

OS AVANÇOS
NA PESQUISA
GENÉTICA PARA

câncer de mama e de ovário HEREDITÁRIOS



- ▶ Estratégia que possibilita o diagnóstico precoce, rastreamento individualizado e aconselhamento genético dos familiares, a **identificação de mulheres com risco aumentado para câncer de mama e de ovário tem se destacado nos últimos anos**

Consultoria médica:



Dra. Daniele Paixão Pereira
daniele.ppereira@grupofleury.com.br



Dr. Wagner Antonio da Rosa Baratela
wagner.baratela@grupofleury.com.br

Muitas mulheres preenchem os critérios para esse grupo de risco, que são determinados por estimativas que consideram a história familiar e/ou uma história pessoal de hiperplasia lobular ou ductal atípica ou de carcinoma lobular *in situ*. Atualmente, porém, testes moleculares para identificação de variantes patogênicas/provavelmente patogênicas em genes de predisposição hereditária ao câncer estão sendo bastante usados para definição de risco para essas pacientes.

É nesse contexto que apresentamos os testes genéticos disponíveis para a pesquisa de variantes em genes de predisposição, como o sequenciamento dos genes *BRCA1* e *BRCA2* até os painéis multigênicos. Os painéis genéticos para câncer de mama e de ovário hereditários são realizados por sequenciamento de nova geração (NGS) com validação para cobertura de deleções, duplicações ou variações em número de cópias (CNV) e passaram por rigoroso processo de validação com o Baylor College of Medicine como referência. Além dos resultados, disponibilizamos assessoria médica para auxílio na interpretação do laudo.

Sequenciamento dos genes *BRCA1* e *BRCA2*

Os genes *BRCA1* e *BRCA2*, localizados nos cromossomos 17 e 13, respectivamente, respondem pela maioria dos casos de câncer de mama e de ovário hereditários. Mulheres com variantes patogênicas/provavelmente patogênicas no *BRCA1* apresentam um alto risco para o desenvolvimento de câncer de mama (acima de 60% ao longo da vida) e de câncer de ovário (em torno de 40-58%), até os 70 anos de idade. Mulheres com variantes patogênicas/provavelmente patogênicas no gene *BRCA2*, também apresentam alto risco para câncer de mama e ovário ao longo da vida, além de outros tumores.

As diversas formas de pesquisar

MUTAÇÕES EM *BRCA*

SEQUENCIAMENTO COMPLETO *BRCA1* E *BRCA2*

O teste faz a análise completa e detalhada dos genes *BRCA1* e *BRCA2*, através do sequenciamento NGS para a detecção de variantes. O exame analisa mutações nos 22 éxons codificantes e nas regiões intrônicas adjacentes do *BRCA1* e nos 26 éxons codificantes e nas regiões intrônicas adjacentes do *BRCA2*. De maneira complementar, os seguintes genes também são sequenciados: *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1* (inclui promotor), *MRE11* (*MRE11A*), *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PMS1*, *PMS2*, *PTEN* (inclui promotor), *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *SMARCA4*, *STK11*, *TP53* (inclui promotor) e *XRCC2*. O teste inclui análise de variações no número de cópias (CNV) por NGS.

- 🧬 **Amostra:** sangue periférico ou saliva/*swab* (kit de coleta)
- 🕒 **Prazo do resultado:** 20 dias corridos

SEQUENCIAMENTO POR GENE

É possível fazer o mesmo teste apenas para o *BRCA1* ou apenas para o *BRCA2*, conforme o interesse clínico, através da mesma metodologia.

- 🧬 **Amostra:** sangue periférico ou saliva/*swab* (kit de coleta)
- 🕒 **Prazo do resultado:** 20 dias corridos

PESQUISA DE MUTAÇÃO ESPECÍFICA

Existe ainda a possibilidade de pesquisar uma única variante específica em qualquer um dos dois genes, para aqueles casos em que já foi identificada uma variante patogênica/provavelmente patogênica na família. A vantagem dessa modalidade de teste é permitir uma pesquisa individualizada por um custo menor.

- 🧬 **Amostra:** sangue periférico ou saliva/*swab* (kit de coleta)
- 🕒 **Prazo do resultado:** 20 dias corridos ▶

PESQUISA ISOLADA DE DUPLICAÇÕES E DELEÇÕES POR MLPA

Identifica especificamente os rearranjos – duplicações e deleções – de forma isolada nos genes *BRCA1* ou *BRCA2*, de acordo com o interesse clínico, pela técnica MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). É indicada para os pacientes que anteriormente realizaram a análise apenas pelo método de sequenciamento e necessitam complementá-la ou para variações em número de cópias em um dos dois genes identificadas na família.

- Amostra:** sangue periférico ou saliva/*swab* (kit de coleta)
- Prazo do resultado:** 15 dias corridos

PAINEL DE MUTAÇÕES FUNDADORAS PARA JUDEUS ASHKENAZI

Uma vez que as variantes 187delAG e 53insC, no gene *BRCA1*, e 6174delT, no gene *BRCA2*, são muito prevalentes na população judaica ashkenazi (1:40), recomenda-se teste genético para pacientes com história pessoal e/ou familiar de câncer de mama/ovário/próstata/pâncreas com ascendência ashkenazi. O painel apresenta um custo menor que o do sequenciamento completo dos dois genes.

- Amostra:** sangue periférico
- Prazo do resultado:** 15 dias corridos

PESQUISA DE MUTAÇÃO PONTUAL JÁ IDENTIFICADA NA FAMÍLIA

É possível fazer a avaliação pontual de alterações genéticas previamente conhecidas no grupo familiar. Realizado por amplificação da região de interesse, seguida por sequenciamento Sanger, o teste se destina ao indivíduo pertencente a uma família com diagnóstico genético confirmado, ou seja, com uma variante patogênica/provavelmente patogênica identificada em um ou mais genes de predisposição ao câncer. O exame, portanto, direciona-se à pesquisa da variante patogênica já identificada, de modo que o restante do gene em questão não é analisado.

O Grupo Fleury também disponibiliza esse teste, excepcionalmente de forma gratuita, para até seis familiares de um paciente que tenha realizado, no laboratório, um dos painéis para pesquisa de câncer hereditário sendo identificada uma variante patogênica/provavelmente patogênica. A mesma variante é pesquisada nos familiares elegíveis.

- Metodologia:** amplificação da região de interesse, seguida por sequenciamento Sanger.
- Amostra:** sangue periférico ou saliva/*swab* (kit de coleta)
- Prazo do resultado:** 30 dias corridos

PESQUISA DE REARRANJOS POR MLPA

Assim como feito para *BRCA1* e *BRCA2*, rearranjos – duplicações e deleções – nos genes *ATM*, *CHEK2*, *PALB2*, *PTEN* e *TP53* também podem ser pesquisados pela técnica de MLPA.

PAINEL DE MÚLTIPLOS GENES

para câncer de mama e de ovário hereditários

Os painéis genéticos para rastreamento da síndrome de câncer de mama e de ovário hereditários vêm sendo amplamente incorporados ao processo de avaliação de risco usado para analisar as mulheres que podem se beneficiar de um rastreamento mais intensivo ou de uma conduta específica direcionada. Alguns estudos mostram que, em pacientes sem alterações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, a prevalência de mutações em outros genes varia de 4% a 16%, o que corrobora, em alguns casos, a necessidade da pesquisa multigênica na suspeita de uma predisposição hereditária.

Painel genético para câncer de mama e ovário hereditário (25 genes)
Método NGS, com inclusão de análise de variação do número de cópias (CNV) também por NGS
Genes analisados <i>ATM</i> , <i>BARD1</i> , <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>BRIP1</i> , <i>CDH1</i> , <i>CHEK2</i> , <i>EPCAM</i> , <i>MLH1</i> (inclui promotor), <i>MRE11</i> (<i>MRE11A</i>), <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>NBN</i> , <i>NF1</i> , <i>PALB2</i> , <i>PMS1</i> , <i>PMS2</i> , <i>PTEN</i> (inclui promotor), <i>RAD50</i> , <i>RAD51C</i> , <i>RAD51D</i> , <i>SMARCA4</i> , <i>STK11</i> , <i>TP53</i> (inclui promotor), <i>XRCC2</i>
Amostra Sangue periférico ou saliva/ <i>swab</i> (kit de coleta)
Prazo do resultado 20 dias corridos

Painel genético para síndrome de Li-Fraumeni
Método NGS, com inclusão de CNV também por NGS
Genes analisados <i>ARHGAP30</i> , <i>CHEK2</i> , <i>PIK3CA</i> , <i>TP53</i> (inclui promotor)
Amostra Sangue periférico ou saliva/ <i>swab</i> (kit de coleta)
Prazo do resultado 20 dias corridos

Painel expandido para pesquisa de câncer hereditário (101 genes)
Método NGS, com inclusão de CNV também por NGS
Genes analisados <i>ALK</i> , <i>APC</i> (inclui promotor), <i>ATM</i> , <i>ATR</i> , <i>AXIN2</i> , <i>BAP1</i> , <i>BARD1</i> , <i>BLM</i> , <i>BMPR1A</i> (inclui promotor), <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>BRIP1</i> , <i>BUB1B</i> , <i>CDC73</i> , <i>CDH1</i> , <i>CDK4</i> , <i>CDKN1B</i> , <i>CDKN2A</i> , <i>CEBPA</i> , <i>CEP57</i> , <i>CHEK2</i> , <i>CTC1</i> , <i>CTNNA1</i> , <i>DDB2</i> , <i>DICER1</i> , <i>DKC1</i> , <i>EGFR</i> , <i>EGLN1</i> , <i>EPCAM</i> , <i>EXT1</i> , <i>EXT2</i> , <i>FAN1</i> , <i>FH</i> , <i>FLCN</i> , <i>GALNT12</i> , <i>GATA2</i> , <i>GPC3</i> , <i>GREM1</i> (inclui promotor e enhancer), <i>HOXB13</i> , <i>HRAS</i> , <i>KIF1B</i> , <i>KIT</i> , <i>LZTR1</i> , <i>MAX</i> , <i>MDH2</i> , <i>MEN1</i> , <i>MET</i> , <i>MITF</i> , <i>MLH1</i> (inclui promotor), <i>MLH3</i> , <i>MRE11</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH3</i> , <i>MSH6</i> , <i>MUTYH</i> , <i>NBN</i> , <i>NF1</i> , <i>NF2</i> , <i>NSD1</i> , <i>NTHL1</i> , <i>PALB2</i> , <i>PDGFRA</i> , <i>PHOX2B</i> , <i>PMS1</i> , <i>PMS2</i> , <i>POLD1</i> , <i>POLE</i> , <i>POT1</i> , <i>PRF1</i> , <i>PRKARIA</i> , <i>PTCH1</i> , <i>PTCH2</i> , <i>PTEN</i> (inclui promotor), <i>RAD50</i> , <i>RAD51C</i> , <i>RAD51D</i> , <i>RBI</i> , <i>RET</i> , <i>RHBDF2</i> , <i>RNF43</i> , <i>RUNX1</i> , <i>SDHA</i> , <i>SDHAF2</i> , <i>SDHB</i> , <i>SDHC</i> , <i>SDHD</i> , <i>SLX4</i> , <i>SMAD4</i> , <i>SMARCA4</i> , <i>SMARCB1</i> , <i>STK11</i> , <i>SUFU</i> , <i>TERT</i> (inclui promotor), <i>TMEM127</i> , <i>TP53</i> (inclui promotor), <i>TSC1</i> , <i>TSC2</i> , <i>VHL</i> , <i>WRAP53</i> , <i>WT1</i> , <i>XRCC2</i>
Amostra Sangue periférico ou saliva/ <i>swab</i> (kit de coleta)
Prazo do resultado 20 dias corridos

Na pesquisa de câncer hereditário, o painel expandido oferece uma boa relação custo-efetiva, tendo em vista que avalia múltiplos genes associados a diversos tumores, incluindo as neoplasias de mama e ovário, além de outras síndromes de predisposição ao câncer. O teste obtém uma profundidade de cobertura igual ou superior a 50 vezes para mais de 98% das regiões-alvo. Vale ponderar, contudo, que um exame para múltiplos alvos leva a uma maior complexidade de interpretação e uma maior identificação de variantes de significado incerto (VUS) e variantes patogênicas em genes não relacionados ao fenótipo do paciente, tornando o aconselhamento genético pós-teste mais desafiador, e dessa forma, deve ser realizada por profissionais experientes.

PAINEL RÁPIDO PARA CâNCER HEREDITÁRIO - FAST CANCER

Com utilidade também para avaliação de mutações germinativas relacionadas ao câncer hereditário, o painel rápido inclui 43 genes de alta e moderada penetrância com risco relativo associado a essas síndromes bem definido e é recomendado para pacientes com urgência no resultado, por possuir menor prazo de liberação.

Painel rápido para câncer hereditário - Fast Cancer (43 genes)	
Método NGS, com inclusão de CNV também por NGS	
Genes analisados <i>APC</i> (inclui promotor), <i>ATM</i> , <i>BARD1</i> , <i>BLM</i> , <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>BRIP1</i> , <i>CDH1</i> , <i>CDK4</i> , <i>CDKN2A</i> , <i>CHEK2</i> , <i>EGFR</i> , <i>EPCAM</i> , <i>HRAS</i> , <i>KIT</i> , <i>MEN1</i> , <i>MET</i> , <i>MLH1</i> (inclui promotor), <i>MRE11</i> (<i>MRE11A</i>), <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>MUTYH</i> , <i>NBN</i> , <i>NF1</i> , <i>NF2</i> , <i>NTHL1</i> , <i>PALB2</i> , <i>PMS1</i> , <i>PMS2</i> , <i>POLD1</i> , <i>POLE</i> , <i>PTEN</i> (inclui promotor), <i>RAD50</i> , <i>RAD51C</i> , <i>RAD51D</i> , <i>RBI</i> , <i>RET</i> , <i>SMAD4</i> , <i>SMARCA4</i> , <i>STK11</i> , <i>TP53</i> (inclui promotor), <i>WT1</i> , <i>XRCC2</i>	
Amostra Sangue periférico ou saliva/ <i>swab</i> (kit de coleta)	Prazo do resultado 10 dias corridos

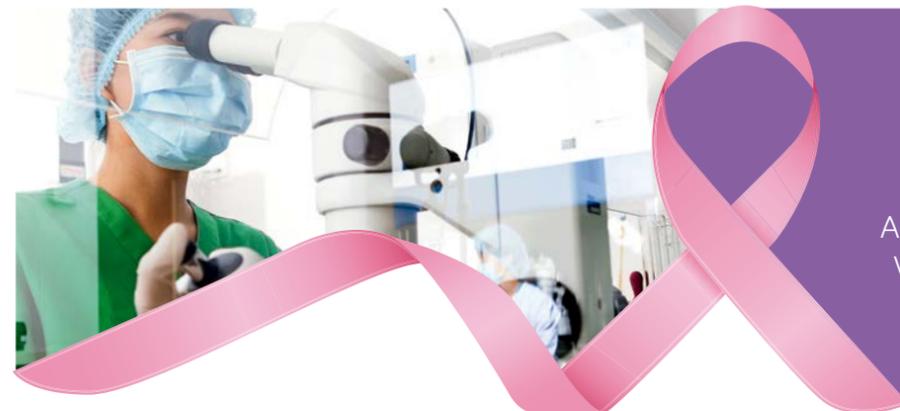
CRITÉRIOS GERAIS

para a avaliação de risco genético para câncer de mama e de ovário hereditários

- 1.** Indivíduo com câncer de ovário (tumor epitelial)⁽¹⁾;
- 2.** Indivíduo com diagnóstico de câncer de mama com qualquer uma das seguintes características:
 - a.** Mutação conhecida na família em gene de suscetibilidade ao câncer;
 - b.** Câncer de mama diagnosticado com idade ≤ 35 anos;
 - c.** Câncer de mama triplo-negativo (ER-, PR-, HER-2-), diagnosticado com idade ≤ 60 anos;
 - d.** Duas neoplasias de mama primárias em um mesmo indivíduo, sendo uma delas diagnosticada antes dos 50 anos ⁽²⁾;
 - e.** Câncer de mama em qualquer idade e:
 - Um ou mais parentes de primeiro, segundo ou terceiro grau com câncer de mama diagnosticado com idade ≤ 50 anos;
 - Um ou mais parentes de primeiro, segundo ou terceiro grau com câncer de ovário invasivo em qualquer idade;
 - Dois ou mais parentes de primeiro, segundo ou terceiro grau com câncer de mama, de próstata⁽³⁾ ou de pâncreas em qualquer idade;
 - História pessoal de câncer de pâncreas em qualquer idade;
 - Pertencente a uma população de risco aumentado;
 - Câncer de mama no sexo masculino;
- 3.** Indivíduo com câncer de próstata metastático;
- 4.** Indivíduo de descendência judaica Ashkenazi com câncer de mama, ovário, próstata ou pâncreas em qualquer idade;

⁽¹⁾ Inclui tuba uterina e câncer peritoneal primário.
⁽²⁾ Inclui doença bilateral ou dois tumores ipsilaterais claramente distintos, diagnosticados de forma tanto sincrônica quanto assincrônica.
⁽³⁾ Escore de Gleason ≥ 7 ou metastático.
⁽⁴⁾ Especialmente se diagnosticadas antes dos 50 anos, com múltiplos tumores primários em um mesmo indivíduo.

- 5.** Indivíduo com história pessoal ou familiar de três ou mais das seguintes neoplasias⁽⁴⁾: câncer de mama, de pâncreas ou de próstata⁽³⁾, melanoma, sarcoma, carcinoma adrenocortical, tumor cerebral, leucemia, câncer gástrico difuso, de cólon, de endométrio ou de tireoide, neoplasia renal, manifestações dermatológicas e/ou macrocefalia ou pólipos hamartomatosos do trato gastrointestinal;
- 6.** Indivíduo sem história pessoal de câncer, mas com:
 - a.** Um parente de primeiro, segundo ou terceiro grau com:
 - Mutação conhecida em um gene de suscetibilidade ao câncer na família;
 - Duas ou mais neoplasias de mama primárias em um mesmo indivíduo;
 - Dois ou mais indivíduos com câncer de mama primário do mesmo lado da família, tendo sido um deles diagnosticado com idade ≤ 50 anos;
 - Câncer de ovário;
 - Câncer de mama no sexo masculino;
 - b.** Parente de primeiro ou segundo grau com câncer de mama com idade ≤ 45 anos;
 - c.** História familiar de três ou mais das seguintes neoplasias⁽⁴⁾: câncer de mama, de pâncreas ou de próstata⁽³⁾, melanoma, sarcoma, carcinoma adrenocortical, tumor cerebral, leucemia, câncer gástrico difuso, de cólon, de endométrio ou de tireoide, neoplasia renal, manifestações dermatológicas e/ou macrocefalia ou pólipos hamartomatosos do trato gastrointestinal.



Critérios para a pesquisa de variantes patogênicas NOS GENES *BRCA1* E *BRCA2*

- 1.** Indivíduo de uma família com variante patogênica/provavelmente patogênica identificada nos genes *BRCA1* ou *BRCA2*.
- 2.** História pessoal de câncer de mama e um ou mais dos seguintes:
 - a.** Diagnóstico com idade ≤ 45 anos;
 - b.** Diagnóstico com idade ≤ 50 anos e:
 - Evolução com novo câncer de mama primário ipsilateral ou contralateral;
 - Um ou mais parentes próximos⁽¹⁾ com câncer de mama em qualquer idade ou com câncer de pâncreas ou próstata⁽²⁾;
 - História familiar limitada ou desconhecida;
 - c.** Diagnóstico com idade ≤ 60 anos e:
 - Câncer de mama triplo-negativo;
 - d.** Diagnóstico em qualquer idade e:
 - Dois ou mais parentes próximos⁽¹⁾ com câncer de mama, pâncreas ou próstata⁽²⁾ em qualquer idade;
 - Um ou mais parentes próximos⁽¹⁾ com câncer de mama diagnosticado com idade ≤ 50 anos;
- Um ou mais parentes próximos⁽¹⁾ com câncer de ovário;
- Um parente masculino de primeiro, segundo ou terceiro grau com câncer de mama;
- Indivíduo de etnia associada à presença de mutações fundadoras nesses genes, como os judeus Ashkenazi – nesses casos, não há necessidade de história familiar adicional;
- 3.** História pessoal de carcinoma epitelial de ovário;
- 4.** História pessoal de câncer de mama no sexo masculino;
- 5.** História pessoal de câncer de próstata de alto grau (Gleason ≥ 7) em qualquer idade, com, pelo menos, um parente próximo⁽¹⁾ com carcinoma de ovário em qualquer idade ou câncer de mama com idade ≤ 50 anos ou dois parentes com câncer de mama, pâncreas ou próstata⁽²⁾ em qualquer idade;
- 6.** História pessoal de câncer de próstata metastático;
- 7.** História pessoal de câncer de pâncreas em qualquer idade, com um ou mais parentes próximos⁽¹⁾

⁽¹⁾ Parentes de primeiro, segundo ou terceiro grau do mesmo lado da família.
⁽²⁾ Escore de Gleason ≥ 7 ou metastático.

PESQUISA DE MUTAÇÃO NOS GENES *BRCA1* E *BRCA2* PASSOU POR AMPLO PROCESSO DE VALIDAÇÃO E GEROU PUBLICAÇÃO NO HUMAN GENOMICS

O Grupo Fleury elaborou um painel para a detecção de mutações em *BRCA1* e *BRCA2*, feito por NGS da região codificadora e das junções éxon-intron e seguido de confirmação das variantes encontradas pela técnica Sanger e de análise de rearranjos pela técnica MLPA. O teste foi internamente customizado e submetido a rigoroso processo de avaliação da performance e validação. Na prática, o exame apresentou acurácia semelhante ao realizado na Myriad Genetic Laboratory, um centro de referência nessa pesquisa. Nas áreas técnicas do Grupo Fleury, o teste conseguiu identificar todas as variantes patogênicas nos dois genes, assim como a totalidade daquelas de significado indeterminado, quando comparado aos resultados do laboratório externo, em um estudo que envolveu 26 amostras. A pesquisa de mutação em *BRCA1* e *BRCA2* do Grupo Fleury, portanto, preenche os requisitos necessários para um exame diagnóstico, apresentando altíssima sensibilidade e reprodutibilidade, e ainda dispõe de uma grande base de dados, representativa da nossa população e apropriada para uso na interpretação de cada achado.