais, pois, conceitualmente, não devem ser utilizadas para recomendação de cirurgias redutoras de risco, ou, de forma semelhante, para o manejo de pacientes com variantes patogênicas. Os esforços para reclassificação dessas variantes deverão ser recomendados prospectivamente, para valorizar a utilidade clínica e minimizar os riscos de procedimentos deletérios e sem indicação, além de auxiliar a notificação e compreensão de disparidades étnicas ou raciais. A análise de história familiar, de ferramentas preditoras de risco apuradas e escores de risco poligênico poderão favorecer condutas personalizadas para pacientes de maior risco.

Segundo recomendações do NCCN³³, o aconselhamento genético deve ser realizado em famílias com suspeita para síndromes de câncer hereditário e para nortear a indicação de testes genéticos. Atualmente, a realização de painéis genéticos multigenes tem diagnosticado indivíduos mesmo quando não preenchem critérios clínicos para diagnóstico sindrômico. Em nosso meio, múltiplas variáveis – escassez de profissionais tecnicamente capacitados para atendimento especializado em aconselhamento genético, questões socioeconômicas, maior parcela da população com acesso ao Sistema Único de Saúde, que não permite a realização dos painéis multigenes para pesquisa de câncer hereditário, perfil populacional com acesso a saúde suplementar restrito, vasta extensão territorial do país e os custos para realização do exame – determinam as dificuldades para o acesso aos centros de referência, bem como para a realização de testes genéticos. Esses fatos prejudicam o diagnóstico desses indivíduos e provocam, na maioria dos pacientes, um retardo do melhor momento do aconselhamento genético e da tomada de decisões, o que impacta na deliberação sobre cirurgias redutoras de risco e aplicação de melhores estratégias para uma assistência personalizada a esses pacientes e a suas famílias⁵⁰. Possibilitar o reconhecimento de síndromes hereditárias mais prevalentes em nosso meio é fundamental para estabelecer medidas efetivas em políticas públicas de saúde que possam acolher e garantir tratamento preventivo e curativo para esses indivíduos.

Nosso estudo tem limitações, com dados retrospectivos dependentes de coleta de informações em prontuários, tamanho de amostra limitado, pacientes admitidos em um único centro de saúde referenciado, dedicado ao atendimento de famílias com suspeita de câncer hereditário, baseado predominantemente em histórico familiar, ou cuja mutação familiar, em gene de predisposição ao câncer, já era conhecida, podendo representar um *bias*. Entretanto, é o primeiro estudo para análise molecular de variantes acionáveis exclusivamente em *ATM* na Bahia. A presença de variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas em *ATM*, em nossa coorte, não parece equívoca, e estudos posteriores para análise dessas variantes constituem os próximos passos para melhor fundamentar a compreensão dessas variantes

em nossa população. Uma das variantes patogênicas ou provavelmente patogênica está presente em 3 indivíduos não aparentados (*ATM* c.3403-2_3403insT), que tiveram câncer de mama. Nossos resultados são consistentes com outros estudos realizados na população brasileira, que concordam com o impacto da presença de variantes patogênicas em *ATM* e risco para câncer de mama²⁷⁻²⁹.

CONCLUSÃO

Este é o primeiro estudo com dados moleculares germinativos para a análise de variantes no gene *ATM* em pacientes acometidas por câncer de mama no estado da Bahia. Com a avaliação dos dados gerados pelo presente estudo, será possível investigar a presença de variantes acionáveis em *ATM* prospectivamente e estabelecer perfil dos pacientes com mutação em *ATM* nos quesitos: epidemiológico, de variabilidade genética ou alélica, perfil clínico, tumoral e de apresentação de tumores na história familiar. A prevalência de variantes patogênicas em *ATM* deste estudo pode contribuir para fomentar a investigação futura de diferenças étnicas em populações subestimadas, enfatizando a necessidade de estudar populações não caucasianas, permitindo a identificação de variantes patogênicas em subgrupos populacionais específicos, mas que podem representar a população brasileira em sua maioria, além de permitir a adequada alocação de recursos diagnósticos e implementação de novas tecnologias custo-efetivas.

REFERÊNCIAS

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209-49. doi: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2019.
3. Dorling L, Carvalho S, Allen J, González-Neira A, Luccarini C, Wahls-tröm C. Breast Cancer Risk Genes – Association Analysis in More than 113,000 Women. *N Engl J Med*. 2021 Feb; 384(5):428-39. doi: 10.1056/NEJMoa1913948
4. Yadav S, Boddicker NJ, Na J, Polley EC, Hu C, Hart SN. Contralateral Breast Cancer Risk Among Carriers of Germline Pathogenic Variants in *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, and *PALB2*. *J Clin Oncol*. 2023 Mar 20;41(9):1703-13. doi: 10.1200/JCO.22.01239
5. Pal T, Agnese D, Daly M, La Spada A, Litton J, Wick M. Professional Practice and Guidelines Committee. Points to consider: is there evidence to support *BRCA1/2* and other inherited breast cancer genetic testing for all breast cancer patients? A statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2020 Apr; 22(4):681-5. doi: 10.1038/s41436-019-0712-x
6. Easton DF, Pharoah PD, Antoniou AC, Tischkowitz M, Tavtigian SV, Nathanson KL, et al. Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk. *New Engl J Med*. 2015 Jun 4;372(23):2243-57.
7. Maxwell KN, Wubbenhorst B, D'Andrea K, Garman B, Long JM, Powers J, et al. Prevalence of mutations in a panel of breast cancer susceptibility genes in *BRCA1/2*-negative patients with early-onset breast cancer. *Genet Med*. 2015 Aug;17(8): 630-8. doi: 10.1038/gim.2014.176

8. Guindalini RSC. Detection of germline variants in Brazilian breast cancer patients using multigene panel testing. *Sci Rep.* 2022 Mar 9;12(1):4190. doi: 10.1038/s41598-022-07383-1
9. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: New Dimension. 2022;2(1):31-46. doi: org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059
10. Hall MJ. Germline Pathogenic Variants in the Ataxia Telangiectasia Mutated (*ATM*) Gene are Associated with High and Moderate Risks for Multiple Cancers. *Cancer Prev Res (Phila).* 2021 Apr;14(4):433-40. doi: 10.1158/1940-6207
11. Savitsky K. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science.* 1995 Jun 23;268(5218):1749-53. doi: 10.1126/science.7792600
12. Choi M, Kipps T, Kurzrock R. ATM Mutations in Cancer: Therapeutic Implications ATM Mutations in Cancer. *Molecular cancer therapeutics.* 2016 Aug 1;15(8):1781-91. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0945
13. Shiloh Y, Ziv Y. The ATM protein kinase: regulating the cellular response to genotoxic stress, and more. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013 Apr;14(4):197-210. doi: 10.1038/nrm3546
14. Grochot R, Carreira S, Miranda S, Figueiredo I, Bertan C, Rekowski J, et al. Germline ATM Mutations Detected by Somatic DNA Sequencing in Lethal Prostate Cancer. *Eur Urol Open Sci.* 2023 Jun 1;5(2):72-8. doi: 10.1016/j.euros.2023.04.003
15. Bednarski JJ, Sleckman BP. Integrated signaling in developing lymphocytes: the role of DNA damage responses. *Cell Cycle.* 2012 Nov 15;11(22):4129-34. doi: 10.4161/cc.22021.
16. Mavrou A, Tsangaris GT, Roma E, Kolialexi A. The ATM gene and ataxia telangiectasia. *Anticancer Res.* 2008 Jan-Feb;28(18):401-5.
17. Lieber MR. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. *Annu Rev Biochem.* 2010 Jul 7;79:181-211. doi: 10.1146/annurev.biochem.052308.093131
18. Jiang X, O'Neill A, Smith KR, Lai Z, Carss K, Wang Q, et al. Uncovering variable neoplasms between ATM protein-truncating and common missense variants using 394 694 UK Biobank exomes. *Genes, Chromosomes and Cancer.* 2022 Sep;61(9):523-9. doi: 10.1002/gcc.23042
19. Renwick A, Thompson D, Seal S, Kelly P, Chagtai T, Ahmed M, et al. ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet.* 2006 Aug;38(8):873-5. doi: 10.1038/ng1837
20. Tung N. Counselling framework for moderate-penetrance cancer-susceptibility mutations. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016 Sep;13(9):581-8. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.90
21. Moslemi M, Vafaei M, Khani P, Soheili M, Nedaeinia R, Manian M, et al. The prevalence of ataxia telangiectasia mutated (*ATM*) variants in patients with breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2021 Sep 8;21(1): 474. doi: 10.1186/s12935-021-02172-8
22. Zeng C. Association of Pathogenic Variants in Hereditary Cancer Genes with Multiple Diseases. *JAMA Oncol.* 2022 Jun;8(6):835-44. doi: 10.1001/jamaoncol.2022.0373
23. Roberts NJ. ATM mutations in patients with hereditary pancreatic cancer. *Cancer Discov.* 2012 Jan;2(1):41-6. doi: 10.1158/2159-8290.CD-11-0194
24. Oliveira JM de, Zurro NB, Coelho AVC, Caraciolo MP, de Alexandre RB, Cervato MC, et al. The genetics of hereditary cancer risk syndromes in Brazil: a comprehensive analysis of 1682 patients. *Eur J Hum Genet.* 2022 Jul;30(7):818-23. doi: 10.1038/s41431-022-01098-7
25. Shriver MD. Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. *Am J Hum Genet.* 1997;60(4):957-64.
26. Callegari-Jacques SM, Salzano FM. Brazilian Indian/non-Indian interactions and their effects. *Cienc Cult.* 1999 May-Ago;51(3/4):166-74.
27. Souza AM, Resende SS, Sousa TN, Brito CFA. A systematic scoping review of the genetic ancestry of the Brazilian population. *Genet Mol Biol.* 2019;42(3):495-508. doi: http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2018-0076
28. Felix GES, Guindalini RSC, Zheng Y, Walsh T, Sveen E, Lopes TMM, et al. Mutational spectrum of breast cancer susceptibility genes among women ascertained in a cancer risk clinic in Northeast Brazil. *Breast Cancer Res Treat.* 2022 Jun;193(2):485-94. doi: 10.1007/s10549-022-06560-0
29. Timoteo AR de S, Gonçalves AÉMM, Sales LAP, Albuquerque BM, de Souza JES, de Moura PCP, et al. A portrait of germline mutation in Brazilian at-risk for hereditary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2018 Dec;172(3):637-46. doi: 10.1007/s10549-018-4938-0
30. Ossa Gomez CA, Achatz MI, Hurtado M, Sanabria-Salas MC, Sullcahuaman Y, Chávarri-Guerra Y, et al. Germline Pathogenic Variant Prevalence Among Latin American and US Hispanic Individuals Undergoing Testing for Hereditary Breast and Ovarian Cancer: A Cross-Sectional Study. *JCO Glob Oncol.* 2022 Jul;8:e2200104. doi: 10.1200/GO.22.00104
31. Achatz MI, Caleffi M, Guindalini R, Marques RM, Nogueira-Rodrigues A, Ashton – Prolla P. Recommendations for advancing the diagnosis and management of hereditary breast and ovarian cancer in Brazil. *JCO Global Oncol.* 2020 Mar; 6:439-52.
32. Feliubadaló L, Moles-Fernández A, Santamarina-Pena M, Sánchez AT, López-Novo A, Porras LM, et al. A collaborative effort to define classification criteria for ATM variants in hereditary cancer patients. *Clin Chem.* 2021 Mar;67(3):518-33. doi: 10.1093/clinchem/hvaa250
33. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®). Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic Version 3.2023. 2023 feb.
34. Agência Nacional de Saúde – ANS. Rol de Procedimentos e Eventos em Saúde 2021. Anexo II Diretrizes de Utilização para Cobertura de Procedimentos na Saúde Suplementar (RN465/2021) [Internet]. [citado 2023 maio 15]. Disponível em: https://www.gov.br/ans/pt-br/arquivos/assuntos/consumidor/o-que-seu-plano-deve-cobrir/Anexo_II_DUT_2021_RN_465.2021_TEA.AL.pdf
35. Kurian AW, Kingham KE, Ford JM. Next-generation sequencing for hereditary breast and gynecologic cancer risk assessment. *Curr Opin Obst Gynecol.* 2015 Feb 1;27(1):23-33.
36. Castéra L, Krieger S, Rousselin A, Legros A, Baumann J-J, Bruet O, et al. Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes. *Eur J Human Genet.* 2014 Nov;22(11):1305-13. doi: 10.1038/ejhg.2014.16
37. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *New Engl J Med.* 2009 Feb 19;360(8):790-800. doi: 10.1056/NEJMra0801289
38. Lips EH, Laddach N, Savola SP, Vollebergh MA, Oonk AMM, Imholz ALT, et al. Quantitative copy number analysis by Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) of BRCA1-associated breast cancer regions identifies BRCAness. *Breast Cancer Res.* 2011 Oct;13(5):R107. doi: 10.1186/bcr3049
39. Kopanos C, Tsiolkas V, Kouris A, Chapple CE, Aguilera MA, Meyer R, et al. VarSome: the human genomic variant search engine. *Bioinformatics.* 2019 Jun 6;35(11):1978.

40. Landrum MJ, Chitipiralla S, Brown GR, Chen C, Gu B, Hart J. ClinVar: improvements to accessing data. *Nucleic Acids Res.* 2020 jan; 48(D1):D835-44. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkz972>
41. Hall TA. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series.* 1999;41:95-8.
42. Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Res.* 2016 Jan 4;44(D1):D67-72. doi: 10.1093/nar/gkv1276
43. Raymond M, Rousset F. GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *J Heredity.* 1995 May;86(3):248-9. doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573>
44. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med.* 2020 Feb;22(2):245-57. doi: <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0686-8>
45. Conselho Nacional de Saúde (BR). Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. [Internet]. Brasília, DF; 2012. [citado em 2023 May 15]. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>
46. Sandoval RL, Leite ACR, Barbalho DM, Assad DX, Barroso R, Polidório N, et al. Germline molecular data in hereditary breast cancer in Brazil: Lessons from a large single-center analysis. *PLoS One* 2021;16(2):e0247363. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247363>
47. Manrai AK, Funke BH, Rehm HL, Olesen MS, Maron BA, Szolovits P, et al. Genetic misdiagnoses and the potential for health disparities. *New Engl J Med.* 2016 Aug 18;375(7):655-65. doi: 10.1056/NEJMs1507092
48. Susswein LR, Marshall ML, Nusbaum R, Vogel Postula KJ, Weissman SM, Yackowski L, et al. Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10,000 patients referred for next-generation cancer panel testing. *Genet Med.* 2016 Aug;18(8):823-32.
49. Caswell-Jin JL, Gupta T, Hall E, Petrovchich IM, Mills MA, Kingham KE, et al. Racial/ethnic differences in multiple-gene sequencing results for hereditary cancer risk. *Genet Med.* 2018 Feb;20(2):234-9.
50. Kurian AW, Ward KC, Hamilton AS, Deapen DM, Abrahamse P, Bondarenko I, et al. Uptake, Results, and Outcomes of Germline Multiple-Gene Sequencing After Diagnosis of Breast Cancer. *JAMA Oncol.* 2018 Aug 1;4(8):1066-72. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.0644

Submetido em: 13/11/2023

Aceito em: 19/11/2023