

Felipe Antonio de Oliveira Garcia

Identificação das bases genéticas envolvidas no Câncer Colorretal Familiar Tipo X (FCCTX)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde

Área de concentração: Oncologia

Orientadora: Profa. Dra. Edenir Inêz Palmero

Barretos, SP

2020

Felipe Antonio de Oliveira Garcia

Identificação das bases genéticas envolvidas no Câncer Colorretal Familiar Tipo X (FCCTX)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde

Área de concentração: Oncologia

Orientadora: Profa. Dra. Edenir Inêz Palmero

Barretos, SP

2020

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Felipe Antonio de Oliveira Garcia

Título: Identificação das bases genéticas envolvidas no Câncer Colorretal Familiar Tipo X (FCCTX)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação PIO XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre/Doutor em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Oncologia

Data da aprovação: 12/08/2020

Banca Examinadora:

Dr. Miguel Ângelo Martins Moreira
Instituição: Instituto Nacional de Câncer

Dr. Samuel Aguiar Júnior
Instituição: Hospital A.C. Camargo

Dra. Edenir Inêz Palmero
Orientadora

Dra. Adriane Feijó Evangelista
Presidente da Banca

SUPORTE À PESQUISA POR AGÊNCIA DE FOMENTO

A dissertação de mestrado aqui apresentada foi desenvolvida no âmbito de financiamento pelo Hospital de Câncer de Barretos (assim como a bolsa individual), Fundação Pio XII, por meio do Auxílio de Apoio ao Pesquisador (PAIP), pelo Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica do Ministério da Saúde – PRONON e pelo Grupo Empresarial Marcos Lúcio do Bom Conselho (COTEMIG).

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão das instituições supracitadas.

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE DOS PESQUISADORES

Esta dissertação foi elaborada e está apresentada de acordo com as normas da Pós-Graduação do Hospital de Câncer de Barretos – Fundação Pio XII, baseando-se no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Oncologia e no Manual de Apresentação de Dissertações e Teses do Hospital de Câncer de Barretos. Os pesquisadores declaram ainda que este trabalho foi realizado em concordância com o Código de Boas Práticas Científicas (FAPESP), não havendo nada em seu conteúdo que possa ser considerado como plágio, fabricação ou falsificação de dados. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos.

**Dedico esse trabalho primeiramente à Deus, meu criador e guia. À minha orientadora,
Prof. Dra. Edenir, que com muito esforço, amor e carinho tem me iluminado com
conhecimento. A meus familiares (mãe Raquel, pai Carlos, irmão Fernando e noiva
Giovanna), meus amores.**

Agradecimentos

À **Deus**, por Sua imensa compaixão e paciência para comigo, pelas pessoas maravilhosas que, durante todo o transcorrer do trabalho, tem colocado em meu caminho. Por Sua luz, guia, voz e guarda, que muitas vezes nos passam despercebidas, invisíveis, mas que sempre estiveram lá dando um auxílio nas dificuldades. Agradeço a oportunidade do desenvolvimento desse trabalho e que sirva como propósito de Sua criação, porque Dele e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente. Amém.

À minha ilustre, querida e amada orientadora professora doutora **Edenir**, para qual busquei, pensei e procurei diversas formas de demonstrar minha imensa gratidão que tenho para com ela. Deus me deu a sorte de ter uma orientadora carinhosa, profissional, dedicada, inteligente e dentre outros pois, apesar de ter candidatos e candidatas, escolheu a mim para ser seu discípulo. Por meio de incentivos, reuniões, propostas, apresentações, eventos, encontro de corredores e tanto mais me fizeram crescer pessoal e profissionalmente. A senhora tem um poder mágico de nos fazer se apaixonar pelos nossos projetos de tal forma que foi um estágio, uma iniciação científica e um mestrado. Eu não tenho como escolher palavras para agradecê-la, para mim foi muito mais do que uma orientadora, é uma mestre, um exemplo e uma grande amiga de quem tenho muito orgulho. A você, querida orientadora: graça, misericórdia, e paz da parte de Deus Pai, e da de Cristo Jesus.

À minha **família**, meus pais Raquel e Carlos, meu irmão Fernando e minha noiva Giovanna, que sempre têm demonstrado imenso amor e incansável apoio e incentivo a mim nessa e em outras jornadas.

Ao meu querido **grupo de pesquisa** em câncer hereditário que direta e indiretamente, profissional e pessoalmente têm sempre me ajudado, sejam membros ou ex-membros: em especial Dra. Natália, Dra. Paula, Dra. Edilene, Me. Cíntia, Me. Ariane, Me. Rebeca, senhor Vítor, senhor Murilo, senhorita Kericy, senhorita Amanda pelo companheirismo, amizade, diversão, risos, discussões, reuniões e principalmente pelo aprendizado e por me julgarem dignos de me passarem seus conhecimentos. Ainda agradeço mais precisamente à Me. Cíntia por sua paciência e dedicação em me ensinar técnicas de biologia molecular e à Dra.

Edilene, por nossas muitas reuniões, pequenas e longas (e muito boas) discussões das (mas não somente) nossas queridas ferramentas e por todos os ensinamentos em análises bioinformáticas. A vocês meus mais sinceros agradecimentos: “Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina” (Cora Coralina).

Aos meus **companheiros(as)** Dra. Mariana, Me. Flávia, Me. Lázaro, Me. Rodrigo, Me. Maria Fernanda e senhorita Priscila Pedrão a quem Deus me deu a graça de conhecê-los e que sempre estiveram lá por mim; imensamente grato pelo crescimento pessoal e profissional que me foi proporcionado por vocês. Pelas risadas, reuniões e realizações de eventos, visto que estávamos juntos nas comissões de tudo nesse hospital e em todas as disciplinas.

Ao **Centro de Diagnóstico Molecular** pela experiência de aprendizado e profissionalismo, em especial à Me. Gabriela, que com paciência e dedicação também muito me ensinou.

Aos membros da **banca de acompanhamento**, Dr. Miguel Moreira e Dra. Adriane Feijó pela dedicação e pelas muitas contribuições ao projeto. Em especial, à Dra. Adriane por seu companheirismo, carinho e muitos conselhos pessoais e profissionais em todo o decorrer do trabalho.

Ao **Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular**, à **pós graduação**, ao **Departamento de Oncogenética**, aos **pacientes** e seus **familiares** por permitirem a realização do trabalho e a geração do conhecimento nele contido.

Ao **Ministério da Saúde**, grupo empresarial **COTEMIG** e ao **Hospital de Câncer de Barretos** pelo financiamento da pesquisa.

A todos os demais que contribuíram diretamente ou indiretamente, pessoal ou profissionalmente a mim e/ou na realização desse projeto e, se não estiverem supracitados, meus sinceros agradecimentos, meu muito obrigado.

“Adquire a sabedoria, adquiere a inteligência, e não te esqueças nem te apartes das palavras da minha boca. Não a desampare e ela te guardará: ama-a e ela te conservará. A sabedoria é cousa principal: adquiere pois a sabedoria: sim, com tudo o que possuis adquiere o conhecimento. Exalta-a, e ela te exaltará; e, abraçando-a tu, ela te honrará.”

Rei Salomão

SUMÁRIO

1) Introdução	1
1.1) Epidemiologia do Câncer	1
1.2) Genética do Câncer	1
1.3) Câncer hereditário	2
1.3.1) Aspectos gerais do câncer hereditário	2
1.4) Câncer Colorretal	5
1.4.1) Aspectos Gerais	5
1.5) Câncer Colorretal Hereditário	8
1.5.1) Aspectos gerais	8
1.5.2) Síndrome de Lynch e a Síndrome de Lynch-like	8
1.5.3) Câncer Colorretal Familiar Tipo X - FCCTX	12
1.6) Variantes: conceito e classificação	16
2) Justificativa	20
3) Objetivos	21
3.1) Objetivo Geral	21
3.2) Objetivos Específicos	21
4) Materiais e Métodos	22
4.1) Estratégia de Investigação e Delineamento do Estudo	22
4.2) Casuística	22
4.3) Amostras de material biológico	24
4.4) Sequenciamento Completo do Exoma (<i>Whole Exome Sequencing</i> – WES)	25
4.5) Chamada de variantes	25
4.6) Genes avaliados no estudo	26
4.7) Anotação de Variantes	26
4.7.1) Intervar e ACMG	28
4.7.2) Revisão e priorização manual	28
4.7.3) Bancos de dados	29

4.8) Confirmação dos dados - Sequenciamento convencional	33
4.9) Obtenção dos dados clínicos, histopatológicos e de história familiar	33
4.10) Análises Estatísticas	34
5) Aspectos Éticos	34
6) Resultados	35
6.1) Dados clínico-patológicos	35
6.2) Dados de História Familiar	36
6.3) Dados moleculares	40
6.3.1) Variantes germinativas identificadas	40
7) Discussão	61
8) Conclusão	71
9) Referências Bibliográficas	72
Anexo A: Lista de genes e grupos	82
Anexo B: Lista de Heredogramas	100
Anexo C: Variantes classe III	133
Anexo D: <i>Primers</i>, ciclagens e protocolos usados para confirmação dos achados	142
Anexo E: Ficha de coleta	145
Anexo F: Parecer Consubstanciado Do Comitê de Ética em Pesquisa (FCCTX)	150
Anexo G: Parecer Consubstanciado Do Comitê de Ética em Pesquisa (PRONON)	162

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Hallmarks do câncer

Figura 2: Sistema de mismatch repair e microssatélites

Figura 3: Critérios utilizados para classificação de variantes

Figura 4: Combinações para classificação de variantes segundo a ACMG

Figura 5: Fluxograma dos testes realizados no Centro de Diagnóstico Molecular do Hospital de Câncer de Barretos para diagnóstico dos pacientes com suspeita de Síndrome de Lynch e que serviu como base para a identificação dos participantes do estudo.

Figura 6: Diagrama de Venn dos genes analisados

Figura 7: Fluxograma ilustrando a metodologia utilizada para classificação das variantes.

Figura 8: Gráfico ilustrando a localização das variantes nos cromossomos

Figura 9: Gráfico ilustrando a proporção de variantes

Figura 10: Heredograma da família 17

Figura 11: Heredograma da família 21

Figura 12: Heredograma da família 24

Figura 13: Heredograma da família 26

Figura 14: Heatmap das variantes classes IV e V

Figura 15: Heredograma da família 6

Figura 16: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *OGG1*

Figura 17: Legenda das redes de genes do *STRING*

Figura 18: Heredograma da família 33

Figura 19: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *CHEK2*

Figura 20: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *FAN1*

Figura 21: Heredograma da família 21

Figura 22: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *PRKN*

Figura 23: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *SLX4*

Figura 24: Heredograma da família 13

Figura 25: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *TREX1*

Figura 26: Heredograma da família 3

Figura 27: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *ATR*

Figura 28: Heredograma da família 22

Figura 29: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *ASXL1*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Síndromes hereditárias mais frequentes

Tabela 2 – Incidência de CCR

Tabela 3 – Mortalidade associada ao CCR

Tabela 4 – Genes associados à Síndrome de Lynch

Tabela 5 – Critérios clínicos para a identificação de famílias com Síndrome de Lynch

Tabela 6 – Análise dos estudos relacionados ao FCCTX

Tabela 7 – Descrição da função gênica dos estudos relacionados ao FCCTX

Tabela 8 – Informações sócio-demográficas e clinicopatológicas dos pacientes do estudo

Tabela 9 – Histórico familiar dos pacientes do estudo

Tabela 10 – Tipos de variantes encontradas em toda casuística

Tabela 11 - Variantes em genes da Síndrome de Lynch

Tabela 12: Tabela dos genes “acionáveis” conforme ACMG

Tabela 13 - Classificação das variantes classes IV e V identificadas

Tabela 14 – Lista de variantes classes IV e V identificadas

Tabela 15 - Dados clínico-patológicos dos pacientes com variantes IV e V

LISTA DE ABREVIACÕES

CCR – Câncer Colorretal

FCCTX* – *Familial Colorectal Cancer Type X*

NCBI* – *National Center of Biotechnological Information*

SL – Síndrome de Lynch

MMR* – *Mismatch Repair*

MSI* – *Microsatellite instability*

MSI-H* – *High Microsatellite instability*

MSI-L* – *Low Microsatellite instability*

MSS – *Microsatellite Stable*

INCA – Instituto Nacional do Câncer

MLPA* – *Multiplex ligation-dependent probe amplification*

WES* – *Whole Exome Sequencing*

GATK* – *Genome Analyse Tool Kit*

ACMG* – *American College of Medical Genetics and Genomics*

REVEL* – *Rare Exome Variant Ensemble Learner*

M-CAP* – *Mendelian Clinically Applicable Pathogenicity*

HSF* – *Human Splicing Finder*

IGV* – *Integrative Genome Viewer*

OMS – Organização Mundial da Saúde

DNA* - *Deoxyribonucleic Acid*

HGVS* – *Human Genome Variation Society*

RCV – Risco Cumulativo Vital

HNPCC* – *Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer*

HCB – Hospital de Câncer de Barretos

WT* – *Wild Type*

PCR* – *Polymerase Chain Reaction*

COSMIC* – *Catalog of Somatic Mutations*

UniProt* - *Universal Protein Resource*

gnomAD* - *Genome Aggregation Database*

AbraOM – Arquivo Brasileiro Online de Mutações

*Do inglês

Resumo

A Síndrome de Lynch (SL) é uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer, causada pela presença de variantes germinativas patogênicas nos genes do sistema MMR (*mismatch repair*), cujos portadores apresentam um risco de desenvolvimento de câncer colorretal (CCR) de até 80% ao longo da vida. No entanto, uma parcela considerável dos casos de CCR hereditário (~40%) tem sua causa genética desconhecida. Famílias classificadas como apresentando Câncer Colorretal Familiar do Tipo X (FCCTX) se caracterizam por apresentar uma história familiar de câncer similar à das famílias com SL, entretanto, diferentemente da SL, não há em FCCTX o envolvimento do sistema MMR como fator causal da carcinogênese. Dessa forma, o objetivo central do estudo foi realizar uma ampla caracterização clínica e molecular de um grupo de indivíduos com critérios sugestivos de FCCTX. A caracterização molecular foi feita por meio de sequenciamento do exoma (WES) de amostras constitutivas utilizando as plataformas de sequenciamento HighSeq e NovaSeq. A chamada de variantes se deu por meio do programa GATK e a anotação por meio do ANNOVAR. As variantes foram classificadas conforme preconizado pela *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) através do Intervar. Ainda, o banco de dados doença-específico ClinVar, os bancos de variantes populacionais gnomAD e ABraOM e as ferramentas de predição *in silico* de patogenicidade REVEL, M-CAP e *Human Splicing Finder* foram utilizados. Todas as variantes classificadas como patogênicas ou possivelmente patogênicas foram revisadas manualmente. Adicionalmente, as variantes foram analisadas no *Integrative Genome Viewer* (IGV) para remoção de falsos positivos. Foram incluídos no estudo 38 pacientes provenientes de 33 famílias que preenchem os critérios de Amsterdã I, Amsterdã I – 1 e Amsterdã I – 2. A média de idade ao diagnóstico foi 48 anos e todos apresentaram os tumores colorretais eram adenocarcinomas. Em relação às variantes identificadas após as etapas de priorização de variantes, foram encontradas três variantes patogênicas (classes V) nos genes *TREX1*, *ATR*, e *ASXL1* e cinco variantes provavelmente patogênicas (classes IV) nos genes *OGG1*, *PRKN*, *FAN1*, *SLX4* e *CHEK2*. Dentre os genes com variantes patogênicas/provavelmente patogênicas identificadas, alguns deles já foram associados, previamente, à síndromes de predisposição hereditária ao câncer, e, especificamente ao desenvolvimento do câncer colorretal cabe destacar os genes *OGG1*, *CHEK2*, *FAN1*, *PRKN* e *ATR*. Embora a associação das variantes com o desenvolvimento dos tumores observada nas famílias avaliadas precisa ser

aprofundada e confirmada por estudos adicionais, o trabalho aqui realizado representa um avanço no conhecimento acerca da FCCTX, e apresenta novos potenciais genes envolvidos com o desenvolvimento dessa síndrome.

Palavras-chave: Câncer Hereditário, Câncer Colorretal Hereditário, Câncer Colorretal Familiar Tipo X, FCCTX, Síndrome X.

1) Introdução

1.1) Epidemiologia do Câncer

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS)¹, câncer é um grupo de doenças caracterizado por um crescimento anormal de células com a capacidade de invadir outros tecidos e órgãos, sendo a segunda maior causa de mortes no planeta (Cancer – OMS 2020). No ano de 2018 houve aproximadamente 18,1 milhões de novos casos de câncer e 9,6 milhões de mortes em decorrência do mesmo (excluindo câncer de pele não-melanoma). No Brasil para cada ano do triênio 2020-2022 espera-se aproximadamente 625.000 novos casos e aproximadamente 218.640 mortes^{2,3}.

1.2) Genética do Câncer

Para se tornar uma célula tumoral, uma célula normal precisa adquirir uma série de mudanças celulares e moleculares. Essas mudanças foram denominadas por Hanahan e Weinberg como “*Hallmarks of cancer*”, ilustradas na figura 1 e consistem em sustentação do sinais proliferativos, evasão dos supressores de crescimento e destruição imunológica, imortalidade replicativa, capacidade de invadir tecidos e de metastização, estimulação da angiogênese, resistência à morte celular e o desbalanceamento do sistema energético. Os autores destacam ainda dois tipos de alterações como sendo as promotoras ou “habilitadoras” do processo de carcinogênese, que seriam a aquisição da instabilidade genômica (acúmulo de mutações) e a promoção de reação inflamatória tumoral causada pelo sistema imune⁴.

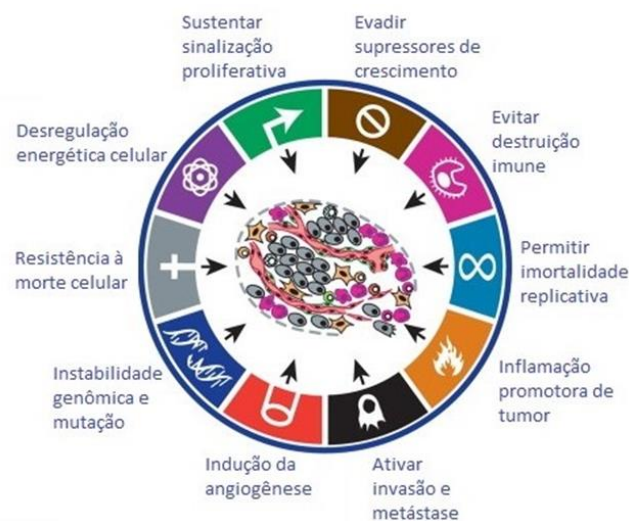


Figura 1: *Hallmarks* do câncer, adaptado de Hanahan e Weinberg⁴

As alterações celulares observadas nas células tumorais ocorrem em decorrência de alterações genéticas que resultam na perda de função de genes supressores tumorais responsáveis por controlar negativamente o ciclo celular (reparos de danos ao DNA nos *checkpoints* e apoptose), ou no ganho de função de proto-oncogenes. Estes se transformam em oncogenes cujo produto proteico pode ser alterado quantitativa (aumento da produção da proteína) ou qualitativamente (quando a proteína em si está alterada), promovendo os fatores de crescimento e divisão celular, mantendo assim as vias de progressão de ciclo celular constitutivamente ativas⁴.

O gene supressor tumoral mais comumente mutado nos tumores é o *TP53*. Ele é responsável por codificar a proteína p53 cuja função é se ligar diretamente à molécula de DNA e verificar se a mesma pode ser reparada após sofrer algum dano⁵. Sempre que possível, a p53 recruta outros genes de reparo de danos conforme o tipo de dano sofrido (reparo por recombinação homóloga ou não homóloga, excisão de bases, excisão de nucleotídeos e MMR (*Mismatch Repair*)). Caso a molécula não possa ser reparada, a p53 sinaliza para a célula entrar em apoptose ou morte celular programada⁶.

O proto-oncogene mais comumente mutado nos tumores é o *PIK3CA*. Ele é responsável por codificar a proteína p110 alfa, que consiste em uma subunidade da enzima fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)⁵. Essa enzima é responsável por fosforilar proteínas envolvidas no crescimento, divisão, movimento e migração celular, tradução, transporte de substâncias citoplasmáticas e sobrevivência⁶.

1.3) Câncer hereditário

1.3.1) Aspectos gerais do câncer hereditário

Cerca de 10% de todos os casos de câncer possuem caráter hereditário e são caracterizados por acometerem vários membros de diferentes gerações de uma família, com diversos tipos de tumores e geralmente em idade jovem. A identificação de indivíduos em risco para câncer hereditário é importante por várias razões. Primeiro, pelo maior risco cumulativo vital (RCV). Segundo, porque outros familiares de um indivíduo afetado podem estar em risco. Terceiro, porque medidas de rastreamento intensivo e intervenções preventivas se mostram eficazes em reduzir significativamente o risco de câncer em portadores de variantes⁷⁻¹¹. Além disso, a identificação precisa de um indivíduo não afetado em uma família de risco permite tranquilizar o mesmo e elimina os gastos e complicações de

rastreamento e intervenções preventivas desnecessárias. As famílias portadoras de síndromes de câncer hereditário são identificadas por meio de critérios clínicos e devem ser encaminhadas para programas de rastreamento e acompanhamento de famílias de alto risco, a fim de manter uma vigilância maior sobre os familiares, visto que possuem um RCV superior ao da população em geral¹².

Os cânceres hereditários em sua maioria seguem um padrão de herança autossômica dominante, ou seja, herda-se um alelo de um supressor tumoral de cada um dos pais, porém, um dos alelos herdados não é funcional em todas as células do organismo. Consequentemente a perda do alelo funcional remanescente pode ser o suficiente para dar início ao processo de carcinogênese. Os tipos de cânceres envolvidos nas síndromes hereditárias mais conhecidas, os genes associados, bem como suas vias ou funções na proteína, são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Síndromes hereditárias mais frequentes¹⁴

Síndrome	Tumores envolvidos	Genes	Vias/Função*
Síndrome de Predisposição Hereditária ao Câncer de Mama e Ovário (HBOC)	Mama, ovário, próstata, pâncreas e melanoma	<i>BRCA1, BRCA2, PALB2, ATM</i>	Reparo por recombinação homóloga
Síndrome de Li-Fraumeni	Sarcomas, tumores cerebrais, leucemias, mama e adrenocorticais infantis principalmente	<i>TP53</i>	Reparo e apoptose
Síndrome de Lynch	Endométrio, gástrico, trato biliar, trato urinário, ovário, mama, pâncreas, intestino delgado, sistema linfático, sistema hematopoiético e cérebro	<i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM</i>	Reparo por <i>MMR</i>
Síndrome de Lynch-like	Similar a Lynch	Desconhecido	Desconhecido
FCCTX	Colorretal	<u>Desconhecido</u>	<u>Desconhecido</u>
Polipose adenomatosa familiar	Colorretal	<i>APC</i>	Controle de divisão e aderência celular. Verificação do número de cromossomos durante a divisão celular
Polipose atenuada	Colorretal	<i>MUTYH</i>	Reparo por excisão de bases
Polipose juvenil	Colorretal	<i>SMAD4, BMPR1A</i>	Regulação gênica
Síndrome de Peutz-Jeghers	Colorretal	<i>STK11, LKB1</i>	Enzima (serina/treonina quinase) controladora de polarização, controle do uso de energia e regulação de apoptose
Síndrome de Cowden	Gástrico, colorretal, pâncreas, colo de útero, mama e ovário, principalmente	<i>PTEN</i>	Fosfatase (remoção de fosfatos)
Neoplasia endócrina múltipla	Tumores glandulares	<i>MEN1, RET e CDKN1B</i>	Reparo de DNA e apoptose; proteína transmembrana de sinalização (divisão); bloqueio de ciclo celular e controle de diferenciação
Síndrome de Von Hippel-Lindau	Renal, pancreático, adrenal (feocromocitoma), hemangioblastoma	<i>VHL</i>	Regulação gênica, controle de ciclo celular e degradação proteica
Câncer Gástrico Difuso Hereditário	Gástrico, mama, próstata e colorretal	<i>CDH1</i>	Adesão celular, sinalização intracelular (maturação, movimentação e regulação gênica)

Adaptado de McCartan DP, 2017¹⁴. *Genetics Home Reference - National Institute of Health

1.4) Câncer Colorretal

1.4.1) Aspectos Gerais

O câncer colorretal (CCR) é o terceiro tumor maligno mais incidente no mundo em ambos os sexos, correspondendo, conforme os dados da GloboCan (2018) a 6,1% de todos os tumores malignos e a 5,8% das mortes por câncer³, e, segundo estimativas brasileiras para 2020 foi o terceiro mais comum entre os homens e o segundo entre as mulheres².

Aproximadamente 60% dos cânceres colorretais possuem caráter esporádico, não apresentando um padrão de herança típico das síndromes hereditárias e sendo causados, principalmente, por fatores ambientais e ocupacionais. Aproximadamente 20% são classificados como tumores familiares. Nesses casos ocorre uma somatória entre variantes genéticas em genes de baixo risco e a presença de fatores ambientais/ocupacionais comuns em determinada família ou agrupamento familiar. Por fim, cerca de 10 a 20% dos casos são tumores de caráter hereditários, nos quais se observa um acometimento de vários membros da família por alguns tumores do espectro da síndrome hereditária em questão, além de haver o acometimento de múltiplos tumores primários em um mesmo familiar. Esses tumores seguem padrão de herança (autossômico dominante na maior parte dos casos), desenvolvendo-se em idade jovem¹⁵.

Um estudo do *The Cancer Genome Atlas Program* (TCGA) do Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos, detectou que cerca de 60% dos casos de CCR esporádicos estão associados à perda de função de genes supressores tumorais, principalmente *FBXW7*, *PTEN*, *TP53*, *SMAD2*, *SMAD4*, *APC*, *ARID1A*. E, em cerca de 40% ocorrem alterações que levam a um ganho de funções e afetam genes classificados como proto-oncogenes, destacando-se *CTNNB1*, *PIK3CA*, *GNAS*, *ACVR2A*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*⁶.

No que se refere às alterações hereditárias, trabalho publicado por Huang e colaboradores, com dados oriundos do mesmo consórcio (TCGA) detectou em uma casuística de 10.389 adultos, sendo 419 portadores de câncer de cólon (idade média ao diagnóstico de 66,7 anos distribuídos semelhantemente entre os sexos), variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *PALB2*, *MSH6* e *SDHA*. Já nos pacientes acometidos por câncer de reto (145 indivíduos com idade média ao diagnóstico de 63,7 anos distribuídos semelhantemente entre os sexos) os principais genes alterados foram *BRCA2*, *PALB2*, *RET* e *APC*¹⁶.

Dentre os principais fatores de risco para o desenvolvimento do CCR estão o fumo, consumo de álcool, ingestão de carne vermelha e processada, sedentarismo e obesidade, enquanto que o consumo de fibras, cálcio, folatos (inibem carcinogênese, mas caso haja um tumor, acelera o crescimento), vitamina D, antioxidantes e óleo de peixe reduzem o risco¹⁷. De forma geral o risco de desenvolvimento de CCR aumenta com a idade (iniciando próximo à 3%), acometendo majoritariamente a faixa etária acima dos 50 anos (~90%), sendo igualmente distribuído entre os sexos, com maior frequência em afro-americanos e aproximadamente duas, três e seis vezes maior naqueles com um familiar, um familiar < 50 anos e dois familiares afetados respectivamente. A sobrevida média e a sobrevida livre de doença em cinco anos é significativamente maior em mulheres (55,2% em mulheres *versus* 49% em homens e 67,3% em mulheres *versus* 64% em homens respectivamente)^{13,18}.

Países desenvolvidos tendem a apresentar uma incidência três vezes maior do que os países em desenvolvimento, visto que os fatores de risco são em sua maioria relacionados ao estilo de vida e condição financeira, sendo que essa diferença pode chegar até a oito vezes em algumas regiões, sendo os maiores riscos encontrados na Europa e Austrália³. Arnold e colaboradores extraíram do GLOBOCAN e do *Cancer Incidence in Five Continents* informações que permitiram descrever um padrão de incidência e mortalidade de CCR e identificaram três padrões internacionais: aumento na incidência e mortalidade (países como Rússia, China e Brasil), aumento na incidência e redução de mortalidade (países como Canadá e Reino Unido), e redução de ambas (países como Estados Unidos e Japão), justificando o aumento da incidência com o envelhecimento da população e aumento dos maus hábitos no estilo de vida, bem como a redução da mortalidade como associada às políticas de rastreamento e tratamento¹⁹. Abaixo nas tabelas 2 e 3 encontra-se o número de casos e fatalidades, risco padronizado por idade de desenvolver CCR e de morte (do nascimento aos 75 anos por 100.000 habitantes) e o risco cumulativo de desenvolver e de morte (do nascimento aos 75 anos) dos cânceres colorretais (cólon, reto e ânus), conforme publicado pela GLOBOCAN em 2018.

Tabela 2 – Incidência de CCR*

		Masculino		Feminino		
Local	Casos	Risco	Risco	Casos	Risco	Risco
		padronizado por idade	cumulativo (0 – 75 anos)		padronizado por idade	cumulativo (0 – 75 anos)
Cólon	575.789	13,1	1,51	520.812	10,1	1,12
Reto	430.230	10,0	1,20	274.146	5,6	0,65
Ânus	20.196	0,5	0,05	28.345	0,6	0,07

*Globocan, 2018

Tabela 3 – Mortalidade associada ao câncer colorretal*

		Masculino		Feminino		
Local	Casos	Risco	Risco	Casos	Risco	Risco
		padronizado por idade	cumulativo (0 – 75 anos)		padronizado por idade	cumulativo (0 – 75 anos)
Cólon	290.509	6,4	0,66	260.760	4,6	0,44
Reto	184.097	4,2	0,46	126.297	2,4	0,26
Ânus	9.618	0,2	0,03	9.511	0,2	0,02

*Globocan, 2018

Os tumores colorretais são classificados pela OMS da seguinte maneira: 1) Tumores epiteliais correspondendo a lesões pré-malignas (adenoma, tubular, vilosidade, tubuloviloso e displasia), lesões serrilhadas (pólipo hiperplásico, pólipo/adenoma serrilhado séssil e adenoma serrilhado tradicional), hamatomatoses (pólipo associado a Cowden, pólipo juvenil e pólipo de Peutz Jeghers), carcinomas (Adenocarcinoma (adenocarcinoma cribriforme do tipo comedo, carcinoma medular, carcinoma micropapilar, adenocarcinoma mucinoso, adenocarcinoma serrilhado e carcinoma de células de anel de sinete), carcinoma adenoescamoso, carcinoma de células fusiformes, carcinoma de células escamosas e carcinoma indiferenciado), neoplasias neuroendócrinas (tumor neuroendócrino (NET, NET G1 e G2), carcinoma neuroendócrino (NEC de células grandes ou pequenas), carcinoma adenoneuroendócrino misto, NET de célula CE produtora de serotonina e NET de célula L produtora de peptídeos do tipo glucagon e redes de produção de PP/PYY), 2) Tumores mesenquimais correspondendo a: leiomioma, lipoma, angiossarcoma, tumor estromal

gastrointestinal, sarcoma de Kaposi e leiomiossarcoma, 3) Linfomas e 4) Tumores secundários²⁰. Cerca de 90% dos casos de CCR são adenocarcinomas (subtipo de carcinoma) que por sua vez são classificados em três graus de diferenciação (bem diferenciados, moderadamente e pobremente diferenciados)²¹.

1.5) Câncer Colorretal Hereditário

1.5.1) Aspectos gerais

Estima-se que aproximadamente 10-20% do total de CCRs sejam hereditários e 20-30% correspondam a agrupamentos de tumores ocorridos em uma mesma família, os chamados tumores familiares²². Com base nas estimativas brasileiras sobre a ocorrência de CCR no país para este ano de 2020, pode-se inferir um número aproximado de 4.100 casos de CCR com caráter hereditário. Estes dados são alarmantes visto que a maior parte destes tumores não é reconhecida como tendo origem hereditária, dado o desconhecimento por parte dos profissionais da saúde e a falta de serviços especializados no diagnóstico e aconselhamento genético de síndromes de predisposição hereditária ao câncer no país¹².

As síndromes de predisposição ao CCR se dividem em dois grupos caracterizados, principalmente, pela presença ou ausência de pólipos, sendo que tanto nas síndromes com tumores polipomatosos quanto nas com tumores não polipomatosos, existe um aumento na chance de desenvolvimento de câncer colorretal. As síndromes polipomatosas caracterizam-se por apresentarem uma grande quantidade de pólipos (>100 variando de acordo com a síndrome) e nela encontram-se: Polipose Adenomatosa Familiar, Polipose Atenuada (associada com *MutYH*) e Hamartomatoses (polipose juvenil e Peutz-Jeghers), principalmente. Nas síndromes não polipomatosas cuja presença de pólipos é pequena (<100) encontram-se a Síndrome de Lynch (SL), a Síndrome de Lynch-like e o Câncer Colorretal Familiar do Tipo X (FCCTX). Dentre as principais síndromes de predisposição ao CCR, a SL é a mais frequente²³.

1.5.2) Síndrome de Lynch e a Síndrome de Lynch-like

A SL é uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer, com caráter autossômico dominante e é responsável por, aproximadamente, 5-10% de todos os casos de CCR. Esta síndrome é causada principalmente por variantes germinativas patogênicas nos genes do sistema de reparo de mau pareamentos do DNA (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*) e,

mais raramente, no gene *EPCAM*¹⁵. Para avaliar o mau funcionamento nos genes desses sistemas, pode-se utilizar tecnologias de sequenciamento a fim de detectar possíveis mutações e/ou variantes patogênicas ou por meio da mensuração imunohistoquímica a fim de averiguar se as proteínas codificadas por esses genes estão sendo ou não sendo produzidas. As funções dos referidos genes estão descritas na tabela 4.

Tabela 4 – Genes associados à Síndrome de Lynch

Gene	Função proteica*
<i>MLH1</i>	Complexo proteico de reparo de maus pareamentos (junto com pms2)
<i>MSH2</i>	Identificação de regiões mal pareadas (junto com msh3 e/ou msh6)
<i>MSH6</i>	Identificação de regiões mal pareadas (junto com msh2)
<i>PMS2</i>	Complexo proteico de reparo de maus pareamentos (junto com mlh1)
<i>EPCAM</i>	Molécula epitelial de adesão celular

**Genetics Home Reference- National Institute of Health*⁵

O sistema de MMR é altamente conservado em vários seres vivos e realiza o reparo de danos ao DNA acoplado ao processo de duplicação da fita de DNA. Atua por meio da identificação de regiões com erros de pareamento pelo complexo msh2 + msh6/msh3. Quando a região é identificada, há o recrutamento de outros complexos (mlh1 + pms2) para a excisão (pela ação da exonuclease) da região erroneamente pareada e a re-sintetização (pela polimerase), de forma que o mau funcionamento desses genes leva a um acúmulo de variantes em uma célula. Esse acúmulo de erros ocorre com maior frequência em regiões mais suscetíveis do genoma, como aquelas constituídas por sequências repetitivas de nucleotídeos, os microssatélites²⁴. Tumores que surgem em células com um dos genes de reparo defeituoso exibem um número variável de repetições de nucleotídeos (microssatélites) quando comparados ao tecido normal, um fenômeno conhecido como Instabilidade de Microssatélites (MSI – figura 2). Esta instabilidade é usada como um marcador da SL³⁶. Outra maneira de identificar casos com deficiência no sistema MMR muito utilizado na clínica é imunohistoquímica: essa técnica utiliza anticorpos monoclonais marcados (fluorescência), os quais se ligam em seus alvos e permitem caracterizar a presença ou a ausência do analito em questão, se as proteínas dos genes responsáveis pelo

sistema MMR estiverem sendo expressas, os anticorpos se ligam o que permitirá a detecção do sinal.

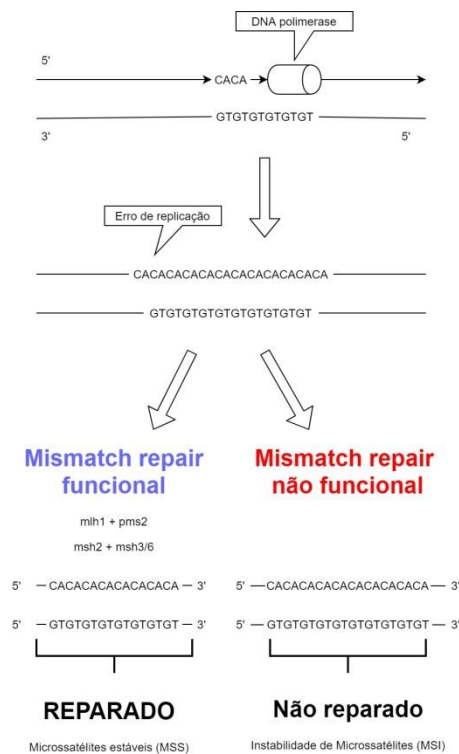


Figura 2: Ilustração básica do sistema de *mismatch repair* no reparo dos microsatélites

Cerca de 90% dos indivíduos portadores de CCR e SL apresentam alta instabilidade de microsatélites (também chamado de MSI-H, do inglês *Microsatellite Instability High*) no tecido tumoral. Os tumores com instabilidade de microsatélites possuem características histopatológicas distintas (ocorrem preferencialmente no cólon proximal, apresentam diferenciação pobre e/ou histologia mucinosa e um número aumentado de linfócitos infiltrando o tumor) e têm sido consistentemente associados com um melhor prognóstico, quando comparados aos tumores com estabilidade de microsatélites²⁵. Imunoterapia tem sido testada em portadores de MSI e/ou com variantes patogênicas nos genes do MMR e tem apresentado bons resultados²⁶.

Indivíduos portadores da SL apresentam um RCV de desenvolvimento de CCR de ~80% (*versus* 5% de risco para a população em geral) e, além disso, possuem risco aumentado de desenvolver tumores extracolônicos como o câncer de endométrio (RCV ~60%, *versus* 3% de risco para a população em geral); câncer gástrico (RCV de ~19%); câncer do trato biliar (RCV de ~18%); trato urinário (RCV de 10%); câncer de ovário (RCV de ~12%), bem como um risco aumentado para câncer de mama, pâncreas, intestino delgado, sistema

linfático, sistema hematopoiético e cérebro²⁷. O risco de qualquer tumor metacrônico pode chegar a 90% após o tratamento do CCR e 75% após o tratamento de câncer de endométrio. O aparecimento de tumores extracolônicos em outros membros da mesma família também pode indicar a presença da síndrome. Em famílias típicas, observam-se múltiplas gerações afetadas por CCR em idade precoce (por volta dos 45 anos). Os portadores possuem um risco aumentado de desenvolver múltiplos tumores sincrônicos (18% dos casos) ou metacrônicos (50% dos casos), além de tumores extracolônicos²⁸.

Contudo, há casos em que os pacientes apresentam alta instabilidade de microssatélites (MSI-High), perda da expressão das proteínas do sistema MMR, porém não são detectadas variantes patogênicas nos principais genes desse sistema. Esses pacientes apresentam características clinicopatológicas semelhantes à SL e, por isso, são enquadrados na síndrome de Lynch-Like, cujo mecanismo genético causal permanece desconhecido²⁹.

1.5.2.1) Critérios clínicos para rastreamento de Síndrome de Lynch

Identificar pacientes em risco para câncer hereditário é fundamental para o direcionamento a condutas específicas de rastreamento de câncer, permitindo a detecção da doença em estádios menos avançados e, dessa forma, aumentando a possibilidade de cura. Para auxiliar na identificação e classificação das famílias em risco e promover uma padronização internacional no diagnóstico clínico da SL, foram estabelecidos alguns critérios clínicos, dentre os quais se destacam os critérios de Bethesda e de Amsterdã.

Os critérios de Amsterdã, publicados em 1991 pelo Grupo Colaborativo Internacional em Câncer Colorretal Hereditário Não Polipomatoso (HNPCC), são extremamente importantes para o diagnóstico clínico, contudo, são muito restritivos e não consideram os tumores extracolônicos. Por essa razão, em 1999, o mesmo grupo modificou os critérios de Amsterdã, que foram renomeados para Amsterdã II e passaram a incluir alguns tumores extracolônicos^{30,31}.

Em 1998 foram publicados os critérios de Bethesda³², criados com o intuito de oferecer uma ferramenta mais sensível e menos restritiva para a identificação de pessoas em risco para a SL. Apesar de serem menos restritos que os critérios de Amsterdã, ainda havia dificuldade no diagnóstico clínico em famílias pequenas. Dessa forma, em 2004, os critérios de Bethesda foram revisados, aumentando ainda mais sua sensibilidade³³. Os critérios citados são apresentados em detalhes na tabela 5.

Tabela 5 – Critérios clínicos para a identificação de famílias com SL*

Amsterdã I	<ul style="list-style-type: none"> • Famílias com 3 casos de CCR • 2 dos indivíduos afetados são parentes em 1°. grau do terceiro; • Famílias com casos de CCR em no mínimo 2 gerações; • Famílias com 1 caso de CCR < 50 anos de idade; • Exclusão do diagnóstico de PAF.
Amsterdã II	<ul style="list-style-type: none"> • Três familiares com neoplasia associada a SL, sendo um parente em primeiro grau dos outros dois, envolvendo pelo menos 2 gerações e com um ou mais casos diagnosticados antes dos 50 anos de idade
Bethesda	<ul style="list-style-type: none"> • CCR diagnosticado antes dos 50 anos de idade; • Presença de CCR sincrônico ou metacrônico, ou outro tumor do espectro Lynch independentemente da idade; • CCR com histologia sugestiva de alta instabilidade de microssatélites antes dos 60 anos de idade; • Probando com CCR e um ou mais familiares de 1° grau com tumor do espectro Lynch sendo um dos tumores diagnosticado antes dos 50 anos; • Probando com CCR e dois ou mais familiares de 1° ou 2° grau com tumores do espectro Lynch diagnosticados em qualquer idade.

*Adaptado do Manual Operacional da Rede Nacional de Câncer Familiar do INCA³⁴

1.5.3) Câncer Colorretal Familiar Tipo X - FCCTX

A síndrome de FCCTX caracteriza-se, a exemplo da SL, pela presença de múltiplos casos de CCR na família e pelo preenchimento dos critérios clínicos de Amsterdã I. No entanto, diferentemente da SL, nesses casos não há evidência de defeitos no sistema MMR e nem da ocorrência de instabilidade de microssatélites. Os tumores envolvidos em FCCTX são heterogêneos (baseando-se em expressão de 22 proteínas com implicação na carcinogênese do CCR mensuradas por imunohistoquímica), mas se assemelham à tumores com microssatélites estáveis de início precoce³⁵.

No FCCTX os tumores ocorrem em maior proporção no reto e no cólon sigmoide, sendo que o tipo histológico predominante é o adenocarcinoma moderadamente diferenciado, o qual apresenta um risco de morte relacionada ao câncer (em até dez anos) maior em FCCTX comparado a Lynch: 6,5% (15,4% em FCCTX vs. 8,9% em SL) em homens e 10,6% (19,3% em FCCTX vs 8,7% em SL) em mulheres. A maior taxa de mortalidade do FCCTX em comparação à SL pode ser explicada pela falta de um manejo clínico bem estabelecido para este grupo de pacientes, que não são enquadrados em nenhuma síndrome de câncer hereditário com fator causal conhecido, reforçando a necessidade de se rastrear, identificar e enquadrar essas famílias em uma síndrome bem estabelecida. Ainda, apesar do risco de

desenvolver um segundo CCR ser maior em Lynch do que em FCCTX, nesta o risco aumenta em uma proporção maior do que em SL³⁶.

Shivovitz e colaboradores compararam FCCTX, SL e casos que não seguiam critérios de Amsterdã I e observaram que os tumores em FCCTX são mais frequentes nas porções colônicas distais, com uma vascularização mais intensa do que a observada nos demais casos³⁷. Lindor e colaboradores também descreveram uma menor ocorrência de tumores extracolônicos no FCCTX com relação ao observado na SL, enquanto que o número de tumores colorretais diagnosticados em idades mais avançadas é muito superior no FCCTX quando comparado à SL³⁸. Trabalho de Therkildsen e colaboradores também demonstra que famílias FCCTX possuem risco aumentado para câncer no trato urinário, mama, estômago, pâncreas e tumores oculares³⁹.

Hatfield e colaboradores ressaltam que o acompanhamento por cólonoscopia de famílias FCCTX pode reduzir o risco do desenvolvimento de CRC em até ~90%, aumentando a sobrevida os indivíduos afetados⁴⁰.

Estudos moleculares têm sido realizados para entender as diferenças entre SL e FCCTX e desvendar as bases moleculares da FCCTX. Alguns resultados apontam para genes candidatos (que não os do sistema MMR) que poderiam estar envolvidos na carcinogênese da FCCTX (Tabelas 6 e 7), tais como os genes *BMPR1A*^{41,44}, *RPS20*⁴², *SEMA4A*⁴³, *SETD6*⁴⁵ e *BRCA2*⁴⁶, *FAN1*⁴⁷.

Dominguez-Valentin e colaboradores⁴⁸ sugerem um aprofundamento de estudos nos genes *CENPE*, *CDH18*, *GREM1*, *BCR*, *KIF24*, *GALNT12*, *ZNF367*, *HABP4*, *GABBR2* e *BMP4*. Um levantamento feito por Nejadtagui e colaboradores ranqueou os genes mais frequentemente mutados achados em FCCTX disponíveis na literatura sendo eles: *BRCA2*, *KRAS*, *APC*, *MGMT*, *BRAF*, *BMPR1A*, *RPS20*, *SEMA4A*, além de hipermetilação de pelo menos um gene do sistema MMR⁴⁹. No entanto, muitos estudos foram restritos à probandos isolados ou a uma única família. Além disso, além de não haver concordância entre os diferentes estudos sobre os genes efetivamente associados à FCCTX, esses genes não explicam a totalidade dos casos de FCCTX. Dessa forma, o(s) mecanismo(s) causal(is) desta síndrome ainda permanece(m) desconhecido(s).

Tabela 6 – Análise dos estudos relacionados ao FCCTX

Autores	Casuística	Metodologia
Nieminen et al, 2011 ⁴⁶	18 famílias	MLPA e sequenciamento de Sanger
Evans et al, 2018 ⁴⁴	22 familiares (1 família)	Sequenciamento de Sanger
Nejadtagui et al, 2017 ⁴⁹	NA	Revisão sistemática
Schulz et al, 2014 ⁴³	Quatro familiares (1 família)	WES
Martín-Morales et al, 2017 ⁴⁵	Três familiares (1 família)	WES
Garre, P et al, 2015 ⁴⁶	38 famílias	MLPA e sequenciamento de Sanger
Dominguez-Valentin et al, 2015 ⁴⁸	NA	Revisão
Segui et al, 2015 ⁴⁷	Três familiares (1 família)	WES

NA: Não se aplica

MLPA: *Multiplex ligation-dependent probe amplification*

WES: *Whole exome sequencing*

Tabela 7 – Descrição da função gênica dos estudos relacionados ao FCCTX

Gene	Função*	Autores
<i>FAN1</i>	Endo e exonuclease	Segui et al, 2015 ⁴⁷
<i>BMPR1A</i>	Receptores transmembrânicos serina/treonina quinase	Nieminen et al 2011 ⁴¹ ; Evans et al 2017 ⁴⁴ ; Nejadtagui et al, 2017 ⁴⁹ .
<i>RPS20</i>	Proteína ribossomal	Nieminen et al, 2014 ⁴² ; Nejadtagui et al, 2017 ⁴⁹ .
<i>SEMA4A</i>	Semaforinas e proteínas transmembrana	Schulz et al, 2014 ⁴³ ; Nejadtagui et al, 2017 ⁴⁹ .
<i>SETD6</i>	Metiltransferase (transcrição)	Martín-Morales et al, 2017 ⁴⁵
<i>BRCA2</i>	Recombinação Homóloga	Garre, P et al. 2015 ⁴⁶ ; Nejadtagui et al, 2017 ⁴⁹ .
<i>CENPE</i>	Cinesina (ciclo celular)	
<i>CDH18</i>	Caderina	
<i>GREM1</i>	Antagonista <i>BMP</i> (<i>bone morphogenic protein</i>)	
<i>BCR</i>	Ativador de RhoGEF e GTPase	
<i>KIF24</i>	Cinesina (ciclo celular)	
<i>GALNT12</i>	Transferase (Serina/Treonina)	Dominguez-Valentin et al, 2015 ⁴⁸
<i>ZNF367</i>	<i>Zinc Finger</i>	
<i>HABP4</i>	Ligação de hialuronano	
<i>GABBR2</i>	Receptor de membrana (regulação de neurotransmissores)	
<i>BMP4</i>	Fator de crescimento	
<i>MGMT</i>	Supressor tumoral (reparo de danos ao DNA)	
<i>APC</i>	Controle de divisão e aderência celular. Verificação do número de cromossomos durante a divisão celular	Nejadtagui et al, 2017 ⁴⁹
<i>BRAF</i>	Sinalização de crescimento, divisão, maturação, movimento, (RAS/MAPK) e apoptose	
<i>KRAS</i>	Proteína da via RAS/MAPK envolvida em crescimento, divisão, maturação, diferenciação e apoptose	

* *Genetics Home Reference- National Institute of Health*⁵

1.6) Variantes: conceito e classificação

A palavra “variante é uma substituição do termo “mutação” proposta pela *Human Genome Variation Society* (HGVS)⁵⁰ e, adotada pelo *American College of Medical Genetics* (ACMG) e se refere às variações na sequência do DNA que podem alterar um ou mais nucleotídeos. Variantes *missense* são trocas de um nucleotídeo no DNA que resultam em diferentes aminoácidos nas proteínas. Variantes sinônimas ou silenciosas são trocas de nucleotídeos que não alteram aminoácidos nas proteínas. Variantes *nonsense* são trocas de nucleotídeos que resultam em um códon de parada formando uma provável proteína truncada. Variantes *frameshift* são aquelas que modificam o padrão de leitura durante a transcrição, podendo ser inserções ou deleções de nucleotídeos, enquanto as variantes *inframe* correspondem a inserções ou deleções que não alteram o padrão de leitura durante a transcrição (ex.: deleções/inserções múltiplas de 3 nucleotídeos). Podem ainda ocorrer alterações de repetições (códon ou regiões repetidas), de inserções/duplicações de trechos de DNA e alterações (trocas, inserções e deleções) em sítios de *splicing*⁵.

O avanço das tecnologias de sequenciamento e a maior popularização da técnica, tem permitido a identificação de novos genes e variantes relacionados à carcinogênese. No que se refere ao sequenciamento completo do exoma, sua vantagem consiste numa análise geral dos genes humanos sem alvos específicos o que permite a identificação de novos alvos ou o estabelecimento de novas associações genótipo-fenótipo. Diversos estudos fazem uso do exoma para buscar explicações de casos não classificados com a sistemática atual, descobrindo novos genes relacionados à diversos tipos de câncer: por meio de sequenciamento do exoma, Rohlin e colaboradores associaram *GREM1* e *POLE* a CCR⁵¹, Fewings e colaboradores encontraram variantes nos genes *PALB2*, *MSH2*, *ATR*, *NBN* e *RECQL5*⁵² em pacientes com câncer gástrico hereditário, Torrezan e colaboradores também identificaram variantes nos genes *ATM*, *BARD1*, *ERCC1*, *SLX4*, *NOTCH2*, *ERBB2*, *MST1R* e *RAF1* em uma casuística brasileira de câncer de mama em idade jovem negativa para os genes de alto risco (*BRCA1/2*, *TP53* e *CHEK2*)⁵³ dentre outros trabalhos. que também fizeram uso do sequenciamento do exoma para identificação de genes. Outro avanço que resultou da maior popularização do emprego de sequenciamento em larga escala é banco de dados gnomAD⁵⁴, o qual foi criado para disponibilizar milhares de sequenciamentos totais de exomas e genomas de indivíduos saudáveis (ou não) e tornou-se um banco referência para avaliação da frequência populacional de variantes genéticas em diversas pesquisas realizadas em todo

o mundo, além de fornecer um dos critérios utilizados para classificação de variantes da ACMG. Isso ressalta a capacidade do sequenciamento do exoma em identificar e caracterizar as síndromes ainda não estabelecidas.

As variantes identificadas por meio do exoma podem ou não ter efeitos deletérios para o indivíduo portador. Richards e colaboradores propuseram em 2015, diretrizes para classificar as variantes genéticas em cinco classes de acordo com sua patogenicidade: patogênicas, provavelmente patogênicas, significado desconhecido, provavelmente benignas e benignas utilizando diversos critérios, os quais encontram-se ilustrados na figura 3. Esses critérios devem ser, na sequência, convertidos em escores (Figura 4), os quais permitirão a classificação das variantes identificadas em uma das cinco categorias previamente listadas⁵⁵.

	Forte	Suporte	Suporte	Moderado	Forte	Muito forte
	← Benigna →		← Patogênica →			
Dados populacionais	MAF é muito alta para desordem (BA1/BS1) OU observado em controles inconsistentes com penetrância de doença (BS2)			Ausente em bancos de dados populacionais (PM2)	Estatisticamente prevalente em indivíduos afetados em relação à controles (PS4)	
Dados computacionais e de predição		Múltiplas linhas de evidência computacional sugerindo não haver impacto no gene ou produto gênico (BP4); Alteração missense onde somente alterações de truncagem causam doença (BP1); Variante silenciosa sem efeito em splicing (BP2)	Múltiplas linhas de evidência computacional apoiando um efeito deletério no gene ou produto gênico (PP3)	Troca missense nova em um resíduo aminoácido em que variantes missense patogênicas foram vistas antes (PM5); Variante alterando tamanho da proteína (PM4)	Mesma troca aminoácida de uma variante patogênica bem estabelecida (PS1)	Variante predita como nulificadora em um gene em que a perda de função é conhecida por mecanismo de doença (PVS1)
Dados funcionais	Estudo funcional bem estabelecido mostrando ausência de efeito deletério (BS3)		Variante missense em um gene com baixa taxa de variantes missense benignas e variantes patogênicas são comuns (PP2)	Hot spot mutacional ou domínio funcional bem estudado sem variantes benignas (PM1)	Estudo funcional bem estabelecido mostrando efeito deletério (PS3)	
Dados de segregação	Ausência de segregação com doença (BS4)		Co-segregação com doença em múltiplos membros afetados na família (PP1)	Mais informações de segregação →		
Dados de novo				De novo (sem paternidade e maternidade confirmadas) (PM6)	De novo (paternidade e maternidade confirmadas) (PS2)	
Dados alélicos		Observado <i>in trans</i> com uma variante dominante (BP2); Observado <i>in cis</i> com uma variante patogênica (BP2)		Em desordens recessivas, detectada <i>in trans</i> com uma variante patogênica (PM3)		
Outros bancos de dados		Fonte curada sem dados compartilhados (BP6)				
Outros dados		Encontrado em casos com uma causa alternativa (BP5)				

Figura 3: Evidências utilizadas para classificação de variantes, adaptado da proposta de Richards et al 2015⁵⁵ à ACMG.

Classificação de variantes segundo a ACMG*			
Patogênica	Provavelmente Patogênica	Provavelmente Benigna	Benigna
Muito forte (PVS1) E a) Pelo menos 1 Forte (PS1-PS4) OU b) Pelo menos 2 Moderados (PM1-PM6) OU c) 1 Moderado (PM1-PM6) e 1 Suporte (PP1-PP5) OU d) Pelo menos 2 Suportes (PP1-PP5)	1 Muito Forte (PVS1) E 1 Moderado (PM1-PM6)	1 Forte (BS1-BS4) E 1 Suporte (BP1-BP7)	1 "Stand-Alone" (BA1)
Pelo menos 2 Fortes (PS1-PS4)	1 Forte (PS1-PS4) E até 2 Moderados (PM1-PM6)	Pelo menos 2 Suportes (BP1-BP7)	Pelo menos 2 Fortes (BS1 - BS4)
Forte (PS1-PS4) E a) Pelo menos 3 Moderado (PM1-PM6) OU b) 2 Moderado (PM1-PM6) E pelo menos 2 Suportes (PP1-PP5) OU c) 1 Moderado (PM1-PM6) E pelo menos 4 Suportes (PP1-PP5)	1 Forte (PS1-PS4) E pelo menos 2 Suportes (PP1-PP5)		
	Pelo menos 3 Moderados (PM1-PM6)		
	2 Moderadas (PM1-PM6) E pelo menos 2 Suportes (PP1-PP5)		

*As variantes devem ser classificadas como significância incerta se outros critérios não forem atendidos ou se os critérios para benigno e patogênico forem contraditórios.

Figura 4: Combinações dos critérios que geram a classificação de variantes segundo a ACMG⁵⁵.

2) Justificativa

Apesar dos avanços nos estudos moleculares, cerca de 30 a 40% dos casos de CCR sugestivos de um padrão hereditário não possuem uma causa genética conhecida. Nesse contexto, FCCTX, que se caracteriza por um risco aumentado para câncer colorretal, apresenta uma lacuna no que se refere aos genes associados ao seu desenvolvimento. O conhecimento de qual gene está alterado e qual o risco associado a essa alteração faz-se necessário, uma vez que possibilitará uma melhora significativa nas decisões acerca do manejo, bem como pode aumentar a gama de estratégias preventivas e de redução de risco a serem oferecidas como, por exemplo, cirurgias preventivas.

Dessa forma, considerando: o alto risco de desenvolvimento de câncer associado à presença de variantes patogênicas germinativas, o desconhecimento sobre o fator causal de cerca de 40% dos casos de CCR supostamente hereditários (dada a história familiar de câncer presente), o grande potencial de prevenção associado à realização do teste genético preditivo e o desconhecimento dos genes envolvidos no desenvolvimento do FCCTX, acreditamos que a utilização de uma metodologia ampla e robusta seja necessária para o diagnóstico molecular do CCR aliado à FCCTX e para a descoberta de novos mecanismos moleculares causais ou relacionados ao desenvolvimento desse tipo de síndrome.

3) Objetivos

3.1) Objetivo Geral

Caracterizar clínica e molecularmente pacientes com critérios para FCCTX.

3.2) Objetivos Específicos

- Identificar alterações germinativas potencialmente patogênicas em pacientes com história pessoal e familiar sugestiva de FCCTX, por meio do sequenciamento completo do exoma;
- Classificar e caracterizar as variantes germinativas identificadas seguindo-se as diretrizes da *American College of Medical Genetics (ACMG)*;
- Associar as variantes potencialmente patogênicas identificadas com a história familiar de câncer e com as informações clinicopatológicas dos pacientes.

4) Materiais e Métodos

4.1) Estratégia de Investigação e Delineamento do Estudo

O presente estudo, de caráter observacional (transversal) com coleta de dados ambispectiva, foi realizado através da integração entre três departamentos/setores do Hospital de Câncer de Barretos (HCB): o Departamento de Oncogenética, onde foi realizada a identificação das famílias em risco para FCCTX, o Centro de Diagnóstico Molecular, onde as famílias foram avaliadas para a presença de alterações moleculares características da SL, e o Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular, onde foram realizadas as análises dos dados moleculares.

4.2) Casuística

Foram incluídos no estudo 38 indivíduos, sendo 29 não aparentados e nove indivíduos provenientes de quatro famílias (três famílias representadas por dois indivíduos aparentados em primeiro ou segundo grau e uma família representada por um trio). A casuística incluída no estudo trata-se de uma amostra de conveniência que se caracteriza por:

- Apresentaram história pessoal e familiar de CCR ou endométrio;
- Preencheram critérios clínicos sugestivos de FCCTX (Amsterdã I, Amsterdã I - 1 (todos os critérios menos 1) e Amsterdã I - 2 (todos os critérios menos 2));
- Os tumores colorretais e/ou de endométrio dos probandos apresentaram imuno-histoquímica normal para as proteínas *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, ausência de instabilidade de microssatélites e resultado *Wild Type* (WT) para a mutação p.V600E no oncogene *BRAF* (conforme indicado no fluxo de análises do departamento de Diagnóstico Molecular do Hospital de Câncer de Barretos ilustrado na figura 5).

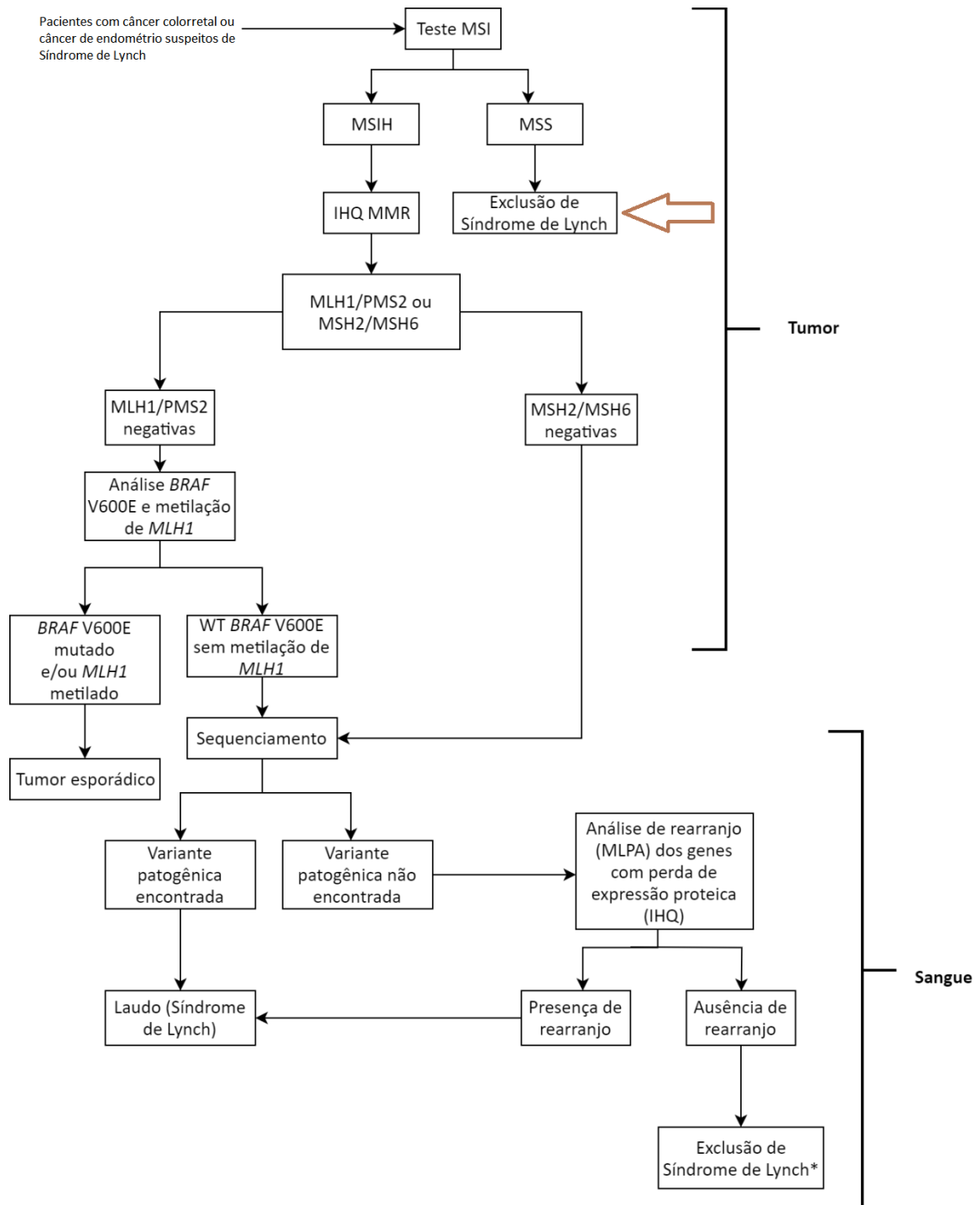


Figura 5: Fluxograma dos testes realizados no Centro de Diagnóstico Molecular do Hospital de Câncer de Barretos para diagnóstico dos pacientes com suspeita de Síndrome de Lynch e que serviu como base para a identificação dos participantes do estudo.

4.3) Amostras de material biológico

As amostras de DNA foram encaminhadas pelo Departamento de Oncogenética ao centro de Diagnóstico Molecular como parte da rotina diagnóstica para rastreamento molecular para SL. Esse rastreamento consiste em análise de MSI, imunohistoquímica e análise de BRAF.

O teste de microssatélites é realizado por meio de uma PCR *multiplex* (Qiagen *Multiplex* PCR Kit (Qiagen, Hilden, Germany)) composta por cinco marcadores de repetição (NR27, NR21, NR24, BAT25 e BAT26) e analisados pelo *software* GeneMapper (Applied Biosystem). Aqueles que apresentam dois ou mais marcadores alterados são considerados MSI-H, um marcador alterado é considerado MSI-L enquanto nenhum marcador, MSS.

A imunohistoquímica é realizada utilizando blocos de parafina cortados por meio do kit Dako EnVision™ FLEX *detection system* (Dako, Glostrup, Denmark) no equipamento Autostainer Link 48 (Dako, Glostrup, Denmark). A extração dos antígenos ocorre a 97° por 20 minutos. Peroxidases endógenas são bloqueadas pelo reagente EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking (Dako, Glostrup, Denmark). Os anticorpos monoclonais utilizados são para as proteínas dos genes *MLH1*, *MSH2*, *PMS2* e *MSH6*. A imunocoloração ocorre por solução DAB. Sendo as lâminas coradas com hematoxilina sendo que todos os casos são avaliados por um patologista.

Em relação ao status mutacional do gene *BRAF* (V600), o mesmo é avaliado a depender do tipo de pedido realizado pela clínica ao departamento e da qualidade da amostra, podendo ser avaliado por Sequenciamento de Sanger (Applied Biosystem 3500), Sequenciamento de Nova Geração (TruSight Tumor 15 da Illumina) ou pelo analisador bioquímico automático cobas (Roche, modelo z480).

As amostras de DNA dos pacientes foram extraídas de sangue periférico por meio do kit comercial QIAamp DNA Blood Mini QIAcube Kit (Qiagen) no extrator automatizado QIAcube (Qiagen) pelo Centro de Diagnóstico Molecular do HCB, dado que todos os participantes foram previamente testados para alterações associadas à SL nesse local. Para as famílias em que mais de um indivíduo foi incluído, a coleta das amostras dos familiares ocorreu de maneira prospectiva. Todas as amostras foram previamente analisadas pelo Diagnóstico Molecular em relação à quantidade e qualidade do DNA utilizando-se o Nanodrop e o Qubit (Thermo Fisher Scientific).

4.4) Sequenciamento Completo do Exoma (*Whole Exome Sequencing* – WES)

O sequenciamento exômico foi realizado de maneira terceirizada. Trinta e dois pacientes tiveram uma amostra de 300 ng do seu DNA extraído (conforme detalhado no item 7.3) submetidos ao sequenciamento completo do exoma utilizando a plataforma Illumina NOVASeq (© 2020 Illumina, Inc) na empresa SOPHiA Genetics com o kit *Whole Exome Solution* versão 1 (© SOPHiA GENETICS 2019/PM_T1_3.1.1.1_r4en) com 203.058 regiões alvos, 40.907.213 pares de bases e 19.682 genes. As coberturas foram: 99,6% acima de 10X, 99,4% acima de 20X e 30X e 99,3% acima de 40X e 50X (cobertura média de 150X), houve superioridade (regiões mapeadas) de 95% e a taxa de cobertura das regiões alvo foi maior que 85%. Todos os indivíduos não aparentados e um indivíduo do trio de familiares foram sequenciados usando essa estratégia.

Seis pacientes (três pares) foram sequenciados utilizando a plataforma Illumina HighSeq 4000 (© 2020 Illumina, Inc) na empresa MENDELICS (2020 © Mendelics Análise Genômica S.A.) por meio de dois kits: o Agilent SureSelect Clinical Research Exome versão 2 (© 2020 Agilent Technologies, Inc - aproximadamente 20.000 genes e 35.700.000 pares de bases) e o *Illumina Nextera Rapid Capture Exome* (© 2020 Illumina, Inc - 214.405 regiões alvos), obtendo uma cobertura média de 50x para 95% das regiões alvo. Nessa estratégia foram incluídos os três pares de três famílias.

Os arquivos brutos (BAMs) originais foram baixados de ambas as empresas sendo todos chamados e anotados separadamente: a chamada foi executada em dois grupos (os da Mendelics e os da Sophia) e igualmente (mesmo procedimento para ambos os grupos).

4.5) Chamada de variantes

Para todos os arquivos, separada e igualmente, a qualidade das *reads* sequenciadas (arquivos fastq) foi avaliada por meio do programa FastQC⁵⁶ sendo que as mesmas foram *trimadas* (remoção de sequências adaptadoras) quando necessário, utilizando-se o programa CUTADAPT⁵⁷. Sequencialmente, as *reads* foram mapeadas contra o genoma humano de referência GRCh37 (hg19) pelo programa BWA⁵⁸ e pós-processadas por meio de ferramentas do programa Picard⁵⁹ (para remoção das *reads* duplicadas) e do *Genome Analysis Toolkit* (GATK)^{60,61}, para recalibração dos *scores* de qualidade. A chamada de variantes foi realizada por meio da ferramenta *HaplotypeCaller* do GATK. As variantes com cobertura < 30 e fração do alelo variante < 15% foram excluídas.

4.6) Genes avaliados no estudo

De forma a selecionar as variantes associadas com o processo de desenvolvimento do câncer, as variantes identificadas foram filtradas a partir de uma lista de 2.389 genes (Anexo A) envolvidos na carcinogênese e extraídos dos bancos *Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (Cosmic)*⁶², *Universal Protein Resource (UniProt)*⁶³ e *DISEASE*⁶⁴. Uma segunda lista com 228 genes envolvidos no reparo do DNA foi obtida a partir do levantamento feito por Das e colaborador (anexo A)⁶⁵. Para a inclusão de genes associados com câncer/síndromes hereditário(as), foi utilizada uma lista de 260 genes que compõem painéis de câncer hereditário de empresas e que foram revisados nos bancos *GeneCard*⁶⁶ e *Genetics Home Reference*⁵ (Anexo A) quanto àqueles cânceres ou síndromes que estivessem relacionados. O anexo A contém a lista mostrando os genes e os grupos aos quais pertencem. O número de genes de cada lista e as intersecções entre seus três grupos são apresentados na Figura 6.

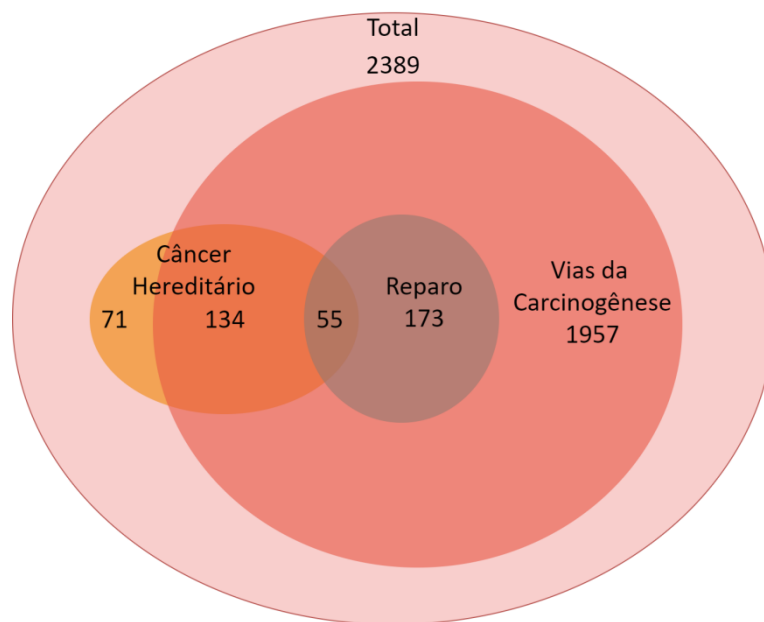


Figura 6: Diagrama de Venn ilustrando as intersecções dos “grupos de genes” analisados no estudo

4.7) Anotação de Variantes

Para a seleção das variantes potencialmente patogênicas e possivelmente associadas à doença em investigação, foi desenvolvido um fluxo de análises computacionais, que encontra-se ilustrado na Figura 7.

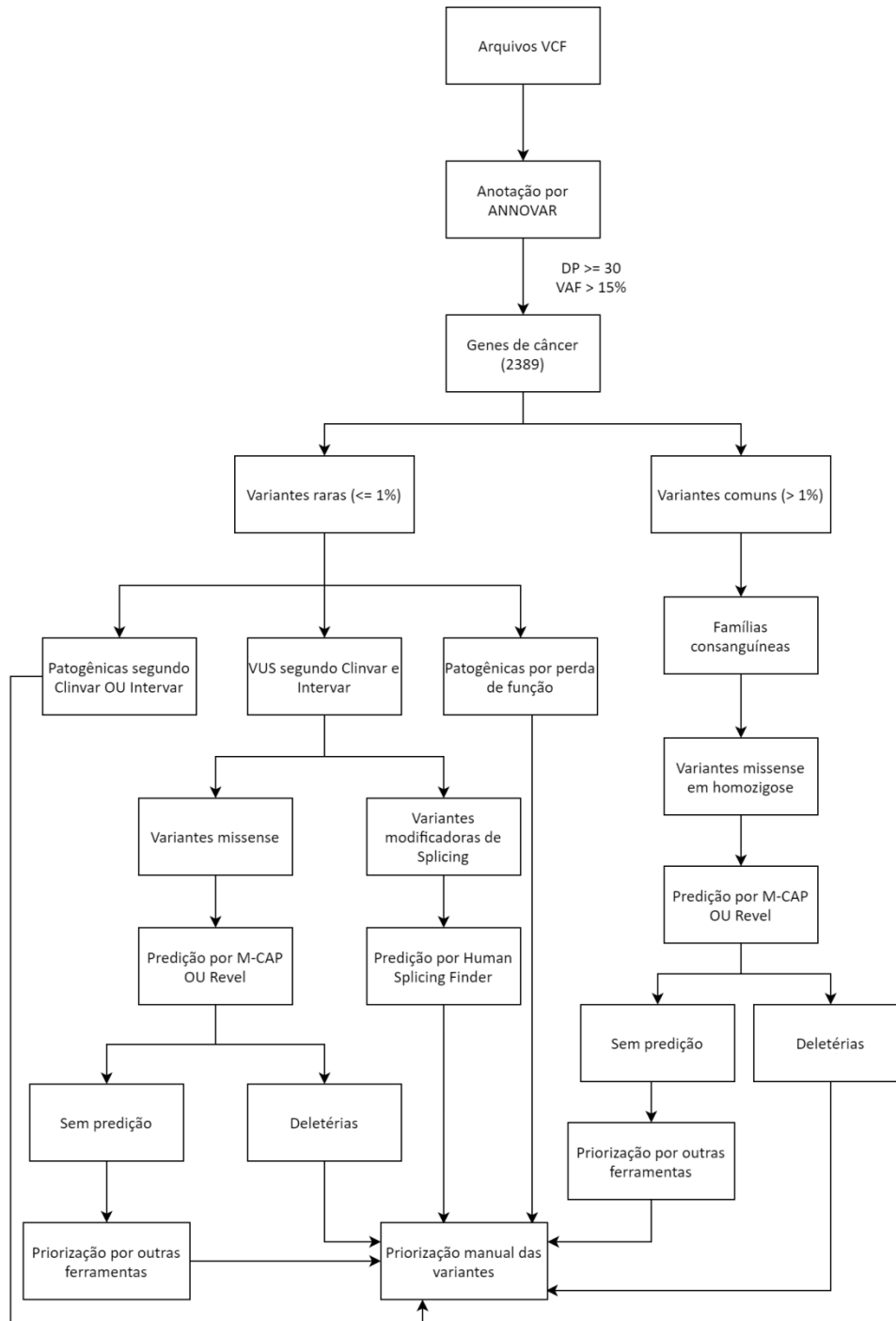


Figura 7: Fluxograma ilustrando a metodologia utilizada para classificação e filtro das variantes.

A anotação de variantes foi realizada por meio do programa ANNOVAR⁶⁷, o que nos permitiu identificar o gene em que estão localizadas e classificá-las como: intergênicas, intrônicas, *missense*, deleções/inserções *frameshift*, entre outras, além de fornecer

informações sobre o impacto biológico da variante (alterações de *splicing*, na proteína, na sequência, etc.), classificando com *scores* (ou *scores* convertidos em níveis de patogenicidade). O programa também anotou as frequências populacionais de cada variante descritas nos bancos populacionais gnomAD⁵⁴ e AbraOM⁶⁸, bem como a classificação da variante quanto à patogenicidade no banco de doença-específico ClinVar (NCBI).

4.7.1) Intervar e ACMG

O Intervar⁶⁰ é um classificador automatizado para interpretação clínica de variantes utilizando os parâmetros estabelecidos por Richards para a ACMG e foi utilizado no ANNOVAR para a hierarquização das variantes. As evidências patogênicas são de suporte, moderada, forte e muito forte. Os critérios de cada evidência preconizada ACMG estão explicados na figura 3 e a combinação classificatória na figura 4.

4.7.2) Revisão e priorização manual

As variantes classificadas como patogênicas pelo Clinvar, bem como aquelas com perda de função (*nonsense*, *frameshift*) e as *missense* ou de *splicing* cujas ferramentas de predição *in silico* ou os critérios ACMG indicaram possível patogenicidade passaram por uma fase de revisão e priorização manual, onde houve revisão dos critérios preconizados pela ACMG e nova classificação utilizando o Varsome. Além disso, nessa análise considerou-se quanto ou quão relacionadas essas variantes estariam com o FCCTX, câncer colorretal ou com câncer em geral, utilizando-se das informações disponíveis no banco de dados GeneCard⁷¹. Ainda, ponderou-se o parecer de patogenicidade do ClinVar e do InterVar avaliando o porquê de discordâncias, quando havia. Caso houvesse conflito ou várias publicações no ClinVar, as evidências foram revistas manualmente priorizando a melhor disponível (quantidade de estrelas ou disponibilidade de evidência). Quando o ClinVar e o InterVar discordavam, tanto a evidência do ClinVar quanto os critérios ACMG do InterVar foram revisados para averiguar qual apresentava as melhores evidências. As variantes de todos os pacientes foram avaliadas independentemente de serem ou não aparentados, porém fez-se uso dos dados moleculares dos pares e do trio de familiares para manualmente acrescentar as variantes que segregavam entre eles como evidência na ACMG. Ainda, critérios envolvendo história familiar dos pacientes do estudo foram agregados ao ACMG e os escores recalculados. Foram também revisadas manualmente as ferramentas de predição

in silico de patogenicidade REVEL, M-CAP e HSF, ou GenoCanyon e Eigen na ausência de informações das anteriores. De maneira adicional, as variantes (em especial as identificadas em proto-oncogenes) foram avaliadas quanto ao domínio funcional (evidência da ACMG PM1) em que estavam localizadas utilizando o MutationMapper (do cBioPortal)^{70,71}. A inspeção manual foi realizada de forma paralela por dois investigadores (EIP, orientadora e FAOG, mestrando) e as análises foram comparadas. Para todas as análises foi utilizado o transcrito padrão fornecido pelo *Locus Reference Genomic* (LRG)⁷² ou o maior transcrito disponível (*NCBI*), caso não tenha sido encontrado o dado no LRG.

Por fim, as variantes classes IV (provavelmente patogênicas) e V (patogênicas) advindas dessa revisão manual foram verificadas no *Integrative Genomics Viewer*⁷³ (IGV) a fim de excluir as falso-positivas resultantes de erros ou artefatos do sequenciamento.

4.7.3) Bancos de dados

4.7.3.1) ClinVar

O ClinVar é um repositório público e gratuito de relatórios sobre variantes humanas (no padrão HGVS) e os fenótipos relacionados a elas com a devida evidência científica revisada e curada cujo objetivo é dar suporte à avaliação computacional e auxiliar a evolução, a comunicação, e o desenvolvimento do conhecimento de toda a comunidade científica⁷⁴. Os dados da consulta do ANNOVAR no ClinVar datam de 03/2019 e a revisão manual das variantes foi realizada em 12/2019, 01/2020 e 02/2020.

4.7.3.2) gnomAD e AbraOM

O *genome aggregation database* (gnomAD) é uma iniciativa internacional cujo objetivo é disponibilizar dados de sequenciamento gratuitamente para toda a comunidade científica contando com 125.748 exomas e 15.708 genomas de indivíduos não aparentados e não portando doenças severas na infância. Foram identificadas mais de 440.000 variantes com perda de função. A frequência de todas as variantes em diversas populações mundiais estão disponíveis para consulta⁵⁴.

O Arquivo Brasileiro Online de Mutações (ABraOM) é um repositório de variantes da população brasileira identificadas a partir de 609 exomas de indivíduos idosos da cidade de São Paulo cujo objetivo é fornecer dados genéticos da população brasileira. Foram identificadas mais de 2 milhões de variantes, sendo que apenas metade são de alta

confiança. Variantes sabidamente patogênicas foram observadas em 1,1% dos indivíduos. Todas as variantes estão disponíveis para consulta quanto à sua frequência na população brasileira⁶⁸.

4.7.4) Ferramentas de predição *in silico*

Um das formas proposta por Richards para se avaliar a patogenicidade das variantes é a predição *in silico* de patogenicidade. Essas ferramentas de predição são programas cuja função principal é prever o efeito que uma variante possa ter no DNA ou na proteína. Elas são divididas em cinco grupos:

- Conservação de sequência interespecífica e/ou evolucionária;
- Análise de alterações na sequência e/ou estruturais da proteína;
- Análise por aprendizado de máquina supervisionado;
- Análise por aprendizado de máquina não supervisionado;
- Busca por alteração em sítios de *splicing*;

Neste estudo, foram utilizados três ferramentas de análise por aprendizado de máquina supervisionado que continham *scores* de conservação, de dados sobre alteração na sequência e na estrutura implementadas em si: o REVEL (*Rare Exome Variant Ensemble Learner*)⁷⁵ e o M-CAP (*Mendelian Clinically Applicable Pathogenicity*)⁷⁶ para predição da patogenicidade das variantes *missense*, visto que o REVEL é uma das ferramentas que apresenta melhor desempenho e as mais altas taxas de acerto⁷⁷ e o M-CAP possui a capacidade de remover variantes com pouca chance de patogenicidade. O programa HSF (*Human Splicing Finder*)⁷⁸ foi utilizado para analisar as variantes que possam alterar o *splicing* (canônico e/ou não canônico).

4.7.4.1) REVEL (*Rare Exome Variant Ensemble Learner*)

A ferramenta REVEL baseia-se no método “*ensemble*” que integra predições de patogenicidade de variantes *missense* de 18 *scores* calculados por 13 ferramentas (GERP++, SIFT, PolyPhen-2, MutationTaster, MutationAssessor, FATHMM, LRT, PhyloP, PhastCons, SIPHY, MutPred, PROVEAN, VEST), sendo oito *scores* de conservação de sequência e dez *scores* funcionais. O REVEL foi treinado com variantes patogênicas raras excluindo-se aquelas que já foram utilizadas para treinar alguma das ferramentas acima incluídas no seu corpo de análises. Apresentou o melhor desempenho quando comparada com outras sete

ferramentas fundamentadas no mesmo método ou para distinguir variantes patogênicas de outras variantes raras (frequência < 0,5%)⁶⁴.

4.7.4.2) M-CAP (*Mendelian Clinically Applicable Pathogenicity*)

A ferramenta M-CAP usa *scores* de patogenicidade de nove ferramentas de predição (CADD, SIFT, PolyPhen-2, MutationTaster, MutationAssessor, FATHMM, LRT, MetaLR e MetaSVM) e incorpora sete medidas estabelecidas de pares de base, aminoácidos, região genômica e conservação gênica (GERP++, RVIS, PhyloP, PhastCons, PAM250, BLOSUM62, SIPHY), apresentando 95% de sensibilidade. Incorpora ainda 298 novos parâmetros derivados do alinhamento múltiplo de sequências de 99 espécies de primatas e de outros mamíferos e vertebrados contra o genoma humano. O M-CAP supera as ferramentas mais comumente usadas (PolyPhen-2, SIFT, CADD, MetaLR, Eigen e CADD) mostrando ser um dos melhores preditores para interpretação clínica⁶⁵.

4.7.4.3) *Human Splicing Finder (HSF)*

Visto que muitas variantes influenciam o *splicing* do mRNA criando ou corrompendo sítios de *splicing* ou sequências auxiliares do *splicing*, a ferramenta HSF tem como objetivo prever os efeitos das variantes nos sinais de *splicing* ou identificar padrões de *splicing* na sequência. Ela contém todas as matrizes de sequências auxiliares disponíveis para identificação de ampliadores e silenciadores de *splicing* exônico. Foram implementadas Matrizes de Peso da Posição para averiguar a força dos sítios de *splicing* (5' e 3') e de sequências *branch* (sequência intrônica ligante sinalizadora de *splicing*) o algoritmo do MaxEntScan para prever alterações em sítios de *splicing* utilizando entropia. A ferramenta HSF foi testada com vários conjuntos de dados diferentes contendo variantes em sítios canônicos e não canônicos a fim de abranger o máximo de possíveis alterações⁶⁹.

4.7.4.4) Eigen

A ferramenta Eigen é uma ferramenta de aprendizado não supervisionado que faz uso do sistema de máquina de vetor de suporte e é baseada em várias anotações advindas da anotação de variantes por scores de conservação e informações regulatórias e funcionais advindas de estudos e bancos de dados. Com essas informações, o Eigen faz uso de frequência populacional para calcular um meta-score classificando a variante⁷⁹.

4.7.4.5) GenoCanyon

A ferramenta GenoCanyon é uma ferramenta criada também como sendo de aprendizado de máquina não supervisionado. Seu *design* é para analisar todo o genoma utilizando modelos estatísticos com 22 parâmetros experimentais e computacionais. É calculado estatisticamente se a variante está ou não em uma região funcional. Ainda somam-se para as anotações informações advindas de *scores* de conservação, *status* de cromatina, modificação de histonas e informações sobre fatores de transcrição. Com um total de 49 parâmetros, um *score* é calculado estimando a gravidade da alteração⁸⁰.

4.7.5) Fluxo de análises da anotação

Apenas as variantes localizadas nesses 2.389 genes envolvidos na carcinogênese foram incluídas nas análises. Todas estas variantes de todos os pacientes independentemente de serem ou não familiares foram igualmente filtradas com base na frequência populacional descritas no gnomAD e no AbraOM. Aquelas com frequência maior ou igual a 1% foram classificadas como variantes comuns, enquanto que as variantes com frequência < 1% foram classificadas como raras. As variantes comuns foram excluídas exceto aquelas presentes em homozigose nos indivíduos cujas famílias apresentem consanguinidade.

Em seguida as variantes foram filtradas de acordo com a classificação dada pelo ClinVar e pelo ACMG (Intervar). As classificadas como patogênicas (classes IV ou V no Intervar ou Clinvar), foram estudadas para verificar possíveis associações com FCCTX.

As variantes que levam à perda de função proteica (*frameshift* e *nonsense*) foram relacionadas com os dados clínico-patológicos e de história familiar do paciente, estudadas para verificar possíveis associações com FCCTX.

As variantes de significado clínico desconhecido pelo ClinVar ou Intervar do tipo *missense* e *splicing* seguiram por uma série de ferramentas de predição *in silico* conforme detalhado na Figura 6. As variantes foram consideradas deletérias quando o *score* de patogenicidade do REVEL foi maior ou igual a 0,7⁷⁵ ou quando o *score* do M-CAP foi maior ou igual 0,025⁷⁶ ou quando apresentar potencial alteração de *splicing* pelo HSF. Aquelas variantes consideradas possivelmente patogênicas seguiram para a fase de inspeção manual. Por fim, as variantes não classificadas pelas ferramentas supracitadas foram priorizadas

utilizando-se outras ferramentas de predição (aquelas que utilizam o modelo de aprendizado de máquina não supervisionado: Eigen⁷⁹ maior ou igual à 0,7 e GenoCanyon⁸⁰ maior ou igual à 0,7).

Ao longo do fluxo de toda a análise, as variantes consideradas benignas foram armazenadas e as demais (supostamente patogênicas) foram revisadas manualmente para verificar associações com o FCCTX.

Nos casos das famílias do probando que apresentavam consanguinidade, as variantes foram analisadas pelas ferramentas de predição da forma descrita previamente, desde que ocorressem em homozigose ainda que possuíssem frequência > 1% segundo o ABraOM ou gnomAD).

4.8) Confirmação dos dados - Sequenciamento convencional

Variantes identificadas e consideradas como potencialmente patogênicas pelo nosso fluxo de análises (conforme detalhado na Figura 6) foram submetidas a uma análise confirmatória por meio de sequenciamento convencional (Sanger).

Para a confirmação dos resultados por sequenciamento Sanger, o DNA genômico foi amplificado por PCR, purificado com a enzima ExoSAP-IT (USB) e kit BigDye Terminator (Thermo Fisher Scientific), e sequenciado bi-direcionalmente utilizando-se o kit Xterminator v3.1 (Thermo Fisher Scientific). O procedimento foi realizado no sequenciador automatizado modelo 3500 (Applied Biosystems). Os primers e protocolos utilizados estão no anexo D.

4.9) Obtenção dos dados clínicos, histopatológicos e de história familiar

Para a obtenção de dados sociodemográficos, clínicos, de sobrevivência, bem como as características dos tumores, os prontuários médicos dos pacientes foram revisados. Dados de história familiar foram obtidos a partir da revisão de prontuários do Departamento de Oncogenética. Os heredogramas foram construídos utilizando a ferramenta online grátis de pedigree da Progeny (© 1996-2020 Progeny Genetics LLC). As informações estão armazenadas no RedCap⁸¹ e a ficha de coleta encontra-se no anexo E.

4.10) Análises Estatísticas

Os dados foram avaliados por meio de análises estatísticas descritivas utilizando-se o *SPSS Statistics* v. 23.0, em que foram calculados a média, mediana, mínimo, máximo e desvio padrão para os dados quantitativos e tabelas de frequência para os dados qualitativos.

5) Aspectos Éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos (1107/2016).

Todos os pacientes incluídos no estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) específico do estudo para cada uma das etapas apresentadas: análise em larga escala (coleta retrospectiva) e análise em larga escala (coleta prospectiva). Os autores se comprometeram a respeitar os princípios da confidencialidade e privacidade relacionados ao estudo.

Os resultados desse estudo (em caso de alterações deletérias detectadas) só serão fornecidos aos pacientes após validação em uma segunda metodologia (sequenciamento Sanger). Estes resultados serão comunicados e discutidos com os pacientes e seus familiares por um médico especializado (geneticista) dentro do contexto do aconselhamento genético, em que serão abordadas medidas preventivas e de rastreamento para o câncer de acordo com os resultados obtidos. Uma vez identificado um indivíduo afetado (caso-índice) em uma família, os demais familiares em risco também poderão ser testados para a mesma variante se assim o desejarem.

6) Resultados

6.1) Dados clínico-patológicos

Os dados clínico-patológicos dos pacientes incluídos no estudo estão apresentados na tabela 8. Observou-se que a maioria dos pacientes era do sexo feminino (71,1%), autodeclarados como brancos (76,3%) e com média de 48 anos ao diagnóstico (variando de 34 a 77 anos de idade). A maioria dos pacientes incluídos apresentava tumores localizados no reto (36,8% dos casos), seguido de sigmoide (18,4%), cólon direito, cólon esquerdo e transversal. Três pacientes inclusas apresentavam tumor primário de endométrio (não CCR) sendo duas delas com estadiamento tumoral (TNM) grau II, sendo os três *MSS*. Outros três pacientes apresentaram um segundo tumor primário além do CCR sendo eles: 1 câncer de endométrio (*MSS*), 1 câncer de próstata e 1 câncer renal. Todos os tumores incluídos eram do tipo adenocarcinoma. Para 2 tumores não foi possível obter a informação acerca do tipo histológico.

Tabela 8 – Informações sociodemográficas e clinicopatológicas dos pacientes do estudo

Sexo	Frequência (%)
Mulheres	27 (71,1%)
Homens	11 (28,9%)
Etnia (autodeclarada)	Frequência (%)
Branca	29 (76,3)
Negra	3 (7,9)
Parda	5 (13,2)
Amarela	1 (2,6)
Status	Frequência (%)
Vivo em seguimento	27 (71,1)
Óbito	7 (18,4)
Vivo em tratamento	1 (2,6)
Perda de seguimento	1 (2,6)
Ignorado	2 (5,3)
Idade ao diagnóstico (média em anos)	48,7 (34-77; DP: 11,1)
Tipo histológico	Frequência (%)
Adenocarcinoma (SOE)	36 (94,7)
Ignorado	2 (5,3)
Localização tumoral primária*	Frequência (%)
Colorretal	35 (92,1)
Endométrio	3 (7,9)

Localização (colorretal)	Frequência (%)
Reto	14 (36,8)
Sigmoide	7 (18,4)
Cólon direito	6 (15,8)
Cólon esquerdo	4 (10,5)
Cólon transverso	2 (5,3)
Ignorado	2 (5,3)
Grau de diferenciação CCR	Frequência (%)
Pouco diferenciado	9 (25,7)
Moderadamente diferenciado	23 (65,7)
Bem diferenciado	0
Ignorado	3 (8,6)
Estadiamento TNM CCR	Frequência (%)
0	0
I	8 (22,9)
II (A, B, C)	10 (28,6)
III (A, B, C)	12 (34,3)
IV (A, B)	2 (5,7)
Ignorado	3 (8,6)

6.2) Dados de História Familiar

Foi analisado o histórico familiar de câncer das 33 famílias às quais pertenciam os 38 participantes do estudo, sendo que 22 famílias preenchem todos os critérios de Amsterdã I, 10 famílias preenchem Amsterdã-1 (faltando um critério dentre os preconizados para preencher Amsterdã I) e uma família Amsterdã-2 (faltando dois critérios). Três famílias (as famílias 17, 24 e 26) tiveram dois membros analisados e uma família (a família 21) teve três membros incluídos.

Em relação à história familiar de câncer, uma média de 6 familiares possuem algum tipo de câncer, ocorrendo cerca de 3 casos de câncer colorretal por família. A média de idade dos casos de CCR é de 56,48 (28 a 90 anos). Ainda em relação aos familiares, os tipos tumorais mais comumente encontrados foram CCR com 71 casos em 32 famílias, câncer de mama com 12 casos em oito famílias, gástrico/digestivo sendo nove casos em seis famílias diagnosticados como gástrico e três casos em uma família identificados no heredograma como como “digestivo”, tumores uterinos (útero, endométrio e colo do útero) com cinco casos em quatro famílias e pulmão com quatro casos em três famílias. Ainda há a

possibilidade de haver mais casos, visto que algumas famílias não tinham informações do tipo do tumor primário de alguns familiares.

As famílias que apresentavam tumores do espectro Lynch (além do CCR) foram: as famílias 1, 5, 6, 8, 13, 14, 16, 21, 25, 26, 27 e 29. Desses tumores não detectamos nenhum no trato biliar, pancreático ou no intestino delgado, porém encontrou-se seis tumores do trato urinário em seis famílias, dois tumores de ovário em duas famílias, dois linfomas em duas famílias, cinco tumores hematológicos em cinco famílias e dois cerebrais em uma família.

Das 33 famílias do presente estudo, quatro delas (as famílias 4, 14, 15 e 24) possuem consanguinidade, porém o ramo de análise para as variantes com frequência acima de 1% desse grupo específico de famílias, não detectou nenhuma variante classes III, IV ou V. Na família 4 ocorreram quatro casos de CCR, um de pulmão e um de bexiga. Na família 14 ocorreram três casos de câncer colorretal e dois casos de câncer de pele. Na família 15 ocorreram um caso de endométrio, três casos de CCR, um caso de câncer de boca e um caso de gástrico. E na família 24 ocorreram três casos de CCR e dois casos de pele.

Os dados sobre a história familiar estão descritos na tabela 9, enquanto que os heredogramas de todas as famílias estão apresentados no Anexo B.

Tabela 9 – Histórico familiar dos pacientes do estudo

ID da família ¹	Critérios (Amsterdã I) preenchidos na família ²	Probando (sexo, idade ao diagnóstico)	Familiares com câncer Tumores (sexo, idade ao diagnóstico) ³
1	Amsterdã I	Colorretal (H41)	Colorretal (H36, H34, M50, HX, HX), Fígado (H49), Útero (M50, M45), Urotelial (HX)
2	Amsterdã I	Colorretal (H38)	Colorretal (M40, M40)
3	Amsterdã I – 1	Colorretal (H35)	Colorretal (H68)
4	Amsterdã I	Colorretal (M41)	Colorretal (M45, H55, H40), Bexiga (H70), Pulmão (HX)
5	Amsterdã I – 1	Colorretal (M38)	Colorretal (H70), Mama (M50, M52)
6	Amsterdã I – 1	Colorretal (H54)	Colorretal (M42), Digestivo (H50, H50, M42)
7	Amsterdã I	Colorretal (M46)	Colorretal (H68, H60)
8	Amsterdã I	Colorretal (M40)	Colorretal (H49, MX, H50, M69, HX), Gástrico (M65), Útero (M28)
9	Amsterdã I	Colorretal (H62)	Colorretal (H55, H67), Pulmão (HX), Sarcoma (HX), Bexiga (HX), Sistema Nervoso Central (HX), Linfoma (HX)
10	Amsterdã I	Colorretal (M34)	Colorretal (M28, H60), Pólipos (M23), Ovário (M55), Bexiga (H80)
11	Amsterdã I	Colorretal (M67)	Colorretal (H70, M62, M40), Orofaringe (H45)
12	Amsterdã I	Endométrio (M52)	Colorretal (H55, H30), “Câncer” (HX), Tumor neuroepitelial disembrionoplástico (HX), Histiocitose de células de Langerhans (HX), Rim (H50), Leucemia (H68), Tireoide (M35, M35)
13	Amsterdã I	Colorretal (M37)	Colorretal (H54, M70), Sistema Nervoso Central (H45), Gástrico (M60)
14	Amsterdã I	Colorretal (H54)	Colorretal (H43, M70), Pele (M55, H90)
15	Amsterdã I – 1	Endométrio (M57)	Colorretal (H54, M53, H74), Gástrico (HX), Boca (HX)
16	Amsterdã I	Colorretal (M74)	Colorretal (H70, H70, H81, M51, MX, M40), Renal (H30), Bexiga (H81), Pulmão (H82), Pele (M74), Ovário (MX)
17	Amsterdã I – 1	Colorretal (H45)	Colorretal (H51), Bexiga (H45), Pólipos (MX, MX), “Câncer” (MX, MX, MX)
18	Amsterdã I	Colorretal (H56)	Colorretal (M30, M30), Rim (H56), Mama (M63), “Câncer” (H16), Sistema Nervoso Central (H30, H42), Seio Maxilar (MX)
19	Amsterdã I	Colorretal (M51)	Colorretal (H68, H32), Linfoma de Hodgkins (M55), “Câncer” (H58), Rim (M66), Leucemia (M7), Meningioma (M7)
20	Amsterdã I – 1	Colorretal (M68)	Colorretal (H90), Mama (MX), “Câncer” (M50), Tireoide (M25), Esôfago (M60),
21	Amsterdã I	Colorretal (H49)	Colorretal (H50, H72, M49), Cerebral (H65, H58), Mama (MX), Pólipos (MX), Mieloma Múltiplo (MX), “Câncer” (MX, MX, MX)
22	Amsterdã I – 1	Colorretal (M77)	Colorretal (M38), Pulmão (M47), Mama (M50)
23	Amsterdã I – 1	Endométrio (M58)	Colorretal (H33, MX), Pólipos (HX, HX, HX, MX), Síndrome mielodisplásica (HX), Mama (M70, M45, M50), Tireoide (M50), Melanoma (M50)

24	Amsterdã I	Colorretal (H70)	<u>Colorretal (H66, M45)</u> , Próstata (H70, HX)
25	Amsterdã I – 1	Colorretal (M55)	Colorretal (H50), Pólipos (HX), Gástrico (H52, M60), Carcinoma epidermoide (M55), Mama (MX, M38), Pele (M78, MX), “Câncer” (H60, H60), Próstata (HX), Útero (M65)
26	Amsterdã I – 2	Colorretal (M42)	<u>Colorretal (M51)</u> , Endométrio (M47), Colo do útero (M42), “Câncer” (HX, HX)
27	Amsterdã I	Colorretal (M67)	Colorretal (M31, M78), Osteossarcoma (HX)
28	Amsterdã I	Colorretal (M46)	Colorretal (H24, M60)
29	Amsterdã I – 1	Colorretal (M41)	Fígado (H51), Gástrico (MX, M61, MX)
30	Amsterdã I	Colorretal (M40)	Colorretal (H58, H82)
31	Amsterdã I	Colorretal (M29)	Colorretal (H80, M42), Próstata (H80), Garganta (H70, MX), Gástrico (MX), Adenoma túbulo-viloso (MX)
32	Amsterdã I	Colorretal (M37)	Colorretal (H50, M50), Pólipos (MX), “Câncer” (H50)
33	Amsterdã I	Colorretal (H37)	Colorretal (M60, MX, HX), Basocelular (M60, MX), Mama (M50), Nariz (MX)

1) Em **negrito** famílias que apresentam consanguinidade; 2) Amsterdã-1 e Amsterdã-2: preenchem todos os critérios com exceção de um e dois critérios respectivamente; M – Mulher; H – Homem. 3) Os números são idade ao diagnóstico, o “X” são casos cuja idade é desconhecida e “Câncer” quando não há informação da localização do tumor primário. Os sublinhados são familiares inclusos no sequenciamento.

6.3) Dados moleculares

6.3.1) Variantes germinativas identificadas

Na tabela 10 e na figura 8 encontram-se os tipos referentes às 587 variantes únicas identificadas nos 2389 genes, após exclusão das variantes benignas e comuns na população (frequência superior a 1%), mas previamente à fase de inspeção manual. Com a verificação manual das variantes 304 variantes foram eliminadas dos passos subsequentes de avaliação (principalmente por terem sido consideradas como benignas/provavelmente benignas, por serem artefatos de sequenciamento ou por estarem em regiões hipermutadas dos genes).

Tabela 10 – Tipos de variantes encontradas em toda casuística

Tipo de variante	Frequência absoluta
Frameshift	69
Intrônica	2
<i>Missense</i>	474
Em sítio de <i>splicing</i>	23
<i>Nonsense</i>	18
<i>Stoploss</i>	1

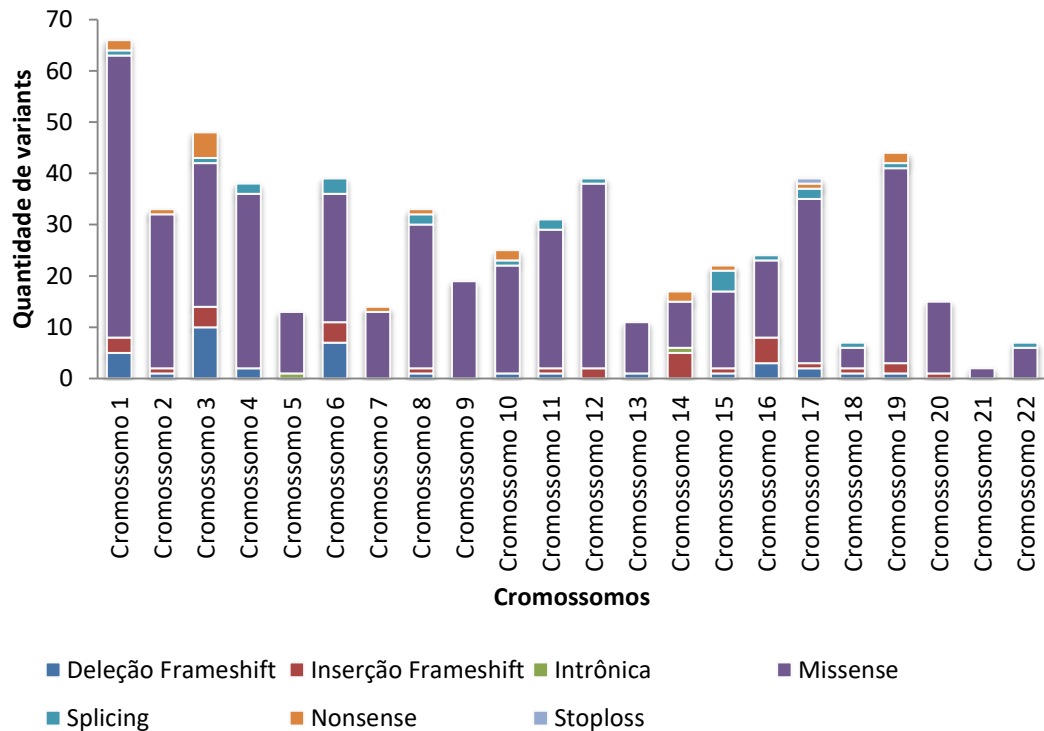


Figura 8: gráfico ilustrando a localização das variantes nos cromossomos

Dentre as 283 variantes únicas identificadas e que passaram pela fase de priorização manual, 275 foram consideradas como variantes de significado clínico desconhecido e 8 (1,4%) foram consideradas como patogênicas ou provavelmente patogênicas.

Dentre as variantes identificadas em nosso estudo, 71 estavam localizadas em genes já associados a síndromes hereditárias. Dessas, 65 foram consideradas como variantes de significado clínico desconhecido. Os cinco genes mais frequentemente alterados foram: *FAN1* relacionado a CCR hereditário⁴⁷ com quatro variantes, seguido dos genes *RASAL1*, um regulador negativo da via RAS associada à síndrome de Cowden^{5,66} e *SDHA*, um regulador de vias energéticas relacionado à feocromocitoma, paragangliomas e tumores gastrointestinais^{5,66}, com três variantes cada, seguido dos genes *ERCC2*, um gene de reparo relacionado à anemia de Fanconi⁶⁵ e *TRIM28*, um regulador de expressão de supressores tumorais com duas variantes cada relacionado à tumores de Wilms^{5,66}. Uma visão geral das variantes se encontra no anexo C.

No que se refere à variantes nos genes classicamente associados à SL, identificamos duas variantes (tabela 11). Cabe destacar que a imunohistoquímica para as proteínas codificadas pelos genes com as variantes apresentou resultado normal, atestando para a não patogenicidade das variantes identificadas.

Tabela 11: Variantes em genes da Síndrome de Lynch

Gene	c.	p.	Revel	M-CAP	ClinVar*	ACMG
<i>MLH1</i>	c.2027T>C	p.Leu676Pro	0.917	0.473622	VUS	III (PM2, PP2, PP3)
<i>MSH6</i>	c.2177T>A	p.Phe726Tyr	0.678	0.190663	VUS	III (PM2)

*Consulta em 11/2020

Todas as variantes identificadas estavam nos genes que se relacionam direta ou indiretamente à carcinogênese. Dessas, 232 foram consideradas como variantes cujo significado clínico ainda é desconhecido. No que se refere aos genes mais frequentemente alterados, destacam-se *MUC4*, gene cujo produto proteico protege as mucosas de diversos órgãos (13 variantes identificadas)^{5,66}; *TTK*, cuja proteína fosforila tirosinas, serinas e treoninas além de ser uma das promotoras do alinhamento cromossomal durante a mitose (sete variantes identificadas)^{5,66}; genes *TBP*, que atua na ativação de diversos genes e *POLG*, um dos codificadores de subunidades de polimerases (cinco variantes cada)^{5,66}, além dos

Na família 21 identificamos uma variante nos genes *TYRO3*, *NUTM2A*, *HLTF*, *MAFK*, *PREX2*, *MADD*, *IFFO1* e *TCF3* em dois membros de três e uma variante no gene *FAT1* presente nos três membros simultaneamente (Figura 11). Esses indivíduos apresentavam diagnóstico de CCR dois na idade de 49 e um aos 72 anos.

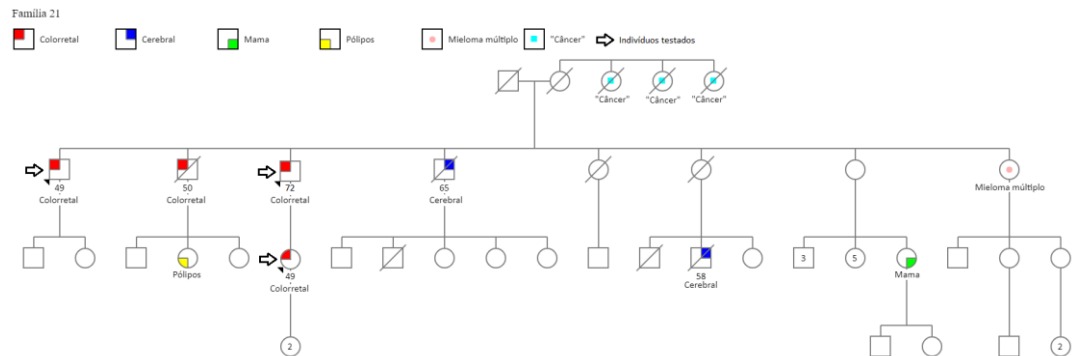


Figura 11: heredograma da família 21

Na dupla da família 24 foi encontrado uma variante nos genes *SGK1*, *E2F7* e *FAN1* (Figura 12). Esses indivíduos apresentavam diagnóstico de CCR nas idades 70 e 45 anos.

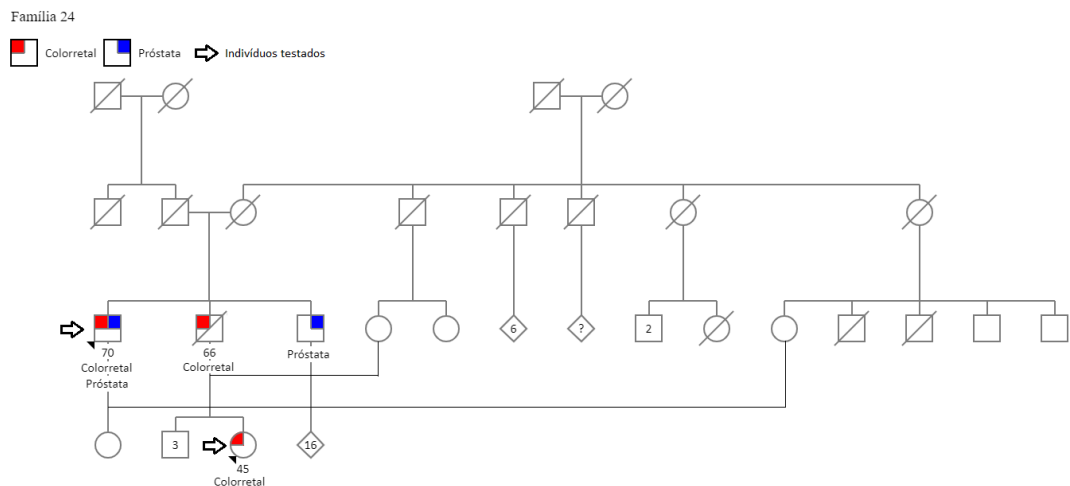


Figura 12: heredograma da família 24

Ainda, para a dupla da família 26, encontrou-se uma variante nos genes *FRMD3*, *TCF7L2*, *TBX3*, *NDRG2*, *FAN1*, *CDT1*, *PIAS4*, *ZGPAT* e *FBLN1* (Figura 13). Esses indivíduos apresentavam diagnóstico de CCR nas idades 42 e 51 anos.

a 15 e na figura 14. Em suma, encontramos uma variante *nonsense*, três variantes *missense*, uma inserção *frameshift* e três deleções *frameshift*, detectadas em pacientes com diagnóstico de CCR. As características clínicas e histopatológicas dos seis pacientes encontram-se detalhadas na tabela 15.

Tabela 13 – Classificação das variantes classes IV e V identificadas

Posição genômica	c.	p.	Gene	ClinVar*	Revel	M-CAP	Frequência (gnomAD)	Classificação ACMG	Parâmetros ACMG
3:9791999insC	c.30dupC	p.Arg10fs	<i>OGG1</i>	Não relatada	Indisponível	Indisponível	Não relatada	IV	PVS1 + PM2
3:48508395G>A	c.506G>A	p.Arg169His	<i>TREX1</i>	Patogênica**	0,828	0,376515	0.000217	V	PS3 + PM1 + PM5 + PP2 + PP3 + PP5
3:142268449G>A	c.3043C>T	p.Arg1015Ter	<i>ATR</i>	Não relatada	Indisponível	Indisponível	0.000007	V	PVS1 + PM2 + PP3
6:161781200C>T	c.758G>A	p.Arg253His	<i>PRKN</i>	Não relatada	0,752	0,203989	0.000071	IV	PM1 + PM2 + PM5 + PP3
15:31197222delGG	c.356_357del	p.Arg119fs	<i>FAN1</i>	Não relatada	Indisponível	Indisponível	Não relatada	IV	PVS1 + PM2
16:3639379insG	c.4259dupC	p.Pro1420fs	<i>SLX4</i>	Não relatada	Indisponível	Indisponível	0.000004	IV	PVS1 + PM2
20:31022441insG	c.1927dupG	p.Gly642fs	<i>ASXL1</i>	Patogênica	Indisponível	Indisponível	Não relatada	V	PVS1 + PM2 + PP3 + PP5
22:29121087A>G	c.470T>C	p.Ile157Thr	<i>CHEK2</i>	Patogênica**	0,538	Indisponível	0.004918	IV	PS3 + PM1 + PM5 + PP2 + BS1

*Consulta em 12/2019, 01/2020, 02/2020.

**Embora o parecer de patogenicidade do ClinVar seja conflito, consideramos os estudos que consideraram as variantes patogênicas

Tabela 14 – Lista de variantes classes IV e V identificadas

Posição genômica	c.	p.	Gene	Classificação	Cobertura (VAF*)	Família	Via de reparo	Síndrome de predisposição hereditária ao câncer associada ¹
3:9791999insC	c.30dupC	p.Arg10fs	<i>OGG1</i>	IV	160 (97%)	6	Excisão de base	Não especificada
3:48508395G>A	c.506G>A	p.Arg169His	<i>TREX1</i>	V	237 (52%)	13	Não especificada	Não se aplica
3:142268449G>A	c.3043C>T	p.Arg1015Ter	<i>ATR</i>	V	77 (39%)	3	Anemia de Fanconi	Síndrome de câncer e telangiectasia cutânea familiar
6:161781200C>T	c.758G>A	p.Arg253His	<i>PRKN</i>	IV	50 (45%)	5	Não se aplica	Não se aplica
15:31197222delGG	c.356_357del	p.Arg119fs	<i>FAN1</i>	IV	60 (53%)	33	Anemia de Fanconi	Câncer colorretal hereditário
16:3639379insG	c.4259dupC	p.Pro1420fs	<i>SLX4</i>	IV	162 (40%)	5	Não se aplica	Anemia de Fanconi
20:31022441insG	c.1927dupG	p.Gly642fs	<i>ASXL1</i>	V	262 (32%)	22	Não se aplica	Leucemia
22:29121087A>G	c.470T>C	p.Ile157Thr	<i>CHEK2</i>	IV	73 (49%)	33	Não especificada	Câncer de mama

Genetics Home Reference – NIH.

VAF: Variant Allele Fraction obtida a partir do IGV

Tabela 15: Dados clínico-patológicos dos pacientes com variantes IV e V

Família	Critério clínico da família	Tumores na família	Idade ao diagnóstico	Variante	Tipo de tumor	Localização do tumor	Grau de diferenciação do tumor
3	Amsterdã I-1	CCR	34 anos	<i>ATR</i> :c.3043C>T	CCR (adenocarcinoma)	Reto	Moderadamente diferenciado
5	Amsterdã I-1	Mama e CCR	52 anos	<i>PRKN</i> :c.758G>A	CCR (adenocarcinoma)	Cólon esquerdo	Moderadamente diferenciado
5	Amsterdã I-1	Mama e CCR	52 anos	<i>SLX4</i> :c.4259dupC	CCR (adenocarcinoma)	Cólon esquerdo	Moderadamente diferenciado
6	Amsterdã I-1	Digestivo e CCR	54 anos	<i>OGG1</i> :c.30dupC	CCR (adenocarcinoma)	Reto	Pouco diferenciado
13	Amsterdã I	Mama e CCR	37 anos	<i>TREX1</i> :c.506G>A	CCR (adenocarcinoma)	Reto	Moderadamente diferenciado
22	Amsterdã I-1	Mama, Pulmão e CCR	77 anos	<i>ASXL1</i> :c.1927dupG	CCR (adenocarcinoma)	Reto	Moderadamente diferenciado
33	Amsterdã I	Mama, Basocelular, Nariz e CCR	37 anos	<i>CHEK2</i> :c.470T>C	CCR (adenocarcinoma)	Cólon direito	Moderadamente diferenciado
33	Amsterdã I	Mama, Basocelular, Nariz e CCR	37 anos	<i>FAN1</i> :c.356_357del	CCR (adenocarcinoma)	Cólon direito	Moderadamente diferenciado

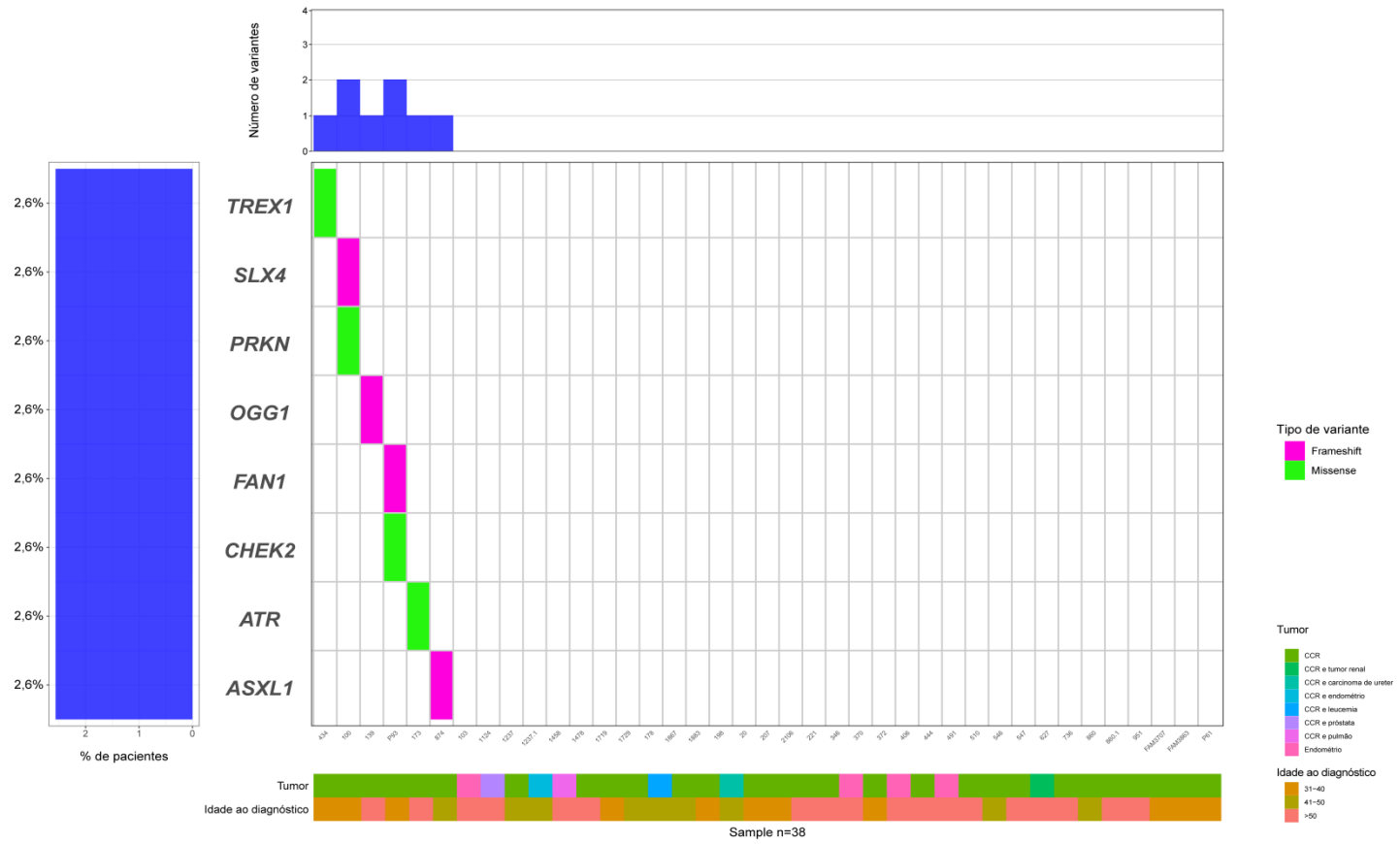


Figura 14: Heatmap das variantes classes IV e V

Encontramos no membro da família 6 (Figura 15) a duplicação c.30dupC (p.Arg10fs) no gene *OGG1*. A duplicação é classificada como classe IV pelos critérios da ACMG (PVS1 + PM2), reforçamos ainda que a variante é uma *frameshift* localizada no começo da proteína e antes dos dois sítios ativos da mesma. O gene o *OGG1* se relaciona com diversos outros genes das vias de reparo de danos ao DNA (Figura 16 – figura criada por meio do String (© STRING CONSORTIUM 2020). A legenda das redes encontra-se na figura 17). O paciente foi diagnosticado aos 54 anos com câncer colorretal do tipo adenocarcinoma pouco diferenciado localizado no reto indo a óbito aos 60 anos. Durante a anamnese pelo departamento de oncogenética, o paciente relata uma prima, dois tios paternos com câncer gástrico e os 14 tios paternos que vieram a óbito por “problemas estomacais”, sendo possível que alguns desses casos possam ser tumores gástricos não diagnosticados, além de um caso de CCR aos 42 anos. O gene *OGG1* é pertencente à via de reparo de danos ao DNA por excisão de bases, mais precisamente, o gene codifica uma enzima para excisão de uma lesão comum ao DNA causada por exposição a reativos de oxigênio (8-oxoguanine)^{5,65,66}.

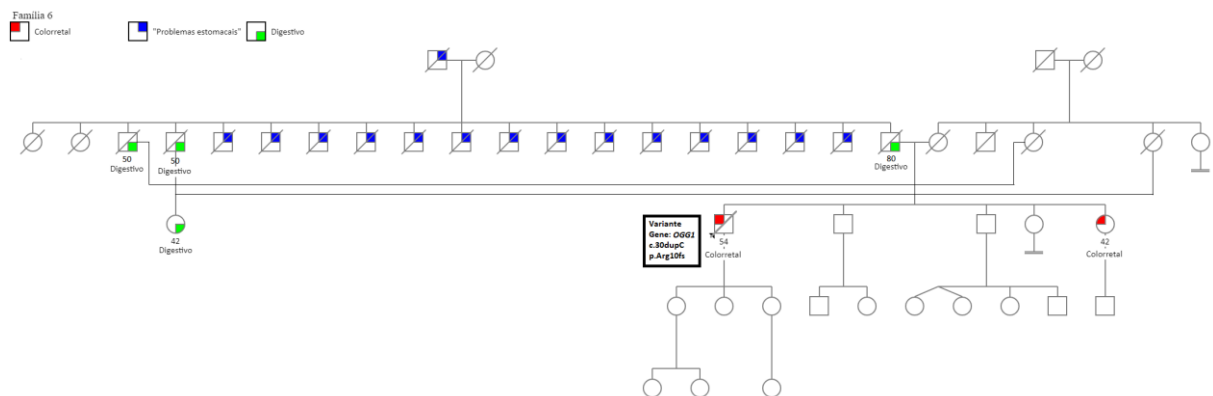


Figura 15: Heredograma da família 6

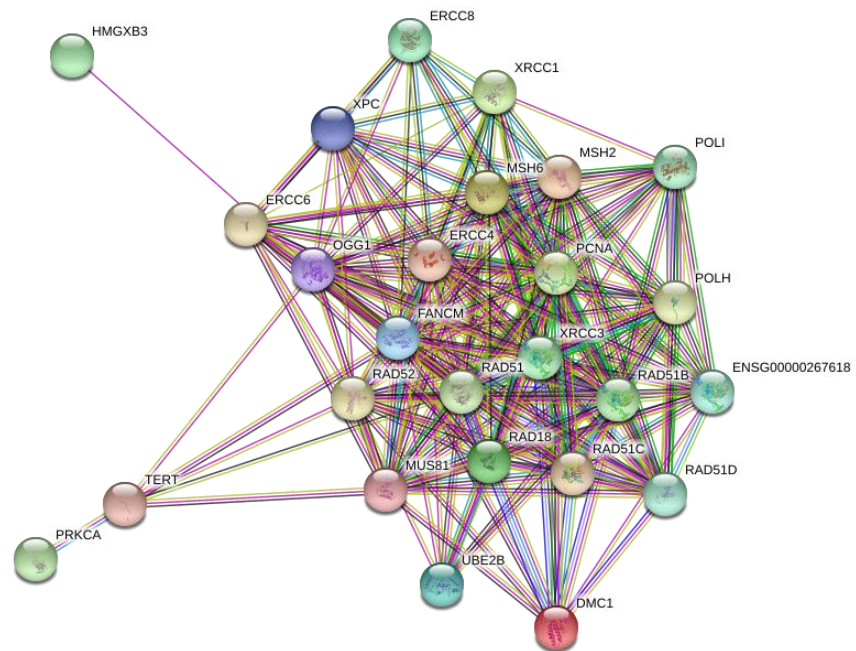


Figura 16: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *OGG1*



Figura 17: legenda das redes de genes do STRING

Encontramos 2 variantes no caso índice da família 33: a variante *missense* c.470T>C (p.Ile157Thr) no gene *CHEK2* e a variante do tipo *frameshift* c.356_357del (p.Arg119fs) no gene *FAN1* (Figura 18). A variante do gene *CHEK2* é classificada como classe IV pelos critérios da ACMG (PS3 + PM1 + PM5 + PP2 + BS1) e como patogênica pela maioria dos depositantes do Clinvar. O paciente foi diagnosticado aos 37 anos com um adenocarcinoma moderadamente diferenciado localizado no cólon direito. Ainda nessa família ocorreram mais três casos de câncer colorretal e além de mama e basocelular abaixo dos 50 anos. O *CHEK2* é um gene supressor tumoral que atua impedindo a progressão do ciclo celular em respostas à danos ao DNA ou aos demais bloqueadores de ciclo a fim da ativação do reparo de danos ao DNA ou apoptose^{5,65,66}. De acordo com a rede de interação gênica (figura 19) o *CHEK2* se relaciona com vários genes reguladores (positivos e negativos) do ciclo celular e das vias de reparo de danos ao DNA. Ressalta-se que a variante se encontra no primeiro domínio funcional da proteína e segundo o OncoKB⁸² ela possui potencial oncológico.

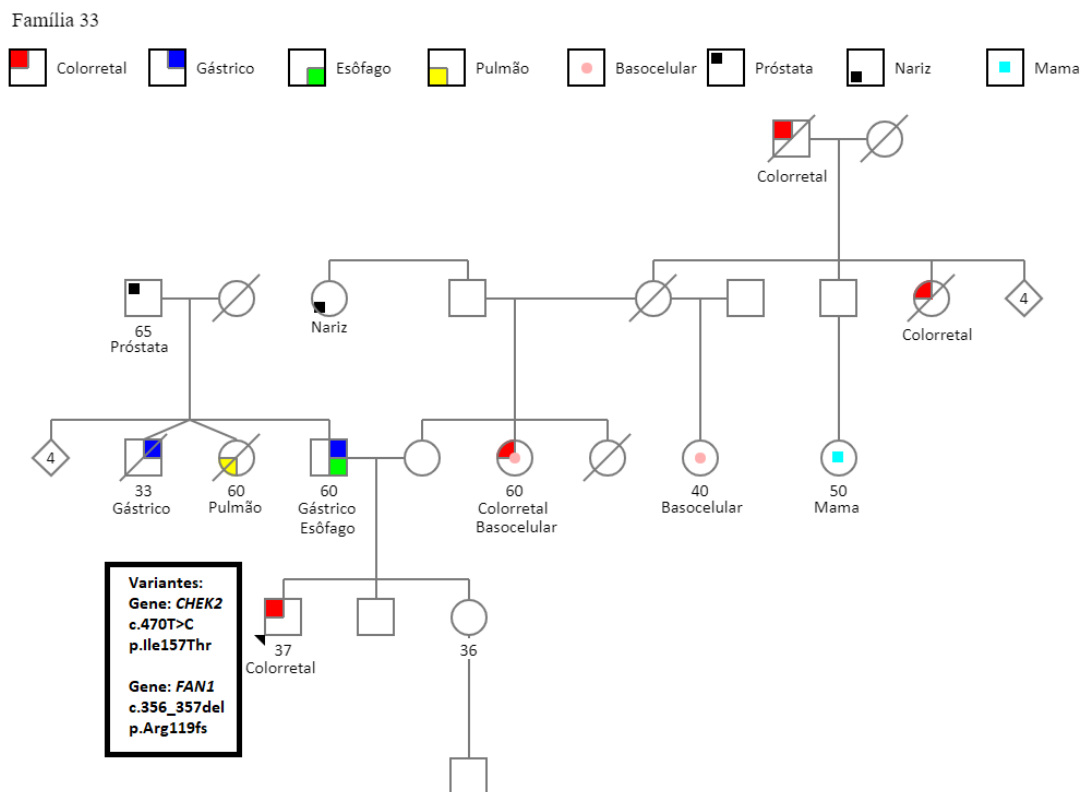


Figura 18: Heredograma da família 33

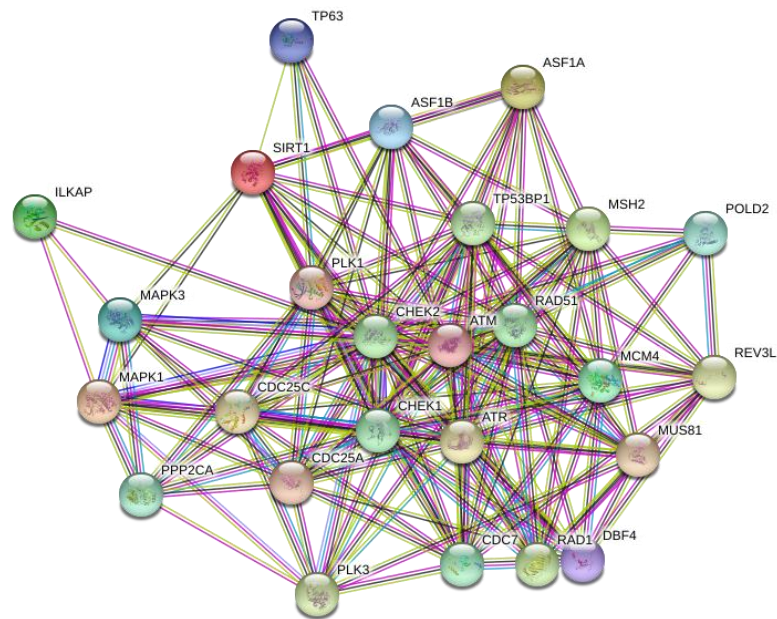


Figura 19: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *CHEK2*

A segunda variante no caso índice da família 33 é a deleção *frameshift* c.356_357del (p.Arg119fs) no gene *FAN1*, único gene identificado em outros estudos para famílias Amsterdã I e MSS⁴⁷. A deleção é classificada como classe IV pelos critérios da ACMG (PVS1 + PM2). O *FAN1* possui uma atividade de endonuclease atuando no reparo principalmente de *crosslink* ao DNA por meio da via de reparo da anemia de Fanconi^{5,65,66}. De acordo com a rede de interação gênica (figura 20) o *FAN1* relaciona-se com diversos genes que atuam no reparo de danos como anemia de Fanconi, *MMR* e excisão de nucleotídeos. Ressalta-se que a deleção *frameshift* se localiza antes do domínio funcional da proteína.

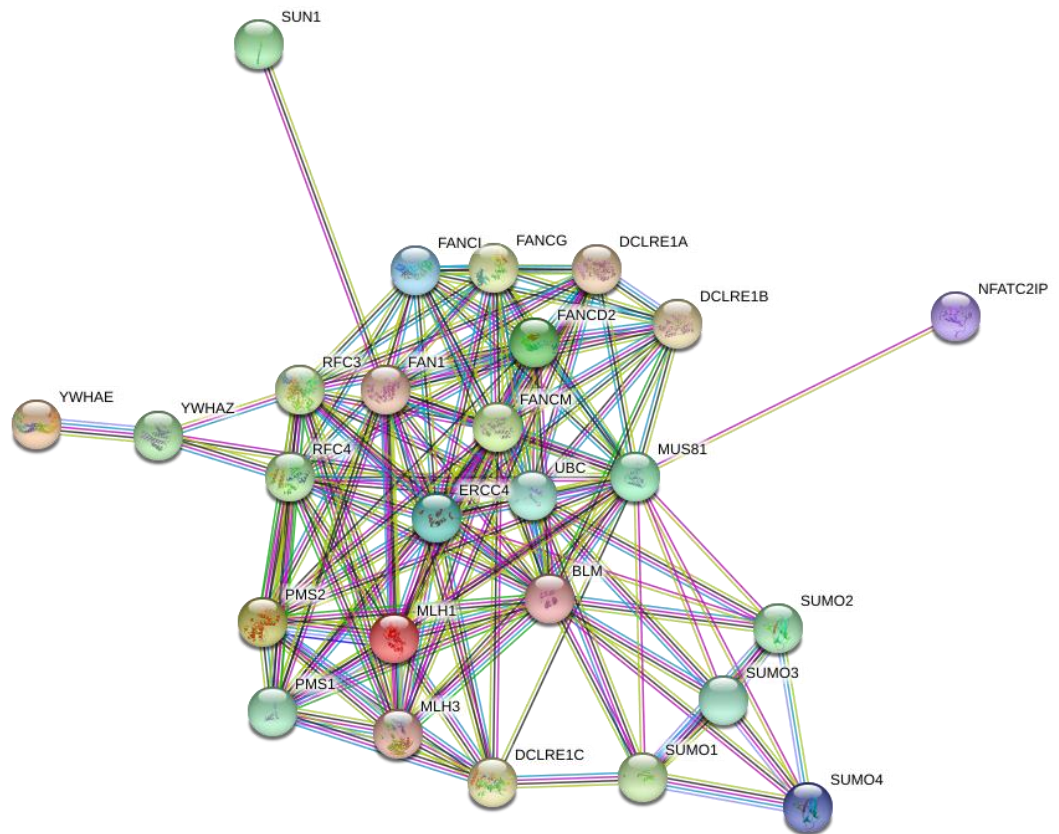


Figura 20: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *FAN1*

Encontramos duas variantes no caso índice da família 5: a variante *missense* c.758G>A (p.Arg253His) no gene *PRKN* também conhecido como *PARK2*, bem como uma duplicação (c.4259dupC, p.Pro1420fs) no gene *SLX4* (Figura 21). A variante no gene *PRKN* é classificada como classe IV pelos critérios da ACMG (PM1 + PM2 + PM5 + PP3). A paciente foi diagnosticada aos 38 anos com adenocarcinoma moderadamente diferenciado localizado no cólon esquerdo em cuja família ocorreram mais um caso de CCR e um de mama aos 52 anos. A função do gene *PRKN* ainda não é conhecida visto que o mesmo participa em diversos processos celulares⁶⁶. De acordo com a rede de interação gênica (figura 21) o *PRKN* relaciona-se com genes das vias de reparo de danos de DNA (*TP53*), proto-oncogene (*ABL1*) e genes codificadores de enzimas para destruição de proteínas (proteases).

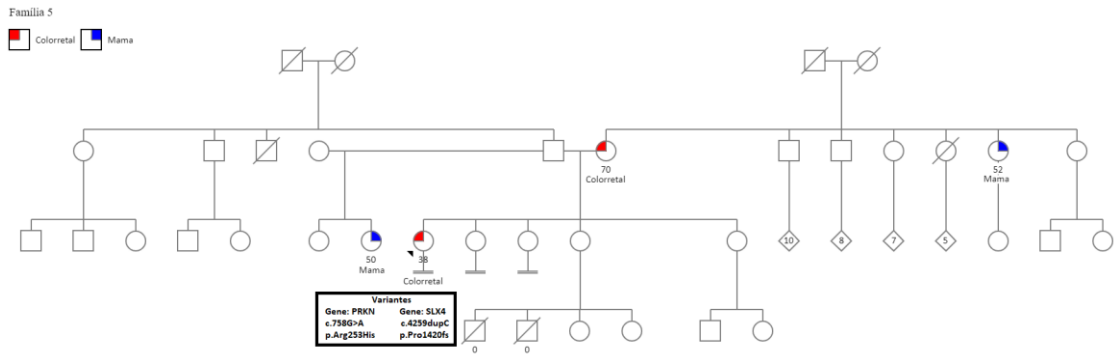


Figura 21: Heredograma da família 5

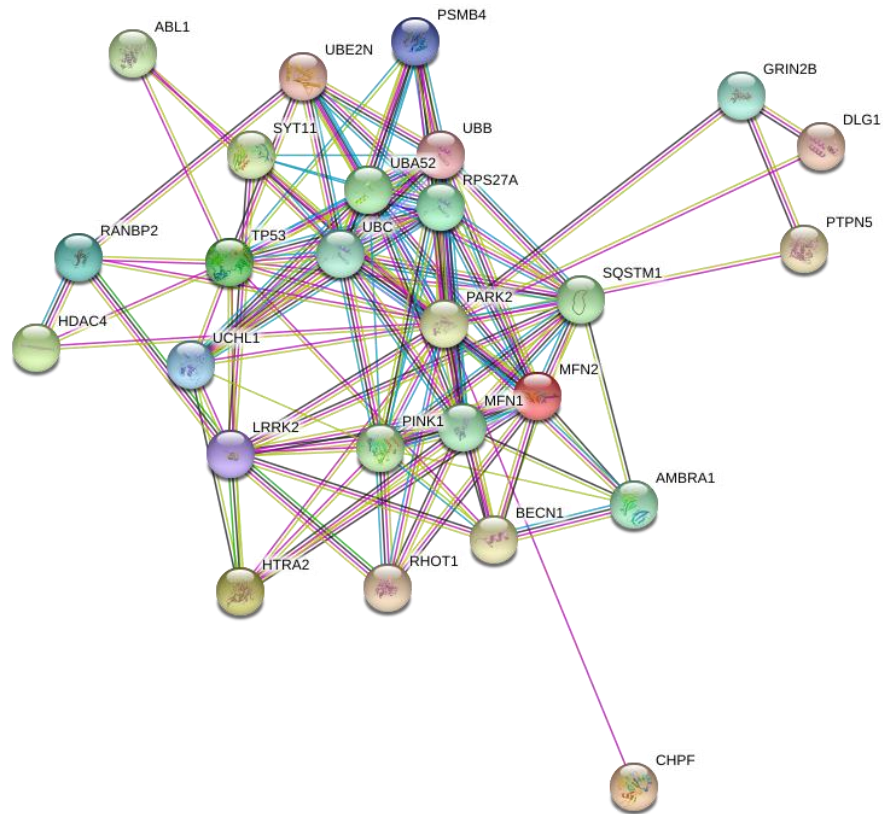


Figura 22: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *PRKN* (*PARK2*)

Nesse mesmo indivíduo encontramos a duplicação c.4259dupC (p.Pro1420fs) no gene *SLX4*. A variante é classificada como classe V pelos critérios da ACMG (PVS1 + PM2). O gene codifica uma subunidade de endonucleases, cuja função é participar e atuar no reparo de danos ao DNA^{5,66}. De acordo com a rede de interação gênica (figura 23), o *SLX4* relaciona-se

com genes de diversas vias de reparo de danos ao DNA: junção de extremidades não homóloga, recombinação homóloga, anemia de Fanconi, excisão de nucleotídeos e alguns de vias não especificadas. Ressalta-se ainda que a duplicação *frameshift* se encontra antes de um domínio funcional da proteína e segundo o OncoKB⁸² a duplicação possui potencial oncológico.

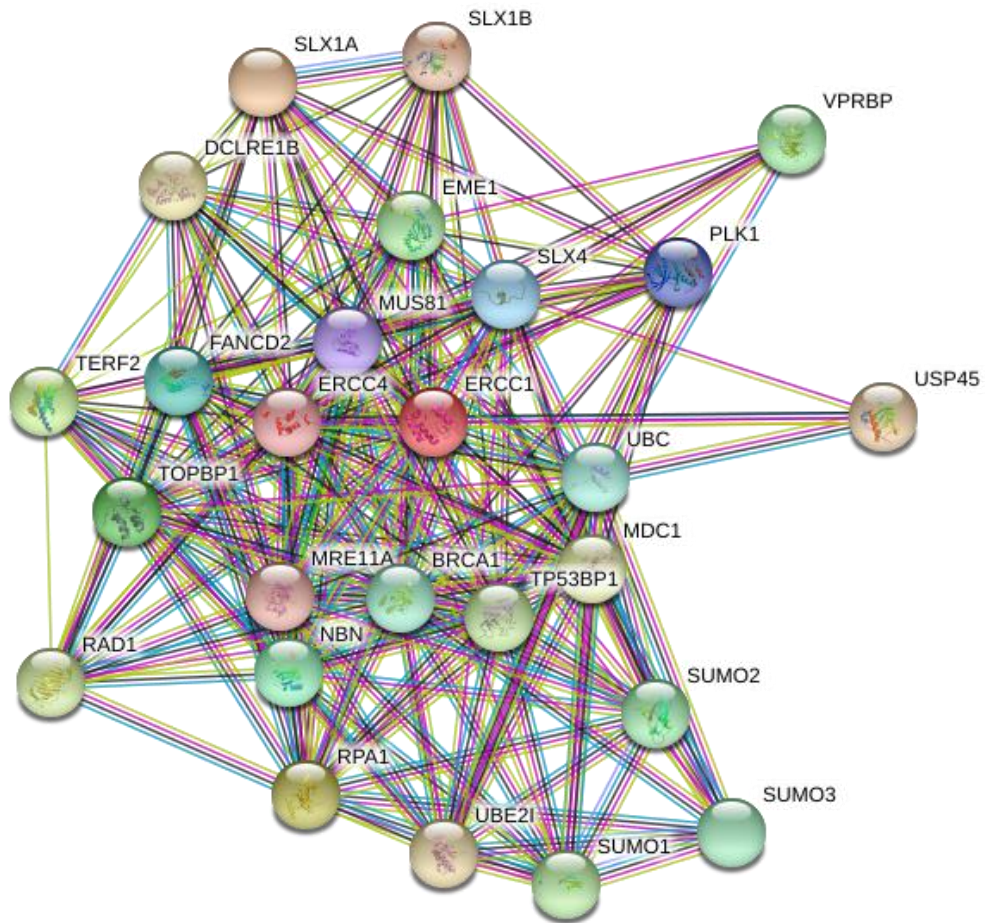


Figura 23: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *SLX4*

Encontramos no caso índice da família 13 a variante *missense* c.506G>A (p.Arg169His) no gene *TREX1* (Figura 24). A variante é classificada como classe V pelos critérios da ACMG (PS3 + PM1 + PM5 + PP2 + PP3 + PP5). A paciente foi diagnosticada aos 37 anos com câncer colorretal do tipo adenocarcinoma moderadamente diferenciado localizado no reto. Na família ainda ocorreram mais dois casos de CCR, um caso de câncer em sistema nervoso central aos 45 anos e um caso de câncer gástrico. O gene *TREX1* codifica uma exonuclease

que lisa a fita de DNA (3' – 5' simples ou dupla) de regiões terminais mau pareadas^{5,65,66}. De acordo com a rede de interação gênica (figura 9) o *TREX1* é relacionado com outra exonuclease de reparo e outras enzimas envolvidas na replicação.

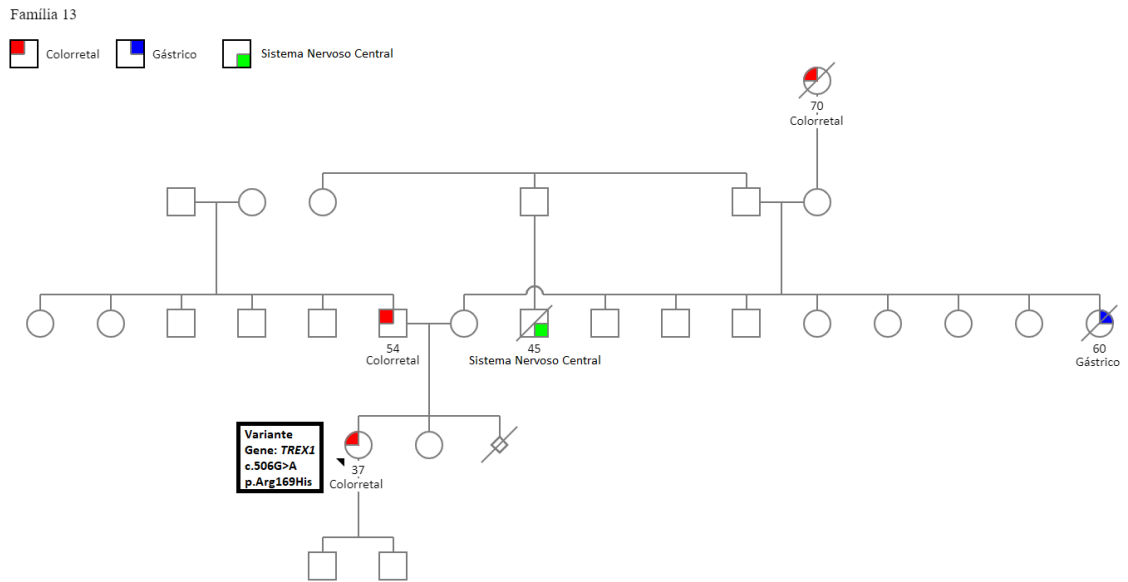


Figura 24: Heredograma da família 13

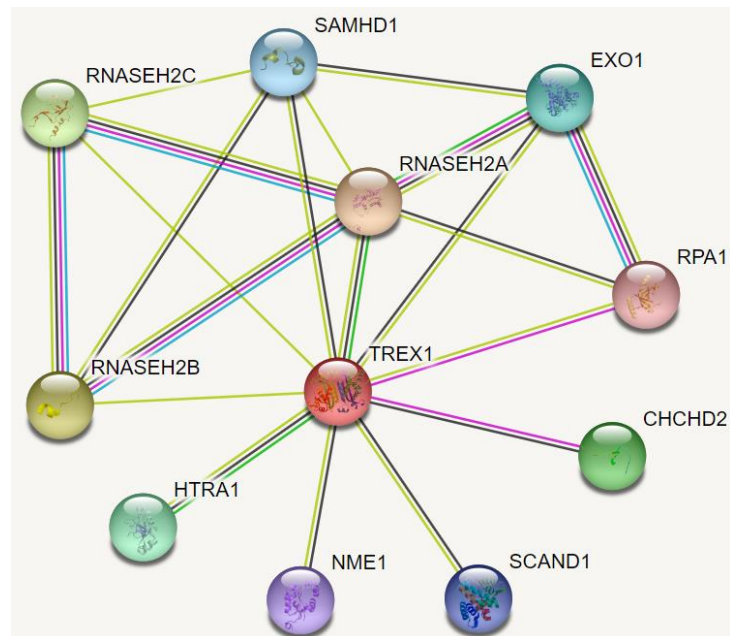


Figura 25: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *TREX1*

Encontramos no caso índice da família 3 a variante *nonsense* c.3043C>T (p.Arg1015Ter) no gene *ATR* (Figura 26). A variante é classificada como classe V pelos critérios da ACMG (PVS1 + PM2 + PP3) sendo também classificada como patogênica pelo ClinVar. A paciente foi diagnosticada aos 34 anos com câncer colorretal do tipo adenocarcinoma moderadamente diferenciado localizado no reto sendo que o pai veio a óbito devido a um CCR. O gene *ATR* ativa *checkpoints* durante o ciclo celular ao detectar danos ao DNA^{5,65,66}. De acordo com a rede de interação gênica (figura 27) o *ATR* é relacionado com diversos genes das vias de reparo e alguns de via não específica. Ressalta-se que a variante cria um códon de parada antes dos três domínios funcionais da proteína e segundo o OncoKB⁸² a variante possui potencial oncológico.

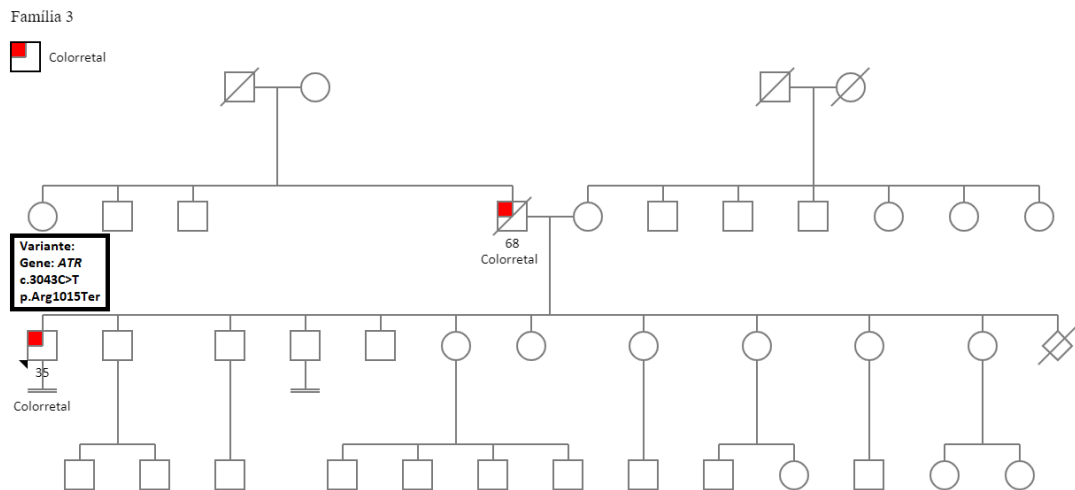


Figura 26: Heredograma da família 3

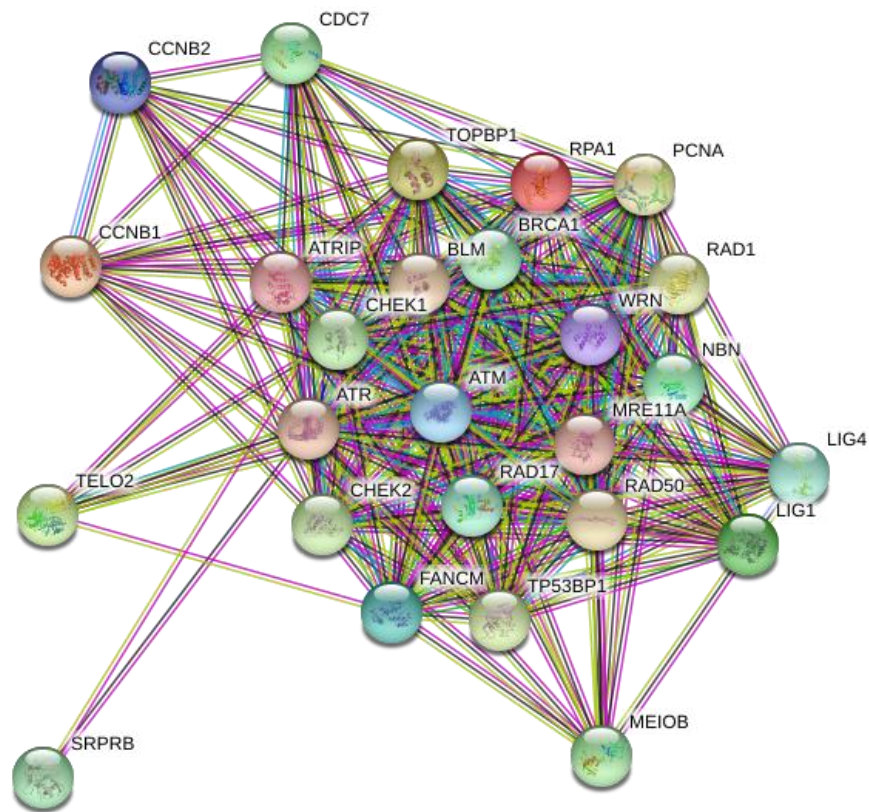


Figura 27: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *ATR*

Por fim, identificamos, no caso índice da família 22 a inserção *frameshift* c.1927dupG (p.Gly642fs) no *ASXL1* (Figura 28). A paciente foi diagnosticada aos 77 anos com um adenocarcinoma moderadamente diferenciado localizado no reto e relata que uma filha veio a óbito com CCR aos 38 anos e a mãe veio a óbito com câncer de mama aos 50 anos, além de um tio com câncer de pulmão aos 47 anos. A variante é classificada como classe V pelos critérios da ACMG (PVS1 + PM2 + PP3 + PP5). O *ASXL1* é um regulador de expressão gênica se ligando na cromatina e alterando sua conformação/remodelação, consequentemente permitindo ou não a expressão dos genes daquela região^{5,66}. De acordo com a rede de interação gênica (figura 29) o *ASXL1* relaciona-se com diversos genes que atuam como fatores de transcrição (como, mas não somente, a família de genes *HOXA*) e reguladores de ciclo celular (*HCFC1* e *AR*). Ressalta-se que a duplicação *frameshift* antecede um dos três domínios funcionais da proteína e que segundo o OncoKB⁸² ela possui potencial oncológico.

Família 22

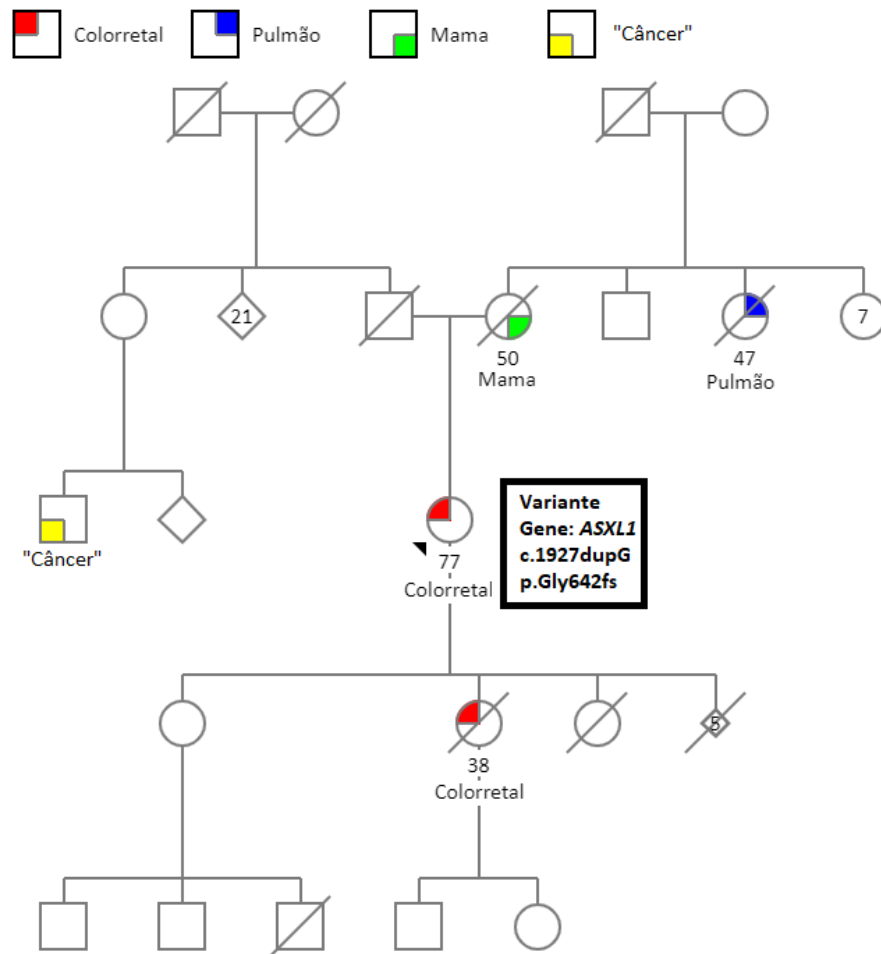


Figura 28: Heredograma da família 22

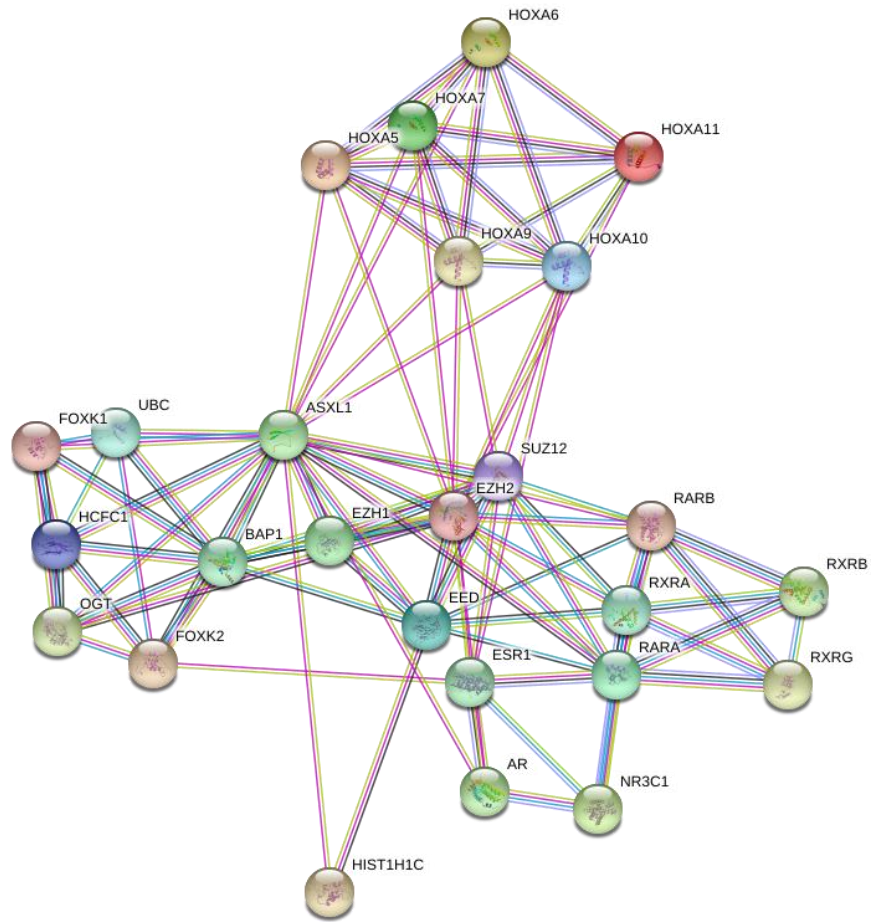


Figura 29: Rede de interação gênica/proteica relacionado ao *ASXL1*

7) Discussão

Identificar as famílias em risco para câncer hereditário é de suma importância, visto que os indivíduos dessa família podem apresentar variantes germinativas patogênicas e, dessa forma, possuir um risco cumulativo vital de desenvolvimento de certos tipos de câncer maior do que a população em geral. Para isso faz-se necessário caracterizar clínica e molecularmente esses indivíduos e essas famílias, bem como encaminhá-las para programas de prevenção como os chamados serviços de oncogenética para o devido aconselhamento¹².

FCCTX é uma síndrome de predisposição ao CCR hereditário caracterizada principalmente pelo desenvolvimento de adenocarcinomas moderadamente diferenciados localizados no reto e na região sigmoide. Assemelham-se às famílias com SL pelo acometimento de tumores colorretais em diferentes membros da família ao longo das gerações. No entanto, diferentemente da Síndrome de Lynch, os tumores em FCCTX são caracterizados por possuírem o sistema de *mismatch repair* funcional e, conseqüentemente não apresentam instabilidade de microssatélites (MSI). Importante de destacar que, embora média de idades ao diagnóstico nos pacientes classificados como FCCTX seja mais avançada do que o observado em Lynch, observa-se em FCCTX um maior percentual de óbitos do que em Lynch, explicado talvez pelo fato de não haver uma síndrome estabelecida para enquadrar esses pacientes ou uma metodologia de rastreamento, de decisão clínica ou de aconselhamento bem estabelecidos para os mesmos^{35,36,40}.

No presente estudo propusemos caracterizar clínica e molecularmente pacientes e famílias com critérios sugestivos de FCCTX. E, para tal, utilizamos o sequenciamento completo do exoma (WES). Além disso, no intuito de classificar as variantes obtidas e identificar as variantes que possam estar relacionadas ao desenvolvimento dos tumores em FCCTX, fizemos uso dos critérios propostos à *American College of Medical Genetics and Genomics* no artigo publicado por Sue Richards e colaboradores⁵⁵.

Por ser uma síndrome ainda não bem caracterizada molecularmente, acreditamos que a melhor abordagem para o presente estudo seria uma abordagem ampla, que nos permitisse avaliar um grande número de genes, dado não existirem genes candidatos claramente definidos. Abordagem similar foi empregada com êxito em trabalhos desenvolvidos por Rohlin e colaboradores identificaram genes de predisposição ao CCR por meio

de exoma⁵¹, Fewings e colaboradores para gástrico⁵², Torrezan e colaboradores para mama⁵³ e Shulz⁴³, Martin-Morales⁴⁵, Seguí⁴⁷ e seus colaboradores para FCCTX.

Um sequenciamento completo do exoma pode gerar centenas de milhares de variantes em um único paciente. A tarefa de descobrir aquela responsável por desencadear a doença em meio à todo esse dado requer grande poder de processamento computacional e armazenamento, tecnologia de transmissão de dados e diversas análises bioinformáticas. Para tal, elaboramos um fluxo de análises com a finalidade de refinar os dados e determinar aquelas que realmente pudessem estar associadas, ainda que minimamente, com a carcinogênese. Para reduzir a chance de artefatos do sequenciamento serem passados para as análises posteriores, as variantes precisavam satisfazer um limiar de fração do alelo variante e de cobertura. A fim de buscarmos genes candidatos, fez-se um levantamento daqueles que estivessem relacionados com o câncer ou com o processo de carcinogênese e só foram analisadas as variantes contidas neles.

Fundamentados no critério de frequência populacional preconizado pela ACMG, somente as variantes raras, aquelas com menos de 1% de frequência na população seguiram para as análises posteriores, visto que, não seria esperado que uma variante patogênica responsável pelo desenvolvimento de uma síndrome rara ocorresse frequentemente na população saudável. A frequência populacional foi analisada por meio dos bancos de dados AbraOM e gnomAD. Dessas variantes raras, aquelas que já apresentavam alguma evidência de patogenicidade segundo o analisador automatizado dos critérios da ACMG InterVar ou segundo o banco de dados doença específico ClinVar e aquelas variantes raras que agregavam alterações mais severas (*frameshifts* e *nonsenses*) foram criteriosamente avaliadas tendo sempre em consideração os critérios de avaliação preconizados pela ACMG.

Das variantes raras que não tinham informações no ClinVar bem como classificadas como VUS segundo a classificação ACMG fornecida via InterVar fez-se uso das ferramentas de predição *in silico*, outro critério de classificação da ACMG (PP3). Para tal foram escolhidas três ferramentas: REVEL, M-CAP para as variantes *missenses* e HSF para as variantes em sítios de *splicing*. A escolha dessas ferramentas se deu por serem confeccionadas para atender as necessidades da demanda científica atual, por agruparem diversas metodologias classificatórias matemáticas, computacionais e bioquímicas em sua análise e pelo desempenho em classificar as variantes. Quanto ao EIGEN e o GenoCanyon, visto que as

ferramentas modernas baseadas no sistema de aprendizado supervisionado (Revel e M-CAP) não foram capazes de classificar algumas variantes, essas duas ferramentas, que trabalham sob o sistema não supervisionado, puderam fornecer algumas informações adicionais. Todos os limiares de patogenicidade seguiram as recomendações dos autores de cada ferramenta, favorecendo escores mais específicos do que sensíveis. Embora foi elaborada uma sistemática de análises para variantes homozigotas comuns (acima de 1%) em frequência em famílias consanguíneas, não houve detecção de nenhuma variante classe III, IV ou V nos genes contidos no painel virtual avaliado.

Selecionamos todos os indivíduos dessa pesquisa no departamento de Oncogenética do Hospital de Câncer de Barretos por meio de seu histórico pessoal e familiar de câncer baseando-se nos critérios clínicos de Amsterdã I (amostragem por conveniência), além de ao menos um dos indivíduos da família ou o próprio participante envolvido na pesquisa possuir *screening* negativo para Síndrome de Lynch (imunohistoquímica normal para as proteínas do sistema *mismatch repair* e estabilidade de microssatélites). Nesse sentido, conseguimos obter uma amostra composta por 38 pacientes provenientes de 33 famílias, dos quais a média de idade ao diagnóstico dos pacientes foi de aproximadamente 48 anos sendo 35 pacientes portadores de câncer colorretal e 3 portadoras de câncer de endométrio. Nesse estudo, os autores demonstraram que 90,9% dos tumores colorretais presentes nos indivíduos de famílias com critérios FCCTX avaliados eram do tipo adenocarcinoma e, destes 79,9% eram moderadamente diferenciados³⁶.

Dentre os tipos tumorais encontrados em todas as famílias do estudo, os mais frequentes após o colorretal, eram câncer de mama e gástrico o que também corrobora com a literatura para FCCTX conforme demonstrado por Therkildsen e colaboradores em estudo envolvendo 213 famílias em risco para FCCTX em que demonstram um risco aumento para cânceres no trato urinário, mama, estômago, pâncreas e tumores oculares³⁹.

Identificamos, no presente estudo, um total de 6 famílias com variantes provavelmente patogênicas, perfazendo um total de 18,18% das famílias incluídas no estudo. Apesar de os critérios clínicos serem importantes rastreadores das famílias em risco, aquelas que preenchiam critérios Amsterdã I menos 1 abrigaram mais variantes patogênicas (quatro famílias). Proporções similares de famílias com variantes patogênicas identificadas

foi reportada por outros estudos envolvendo sequenciamento exômico completo. Estudo de Fewings e colaboradores identificou 6 famílias com alto risco para câncer gástrico difuso hereditário mutadas dentre 22 avaliadas (27,27% da casuística)⁵². Trabalho de Torrezan e colaboradores identificou um total de 11,8% de famílias mutadas ao avaliar 16 famílias em risco para câncer de mama e ovário hereditários⁵³. A proporção de variantes identificadas nos estudos variam, mas não estão muito distantes umas das outras.

Dentre os genes nos quais identificamos variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas estão genes envolvidos com o reparo por excisão de bases, regulação do ciclo celular, endonucleases de reparo e reguladores de expressão.^{5,65,66} Alguns desses genes atuam nas vias *Hallmarks of Cancer* citadas anteriormente conforme descritos por Zhang e colaboradores⁸³.

Quanto ao gene *OGG1* no qual encontramos a duplicação c.30dupC (p.Arg10fs) o mesmo tem correlação com o desenvolvimento de câncer gástrico e câncer colorretal. Estudo feito por Kim e colaboradores demonstrou, em uma casuística de 19 pacientes com Síndrome de Lynch, 89 casos suspeitos de SL e 249 casos de CCR hereditário, alterações *missense* em alguns genes incluindo o *OGG1* e concluiu que o mesmo confere um risco baixa a moderado para CCR⁸⁴. Lai e colaboradores genotiparam 727 casos de CCR em um hospital de Taiwan e concluíram que polimorfismos (ainda que em homozigose) no *OGG1* estão associados com um risco de desenvolvimento de CCR aumentado⁸⁵. Estudos caso-controle realizados por Moreno⁸⁶, Kabzinski⁸⁷ Jin⁸⁸ e seus colaboradores genotiparam casos de CCR e concluíram que alguns polimorfismos (ainda que em homozigose) no *OGG1* conferem um risco de desenvolver câncer colorretal (sendo maior em idade jovem). Uma metanálise realizada por Zhange & Mo contendo 5.235 casos e 8.438 controles (incluindo modelos homozigotos) também concluem que polimorfismos no *OGG1* podem modificar o risco de desenvolvimento a CCR especialmente em caucasianos⁸⁹. Devido a presença de casos de câncer gástrico e os 14 familiares com “problemas estomacais” na família do estudo em que essa variante patogênica foi identificada, buscou-se por evidências de associação entre *OGG1* e câncer gástrico. Dois estudos caso-controle concluem que polimorfismos no *OGG1* aumentam o risco para câncer gástrico^{90,91} enquanto que uma metanálise (totalizando 1180 casos e 2444 controles) sugere que polimorfismos no *OGG1* podem estar associados ao desenvolvimento de câncer gástrico⁹². Levando em consideração que esses polimorfismos

são suficientes para conferir um risco, hipotetizamos que uma alteração do tipo *frameshift* detectada nesse estudo poderia desencadear um mau funcionamento do gene mais severo.

O gene *CHEK2*, no qual encontramos a variante *missense* c.470T>C (p.Ile157Thr) é um dos classificados como *Hallmark of Cancer*. O gene *CHEK2*, no qual encontramos a variante *missense* c.470T>C (p.Ile157Thr) é um dos classificados como *Hallmark of Cancer*. Esse gene foi inicialmente descrito como associado à síndrome de predisposição aos cânceres de mama e colorretal por Meijers-Heijboer e colaboradores em trabalho envolvendo 55 famílias em risco para esses tumores em que encontraram a deleção c.1100delC em 18% das famílias⁹³. Na família do nosso estudo ocorreram quatro casos de CCR e um de mama (aos 50 anos). Kilpivaara e colaboradores realizaram um *screening* dessa variante específica (c.470T>C) em 1042 pacientes finlandeses e concluíram que a mesma está presente significativamente em maior frequência em pacientes CRC do que na população comum. Os autores identificaram ainda uma associação da variante por meio de dados clínicos e de história familiar a um risco aumentado tanto de CRC hereditário e esporádico, quanto de outros tipos tumorais como próstata e mama⁹⁴. Suchy e colaboradores genotiparam 463 probandos em risco para SL: 145 eram positivas para variantes patogênicas em *MSH2*, *MLH1* e *MSH6* (todas *MSS*) e 117 eram famílias que preenchiem os critérios de Amsterdã mas *WT* para os genes do sistema MMR. Os autores identificaram a variante em 36 casos e concluíram que ela confere um risco aumentado de CCR para as famílias que tinham histórico familiar de câncer (HNPCC) e que não apresentavam variantes patogênicas nos genes de MMR⁹⁵. Kleibl e colaboradores realizaram um *screening* de variantes em 631 casos de CCR na população polonesa e encontraram essa variante em 30 casos (a mais frequente variante no gene) e concluíram que a variante confere um risco moderado de desenvolvimento de CCR, porém não puderam associar a variante ao câncer familiar⁹⁶. Uma meta análise realizada em 2012 por Liu e colaboradores totalizando 4.029 casos e 13.844 controles concluiu que a variante identificada em nosso estudo confere um risco aumentado para CCR tanto esporádico quanto familiar e, os autores ressaltam que ela possa permitir a classificação do gene *CHEK2* como um gene de predisposição ao CCR⁹⁷.

Em relação ao *FAN1*, identificamos a deleção *frameshift* c.356_357del (p.Arg119fs) no mesmo indivíduo portador da variante do gene *CHEK2*. Desai e Gerson ressaltam que o *FAN1* atua dando suporte ao sistema de *MMR*, cujo mau funcionamento já é bem estabelecido

para CCR hereditário⁹⁸. Segui e colaboradores, em trabalho realizado em 2015, realizaram o sequenciamento do exoma de 3 membros de uma família que preenchia os critérios de Amsterdã (todos MSS) bem como de 176 famílias com histórico de CCR e concluíram que o mau funcionamento da via de anemia de Fanconi (e do *FAN1*) pode estar associada à predisposição ao CCR⁴⁷. O que incrementa a possibilidade do real envolvimento do gene no desenvolvimento da síndrome em questão e na necessidade de mais estudos para tanto para o gene quanto para a variante a fim de avaliar o real impacto biológico do mau funcionamento dele.

Encontramos a variante *missense* c.758G>A (p.Arg253His) no gene *PRKN* e apesar de esse gene não ter uma função bem estabelecida ele tem sido relacionado a uma atividade supressora tumoral: Keuchi e colaboradores analisaram a atividade do gene *PRKN* e concluíram que a expressão do gene ocorre em resposta a fatores de crescimento e que o mesmo atua como um regulador negativo do ciclo celular em linhagens tumorais para CCR⁹⁹. No que se refere à uma possível associação entre variantes no gene *PRKN* e o CCR, Bhat e colaboradores genotiparam duas variantes nesse gene em 200 casos de CCR e 200 controles e analisaram o *status* de metilação no tumor concluindo que a metilação do promotor foi maior em estágios III e IV do tumor e que as variantes analisadas conferem um risco de desenvolvimento de CCR¹⁰⁰. Pologiannis e colaboradores analisaram 100 casos de CCR por *array comparative genomic hybridization* (aCGH) e, desses casos, 33% apresentaram perda no número de cópias envolvendo o *PRKN*. Os autores observaram ainda que o mau funcionamento deste gene incrementa a carcinogênese do CCR em adenomas mutantes em *APC*¹⁰¹.

Outra variante possivelmente patogênica identificada na mesma família em que a variante no gene *PRKN* foi detectada, está presente no gene *SLX4*. Trata-se de uma variante do tipo *frameshift* que leva à produção de uma proteína truncada e não funcional. Lee e colaboradores analisaram regiões repetidas do gene *SLX4* sequenciando 124 casos de CCR (79 *MSI-H* e 45 *MSS*) e detectaram uma variante *frameshift* (somática) no *SLX4* em dois pacientes *MSI-H*. Os autores concluem que essa alteração pode estar relacionada à carcinogênese, dado que variante *frameshift* pode estar inibindo a atividade supressora tumoral do gene¹⁰². Além do CCR o *SLX4* foi relacionado a câncer de mama hereditário por Shah e colaboradores em trabalho publicado em 2013. Os autores analisaram a região

codificante do gene em 728 pacientes em cujas famílias houvessem casos de câncer de mama negativos para *BRCA1* e 2 e concluíram, por meio de ensaios funcionais, que algumas variantes onde ocorria a perda de função poderiam estar contribuindo para o desenvolvimento do câncer de mama em alguns casos raros¹⁰³. Importante destacar que na família do nosso estudo em que essa variante foi identificada ocorreram dois casos de colorretal e um caso de mama.

O gene *TREX1*, também classificado como *Hallmark of Cancer*, apresentou a variante *missense* c.506G>A (p.Arg169His) no indivíduo de uma família com mais dois casos de CCR, um caso de câncer em sistema nervoso central aos e um caso de câncer gástrico. Estudos relacionando *TREX1* e câncer são praticamente inexistentes e não foram encontrados estudo relacionando *TREX1* à câncer hereditário. Dois estudos Dong e colaboradores genotiparam 102 polimorfismos de 13 genes relacionados ao reparo de maus pareamentos de 706 pacientes com adenocarcinoma pancreático e concluíram que o *TREX1* pode servir como um marcador prognóstico pois houve significância entre algumas variantes de *TREX1* e a sobrevida, mostrando que o gene pode ter um papel na carcinogênese^{104,105}.

Detectamos a variante *nonsense* c.3043C>T (p.Arg1015Ter) no gene *ATR*, também descrito como *Hallmark of Cancer*, pertencente à via de reparo da Anemia de Fanconi, em um paciente com diagnóstico de CCR moderadamente diferenciado (estadiamento tumoral T3N1M0) aos 35 cujo pai também foi diagnosticado com CCR. Como mencionado para a variante do *FAN1*⁴⁷, o mau funcionamento da via de Fanconi pode estar associada à uma predisposição ao CCR. Em uma revisão de Awasthi e colaboradores publicada em 2016, os autores apresentam trabalhos que demonstram que tanto o gene *ATR* quanto o *ATM* atuam com atividade supressora tumoral, bloqueando o ciclo celular ou ativando apoptose, e que o mau funcionamento dos mesmos promove sobrevivência celular, possivelmente resultando em uma célula cancerosa¹⁰⁶. Tanaka e colaboradores relacionaram variantes germinativas patogênicas no gene *ATR* à câncer de orofaringe (evidenciado por perda de heterozigose, o que é considerado um fenômeno tipicamente associado à genes supressores tumorais, representando a perda de heterozigosidade). Os autores também concluem que a perda da heterozigosidade somada aos dados clinicopatológicos dos pacientes com as variantes, indicam uma provável síndrome maligna relacionada ao *ATR*¹⁰⁷. Lewis e colaboradores avaliaram 48 tumores e a presença de alterações nas vias relacionadas ao *ATR* em tumores

MSI-H, sugerindo que possa haver uma relação do gene com o comportamento e a resposta a tratamento¹⁰⁸. Dois estudos de Zigelboim e colaboradores analisaram o éxon 10 do gene *ATR* e associaram algumas variantes à agressividade do tumor e que as mesmas ocorreram em tumores com deficiência de *MMR*^{109,110}.

No gene *ASXL1* identificamos a inserção *frameshift* c.1927dupG (p.Gly642fs). A associação deste gene com o desenvolvimento de leucemias é bem estabelecida, assim como sua associação com a síndrome de Bohring-Opitz, a qual se caracteriza por conferir risco de desenvolver tumor de Wilm¹¹¹. Gelsi-Boyer e colaboradores analisaram, por aCGH, 40 amostras de leucemia mieloide aguda que apontaram alguns genes candidatos incluindo o *ASXL1*. Ao sequenciar o gene e analisar as mutações presentes nele, os autores concluíram que o *ASXL1* pode exercer uma atividade supressora tumoral nas leucemias e mielodisplasias¹¹². Chou e colaboradores também analisaram mutações no éxon 12 do gene em 501 indivíduos portadores de leucemia em que detectaram mutações em 54 deles¹¹³. Porém esses tumores não ocorreram nessa família o que torna necessária realização de um estudo de perda de heterozigidade, para assim surgir uma nova associação caso fique evidenciado.

Cabe ainda ressaltar sobre as interações dos genes candidatos ou de suas proteínas pois estão relacionadas à carcinogênese: o gene *OGG1* e *CHEK2* interagem com o *MSH2*, este por sua vez é da via de MMR e clássico de SL. O gene *FAN1* também tem em sua rede de interações os genes *MLH1*, *MLH3*, *PMS2* e *PMS1*, pertencentes à via de MMR e classicamente associados à SL. O *PRKN*, como constatado possui uma atividade supressora tumoral e interage com o *TP53* e com o proto-oncogene *ABL1*. O *SLX4* é uma subunidade de endonuclease de reparo que interage com genes da junção de extremidades não homóloga, recombinação homóloga (destacando-se o *BRCA1*), anemia de Fanconi, excisão de nucleotídeos e vias não específicas. O *TREX1* é uma endonuclease que possui uma atividade semelhante à do MMR pois também atua em maus pareamentos e interage com o *EXO1*, importante exonuclease do MMR. O *ATR* que atua nos ativando *checkpoints* para o reparo da via de Anemia de Fanconi também se relaciona com alguns genes de importância em câncer como *BRCA1*, *ATM* e *CHEK2*. E o *ASXL1* que atua na regulação gênica interage com fatores de transcrição e genes do ciclo celular.

Em nosso estudo identificamos variantes nos genes *MLH1* e *MSH6*, componentes do sistema MMR de reparo e associados ao desenvolvimento da Síndrome de Lynch. No entanto, dados da literatura, ensaios funcionais e análises *in silico* não forneceram evidências suficientes para a classificação dessas variantes como possivelmente patogênicas. Além disso, os tumores dos pacientes com essas variantes apresentaram resultado normal na análise imunohistoquímica para as proteínas MLH1/MSH2/MSH6/PMS2, fornecendo evidências adicionais da não patogenicidade das variantes identificadas nesses genes em nosso estudo.

Identificamos uma variante candidata em somente um dos genes já associados ao desenvolvimento de FCCTX (*FAN1*). No entanto, cabe destacar que, embora não tenhamos analisado a totalidade dos genes contido no exoma, o painel virtual foi bastante amplo e os critérios de análise foram bastante rigorosos, além de termos obtido excelente cobertura e qualidade do dado de sequenciamento gerado, nos levando a hipotetizar que efetivamente os genes até o presente momento descritos como associados à FCCTX não se constituem na totalidade dos fatores causais da síndrome, ao menos não no que se refere ao grupo amostral avaliado no presente estudo.

Apesar de o painel gênico virtual utilizado no estudo conter até mesmo genes cuja função esteja minimamente relacionada à carcinogênese, o mesmo tornou o estudo mais específico, porém, ao mesmo tempo, menos sensível, visto que não se pode descartar a possibilidade de variantes patogênicas acontecerem em genes ainda não relacionados à câncer. Também existe a possibilidade de alguma variante ocorrer fora do alcance do exoma como em regiões intrônicas, regiões não traduzíveis (UTRs) ou até mesmo que o tumor possa ter se desenvolvido em decorrência de uma outra causa como metilações e mutações esporádicas. De maneira adicional, o presente estudo não avaliou a presença de CNVs que pudessem estar presentes nos pacientes avaliados e, dessa maneira causar um desequilíbrio no número de cópias de genes essenciais ao desenvolvimento.

Outra limitação do trabalho é que, mesmo utilizando tecnologias recentes de processamento de dados, ferramentas de análise *in silico* modernas e pesquisando cada uma das variantes em diversos bancos de dados curados, um grande número das variantes identificadas não pode ser classificada quanto ao seu impacto biológico, permanecendo como

variante de significado desconhecido, devido à ausência de informação e conhecimento científico do momento.

Cabe por fim destacar que, apesar das limitações inerentes ao estudo envolvendo sequenciamento exômico total tanto no que se refere à técnica em si, à análise dos dados gerados ou à nossa falta de conhecimento sobre muitos dos genes nos quais identificamos variantes, o presente estudo representa um avanço considerável no nosso conhecimento acerca da FCCTX . Os alvos moleculares identificados podem, possivelmente, ser genes de predisposição causais ou associados ao desenvolvimento do câncer colorretal do tipo FCCTX. Porém, é fundamental que estudos de segregação, funcionais, assim como análises moleculares adicionais (exemplo perda de heterozigosidade no tumor) sejam feitos para complementar os achados do presente estudo, de forma a avaliar se as variantes identificadas possuem real impacto biológico, bem como para acessar a associação dessas variantes com os fenótipos presentes nas famílias avaliadas.

8) Conclusão

Pelo presente estudo conclui-se:

- Foram identificadas, através da utilização de uma ampla e rigorosa estratégia de análise de dados, variantes potencialmente patogênicas em 18,18% dos pacientes com história pessoal e/ou familiar sugestivas de FCCTX incluídos no estudo;
- A utilização dos critérios de classificação de variantes preconizados pela ACMG levou à identificação de 8 variantes potencialmente patogênicas em seis participantes do estudo não aparentados. Dessas 8 variantes, três foram consideradas como patogênicas (Classe V – ACMG) e estavam localizadas nos genes *TREX1*, *ATR* e *ASLX1*. Ainda, variantes nos genes *OGG1*, *PRKN*, *FAN1*, *CHEK2* e *SLX4* foram identificadas em três probandos e classificadas como provavelmente patogênicas (classe IV);
- As variantes candidatas foram encontradas em quatro famílias Amsterdã I – 1 e em duas famílias Amsterdã I portando além de CCR, cânceres de mama, gástrico, tumor basocelular, câncer de pulmão e câncer no nariz. Os indivíduos foram diagnosticados com adenocarcinomas sendo majoritariamente (sete) do tipo moderadamente diferenciado e um tumor pouco diferenciado. Os tumores dos casos índice mutados estavam localizados no reto (4/6), no cólon direito (1/6) e cólon esquerdo (1/6), sendo a média de idade ao diagnóstico de 48,5 anos variando de 34 a 77 anos.

9) Referências Bibliográficas

- 1) Organização Mundial da Saúde. *Cancer*. Disponível em: <https://www.who.int/topics/cancer/en/>
- 2) Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020 Incidência de Câncer no Brasil. INCA; 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa>
- 3) Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin**. 2018;68(6):394-424;
- 4) Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**. 2011;144(5):646-674.;
- 5) Genetics Home Reference, Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (NIH), disponível em: <https://www.nlm.nih.gov>, acessado em 2020;
- 6) Bailey MH, Tokheim C, Porta-Pardo E, Sengupta, Bertrand D, Weerasinghe A, *et al*. Comprehensive Characterization of Cancer Driver Genes and Mutations [published correction appears in *Cell*. 2018 Aug 9;174(4):1034-1035]. **Cell**. 2018;173(2):371-385.e18;
- 7) Vasen HF, Abdirahman M, Brohet R, Langers AM, Kleibeuker JH, van Kouwen M, *et al*. One to 2-year surveillance intervals reduce risk of colorectal cancer in families with Lynch syndrome. **Gastroenterology**. 2010;138(7):2300-6.
- 8) Jarvinen HJ, Aarnio M, Mustonen H, Aktan-Collan K, Aaltonen LA, Peltomaki P, *et al*. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. **Gastroenterology**. 2000;118(5):829-34.
- 9) Jarvinen HJ, Renkonen-Sinisalo L, Aktan-Collan K, Peltomaki P, Aaltonen LA, Mecklin JP. Ten years after mutation testing for Lynch syndrome: cancer incidence and outcome in mutation-positive and mutation-negative family members. **J Clin Oncol**. 2009;27(28):4793-7.
- 10) de Vos tot Nederveen Cappel WH, Nagengast FM, Griffioen G, Menko FH, Taal BG, Kleibeuker JH, *et al*. Surveillance for hereditary nonpolyposis colorectal cancer: a long-term study on 114 families. **Dis Colon Rectum**. 2002;45(12):1588-94.
- 11) de Vos tot Nederveen Cappel WH, Järvinen HJ, Lynch PM, Engel C, Mecklin JP, Vasen HF. Colorectal surveillance in Lynch syndrome families. **Fam Cancer**. 2013;12(2):261-265.

- 12) Palmero EI, Galvão HCR, Fernandes GC, Paula AE, Oliveira JC, Souza CP, *et al.* Oncogenetics service and the Brazilian public health system: the experience of a reference Cancer Hospital. **Genet Mol Biol.** 2016;39(2):168-177.
- 13) Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, *et al.* Colorectal cancer. **Nat Rev Dis Primers.** 2015;1:15065;
- 14) McCartan DP, Chatterjee S, Hereditary and familial cancer. **Surgery.** 2018;36(3):145-150.
- 15) Lynch HT, Shaw TG. Practical genetics of colorectal cancer. **Chin Clin Oncol.** 2013;2(2):12.
- 16) Huang KL, Mashl RJ, Wu Y, Ritter DI, Wang J, Oh C, *et al.* Pathogenic Germline Variants in 10,389 Adult Cancers. **Cell.** 2018;173(2):355-370.e14.
- 17) Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. **Prz Gastroenterol.** 2019;14(2):89-103.
- 18) Amersi F, Agustin M, Ko CY. Colorectal cancer: epidemiology, risk factors, and health services. **Clin Cólón Rectal Surg.** 2005;18(3):133-140.
- 19) Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. **Gut.** 2017;66:683-691.
- 20) Gonzalez R. World Health Organization (WHO) classification of colorectal carcinoma. PathologyOutlines.com website. <https://www.pathologyoutlines.com/topic/cólontumorwhoclassification.html>. Accessed February 18th, 2020.
- 21) Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. **J Gastrointest Oncol.** 2012;3(3):153–173. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2012.030
- 22) Genetic counseling. **Am J Hum Genet.** 1975;27(2):240-242.
- 23) Wells K, Wise PE. Hereditary Colorectal Cancer Syndromes. **Surg Clin North Am.** 2017;97(3):605-625.
- 24) Marinus MG. DNA Mismatch Repair. **EcoSal Plus.** 2012;5(1).
- 25) Ashktorab H, Ahuja S, Kannan L, Llor X, Ellis NA, Xicola RM, *et al.* A meta-analysis of MSI frequency and race in colorectal cancer. **Oncotarget.** 2016; 7: 34546-34557.
- 26) Chang L, Chang M, Chang HM, Chang F. Microsatellite Instability: A Predictive Biomarker for Cancer Immunotherapy. **Appl Immunohistochem Mol Morphol.** 2018;26(2):e15-e21.
- 27) Chintalacheruvu LM, Shaw T, Buddam A, Diab O, Kassim T, Mukherjee S, *et al.* Major hereditary gastrointestinal cancer syndromes: a narrative review. **J Gastrointestin Liver Dis.** 2017;26(2):157-163.

- 28) Menahem B, Alves A, Regimbeau JM, Sabbagh C. Lynch Syndrome: Current management In 2019. *J Visc Surg*. 2019;156(6):507-514.
- 29) Rodriguez-Soler M, Perez-Carbonell L, Guarinos C, Zapater P, Castillejo A, Barbera VM, et al. Risk of cancer in cases of suspected lynch syndrome without germline mutation. *Gastroenterology*. 2013;144(5):926-32.e1; quiz e13-4.
- 30) Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum*. 1991;34(5):424-5
- 31) Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology*. 1999;116(6):1453-6.
- 32) Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998;58(22):5248-57.
- 33) Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Ruschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(4):261-8.
- 34) Rossi BM. Síndrome de Lynch. Em: Rede nacional de câncer familiar: manual operacional. Instituto Nacional de Câncer – Rio de Janeiro: INCA, 2009.
- 35) Sánchez-Tomé E, Rivera B, Perea J, Pita G, Rueda D, Mercadillo F, et al. Genome-wide linkage analysis and tumoral characterization reveal heterogeneity in familial colorectal cancer type X. *J Gastroenterol*. 2015;50(6):657-666.
- 36) Choi YH, Lakhali-Chaieb L, Kröl A, Yu B, Buchanan D, Ahnen D, et al. Risks of Colorectal Cancer and Cancer-Related Mortality in Familial Colorectal Cancer Type X and Lynch Syndrome Families. *J Natl Cancer Inst*. 2019;111(7):675-683.
- 37) Shiovitz S, Copeland WK, Passarelli MN, Burnett-Hartman AN, Grady WM, Potter JD, et al. Characterisation of familial colorectal cancer Type X, Lynch syndrome, and non-familial colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2014;111(3):598-602.
- 38) Lindor NM, Rabe K, Petersen GM, Haile R, Casey G, Baron J, et al. Lower cancer incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X. *JAMA*. 2005;293(16):1979-85.

- 39) Therkildsen C, Rasmussen M, Smith-Hansen L, Kallemose T, Lindberg LJ, Nilbert M. Broadening risk profile in familial colorectal cancer type X; increased risk for five cancer types in the national Danish cohort. *BMC Cancer*. 2020;20(1):345.
- 40) Hatfield E, Green JS, Woods MO, Warden G, Parfrey PS. Impact of colonoscopic screening in Familial Colorectal Cancer Type X. Impact of colonoscopic screening in Familial Colorectal Cancer Type X. *Mol Genet Genomic Med*. 2018;6(6):1021-1030.
- 41) Nieminen TT, Abdel-Rahman WM, Ristimaki A, Lappalainen M, Lahermo P, Mecklin JP, et al. BMPR1A mutations in hereditary nonpolyposis colorectal cancer without mismatch repair deficiency. *Gastroenterology*. 2011;141(1):e23-6.
- 42) Nieminen TT, O'Donohue MF, Wu Y, Lohi H, Scherer SW, Paterson AD, et al. Germline mutation of RPS20, encoding a ribosomal protein, causes predisposition to hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma without DNA mismatch repair deficiency. *Gastroenterology*. 2014;147(3):595-8 e5.
- 43) Schulz E, Klampfl P, Holzapfel S, Janecke AR, Ulz P, Renner W, et al. Germline variants in the SEMA4A gene predispose to familial colorectal cancer type X. *Nat Commun*. 2014;5:5191.
- 44) Evans DR, Green JS, Woods MO. Screening of BMPR1a for pathogenic mutations in familial colorectal cancer type X families from Newfoundland. *Fam Cancer*. 2018;17(2):205-208.
- 45) Martín-Morales L, Feldman M, Vershinin Z, Garre P, Caldés T, Levy D. SETD6 dominant negative mutation in familial colorectal cancer type X. *Hum Mol Genet*. 2017;26(22):4481-4493.
- 46) Garre P, Martín L, Sanz J, Romero A, Tosar A, Bando I, et al. BRCA2 gene: a candidate for clinical testing in familial colorectal cancer type X. *Clin Genet*. 2015;87(6):582-587..
- 47) Seguí N, Mina LB, Lázaro C, et al. Germline Mutations in FAN1 Cause Hereditary Colorectal Cancer by Impairing DNA Repair. *Gastroenterology*. 2015;149(3):563-566.
- 48) Dominguez-Valentin M, Therkildsen C, Da Silva S, Nilbert M. Familial colorectal cancer type X: genetic profiles and phenotypic features. *Mod Pathol*. 2015;28(1):30-36.
- 49) Nejadtaghi M, Jafari H, Farrokhi E, Samani KG. Familial Colorectal Cancer Type X (FCCTX) and the correlation with various genes-A systematic review. *Curr Probl Cancer*. 2017;41(6):388-397.
- 50) den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, Roux AF, Smith T, Antonarakis SE, Taschner PE. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat*. 2016 Jun;37(6):564-9.

- 51) Rohlin A, Eiengård F, Lundstam U, Zagoras T, Nilsson S, Edsjö A, et al. GREM1 and POLE variants in hereditary colorectal cancer syndromes. *Genes Chromosomes Cancer*. 2016;55(1):95-106.
- 52) Fewings E, Larionov A, Redman J, Goldgragen MA, Scarth J, Richardson S, et al. Germline pathogenic variants in PALB2 and other cancer-predisposing genes in families with hereditary diffuse gastric cancer without CDH1 mutation: a whole-exome sequencing study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3(7):489-498.
- 53) Torrezan GT, de Almeida FGDSR, Figueiredo MCP, Barros BDF, Paula CAA, Valieris R, et al. Complex Landscape of Germline Variants in Brazilian Patients With Hereditary and Early Onset Breast Cancer. *Front Genet*. 2018;9:161.
- 54) Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020;581(7809):434-443.
- 55) Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, 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 May; 17(5):405-24.
- 56) Wingett SW, Andrews S. FastQ Screen: A tool for multi-genome mapping and quality control. *F1000Res*. 2018;7:1338.
- 57) Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal*. 2011;17(1):10-12.
- 58) Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics*. 2009;25:1754-60.
- 59) "Picard Toolkit." 2018. Broad Institute, GitHub Repository. <http://broadinstitute.github.io/picard/>; Broad Institute.
- 60) DePristo M, Banks E, Poplin R, Garimella K, Maguire J, Hartl C et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nat Genet*. 2011;43:491-8.
- 61) Van der Auwera GA, Carneiro M, Hartl C, Poplin R, del Angel G, Levy-Moonshine A, et al. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2013;43(1110):11.10.1-11.10.33.

- 62) Tate JG, Bamford S, Jubb HC, Sondka Z, Beare DM, Bindal N, et al. COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D941-D947.
- 63) UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D506-D515.
- 64) Plesterscher-Frankild S, Pallegà A, Tsafoou K, Binder JX, Jensen LJ. DISEASES: test mining and data integration of disease-gene association. *Methods.* 2015; (74) 83-9.
- 65) Das R, Ghosh SK. Genetic variants of the DNA repair genes from Exome Aggregation Consortium (EXAC) database: significance in cancer. *DNA Repair (Amst).* 2017;52:92-102.
- 66) Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, Zimmerman S, Twik M, Fishilevich S, et al. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2016;54:1.30.1-1.30.33.
- 67) Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: Functional annotation of genetic variants from next-generation sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2010;38:e164.
- 68) Naslavsky MS, Yamamoto GL, de Almeida TF, Ezquina SAM, Sunaga DY, Pho N, et al. Exomic variants of an elderly cohort of Brazilians in the ABraOM database. *Hum Mutat.* 2017;38(7):751-63.
- 69) Li Q, Wang K. InterVar: Clinical Interpretation of Genetic Variants by the 2015 ACMG-AMP Guidelines. *Am J Hum Genet.* 2017;100(2):267-280.
- 70) Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal.* 2013;6(269):pl1.
- 71) Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross EB, Sumer SO, Aksoy BU, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data [published correction appears in Cancer Discov. 2012 Oct;2(10):960]. *Cancer Discov.* 2012;2(5):401-404.
- 72) MacArthur JA, Morales J, Tully RE, Astashyn A, Gil L, Bruford EA, et al. Locus Reference Genomic: reference sequences for the reporting of clinically relevant sequence variants. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(Database issue):D873-D878.
- 73) Robinson JT, Thorvaldsdóttir H, Wenger AM, Zehir A, Mesirov JP. Variant Review with the Integrative Genomics Viewer. *Cancer Res.* 2017;77(21):e31-e34.
- 74) Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown G, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D862-D868.

- 75) Ioannidis NM, Rothstein JH, Pejaver V, Middha S, McDonnell SK, Baheti S et al. REVEL: An Ensemble Method for Predicting the Pathogenicity of Rare Missense Variants. *Am J Hum Genet.* 2016;99(4):877-85.
- 76) Jagadeesh KA, Wenger AM, Berger MJ, Guturu H, Stenson PD, Cooper DN, et al. M-CAP eliminates a majority of variants of uncertain significance in clinical exomes at high sensitivity. *Nat Genet.* 2016;48(12):1581-86.
- 77) Li J, Zhao T, Zhang Y, Zhang K, Shi L, Chen Y, et al. Performance evaluation of pathogenicity-computation methods for missense variants. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(15):7793-7804.
- 78) Desmet FO, Hamroun D, Lalande M, Collod-Bérout G, Claustres M, Bérout C. Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(9):e67.
- 79) Ionita-Laza I, McCallum K, Xu B, Buxbaum JD. A spectral approach integrating functional genomic annotations for coding and noncoding variants. *Nat Genet.* 2016;48(2):214-220.
- 80) Lu Q, Hu Y, Sun J, Cheng Y, Cheung KH, Zhao H. A statistical framework to predict functional non-coding regions in the human genome through integrated analysis of annotation data. *Sci Rep.* 2015;5:10576.
- 81) Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)--a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform.* 2009;42(2):377-381.
- 82) Chakravarty D, Gao J, Phillips SM, Kundra R, Zhang H, Want J, et al. OncoKB: A Precision Oncology Knowledge Base. *JCO Precis Oncol.* 2017;2017:10.1200/PO.17.00011.
- 83) Zhang D, Huo D, Xie H, Wu L, Zhang J, Liu L, et al. CHG: A Systematically Integrated Database of Cancer Hallmark Genes. *Front Genet.* 2020;11:29.
- 84) Kim IJ, Ku JL, Kang HC, Park JH, Yoon KA, Shin Y, et al. Mutational analysis of OGG1, MYH, MTH1 in FAP, HNPCC and sporadic colorectal cancer patients: R154H OGG1 polymorphism is associated with sporadic colorectal cancer patients. *Hum Genet.* 2004;115(6):498-503.
- 85) Lai CY, Hsieh LL, Tang R, Santella RM, Chang-Chieh CR, Yeh CC. Association between polymorphisms of APE1 and OGG1 and risk of colorectal cancer in Taiwan. *World J Gastroenterol.* 2016;22(12):3372-3380.
- 86) Moreno V, Gemignani F, Landi S, Gioia-Patricola L, Chabrier A, Blanco I. et al. Polymorphisms in genes of nucleotide and base excision repair: risk and prognosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2006;12(7 Pt 1):2101-2108.

- 87) Kabzinski J, Walczak A, Dziki A, Mik M, Majsterek I. Impact of the Ser326Cys polymorphism of the OGG1 gene on the level of oxidative DNA damage in patients with colorectal cancer. *Pol Przegl Chir.* 2018;90(2):13-15.
- 88) Jin D, Zhang M, Hua H. Impact of polymorphisms in DNA repair genes XPD, hOGG1 and XRCC4 on colorectal cancer risk in a Chinese Han Population. *Biosci Rep.* 2019;39(1):BSR20181074.
- 89) Zhang M, Mo R. Association of hOGG1 Ser326Cys polymorphism with colorectal cancer risk: an updated meta-analysis including 5235 cases and 8438 controls. *Tumour Biol.* 2014;35(12):12627-12633.
- 90) Canbay E, Agachan B, Gulluoglu M, Isbir T, Balik E, Yamaner S, et al. Possible associations of APE1 polymorphism with susceptibility and HOGG1 polymorphism with prognosis in gastric cancer. *Anticancer Res.* 2010;30(4):1359-1364.
- 91) Lu J, Yin Y, Du M, Ma G, Ge Y, Zhang Q, et al. The association analysis of hOGG1 genetic variants and gastric cancer risk in a Chinese population. *Oncotarget.* 2016;7(40):66061-66068.
- 92) Ni M, Qiu J, He W, Wang X. The functional Ser326Cys polymorphism in hOGG1 is associated with gastric cancer risk: evidence from 1180 cases and 2444 controls. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2012;24(6):683-687.
- 93) Meijers-Heijboer H, Wijnen J, Vasen H, Wasielewski M, Wagner A, Hollestelle A, et al. The CHEK2 1100delC mutation identifies families with a hereditary breast and colorectal cancer phenotype. *Am J Hum Genet.* 2003;72(5):1308-1314.
- 94) Kilpivaara O, Alhopuro P, Vahteristo P, Aaltonen LA, Nevanlinna H. CHEK2 I157T associates with familial and sporadic colorectal cancer. *J Med Genet.* 2006;43(7):e34.
- 95) Suchy J, Cybulski C, Wokołorczyk D, et al. CHEK2 mutations and HNPCC-related colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2010;126(12):3005-3009.
- 96) Kleibl Z, Havranek O, Hlavata I, et al. The CHEK2 gene I157T mutation and other alterations in its proximity increase the risk of sporadic colorectal cancer in the Czech population. *Eur J Cancer.* 2009;45(4):618-624.
- 97) Liu C, Wang QS, Wang YJ. The CHEK2 I157T variant and colorectal cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(5):2051-2055.
- 98) Desai A, Gerson S. Exo1 independent DNA mismatch repair involves multiple compensatory nucleases. *DNA Repair (Amst).* 2014;21:55-64.

- 99) Ikeuchi K, Marusawa H, Fujiwara M, Matsumoto Y, Endo Y, Watanabe T, et al. Attenuation of proteolysis-mediated cyclin E regulation by alternatively spliced Parkin in human colorectal cancers [published correction appears in *Int J Cancer*. 2016 Jan 1;138(1):E3]. *Int J Cancer*. 2009;125(9):2029-2035.
- 100) Bhat ZI, Kumar B, Bansal S, Naseem A, Tiwari RR, et al. Association of PARK2 promoter polymorphisms and methylation with colorectal cancer in North Indian population. *Gene*. 2019;682:25-32.
- 101) Poulogiannis G, McIntyre RE, Dimitriadi M, Apps JR, Wilson CH, Ichimura K, et al. PARK2 deletions occur frequently in sporadic colorectal cancer and accelerate adenoma development in Apc mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(34):15145-15150.
- 102) Lee JH, An CH, Kim MS, Yoo NJ, Lee SH. Rare frameshift mutations of putative tumor suppressor genes CSMD1 and SLX4 in colorectal cancers. *Pathol Res Pract*. 2018;214(2):325-326.
- 103) Shah S, Kim Y, Ostrovnaya I, Murali R, Schrader KA, Lach FP, et al. Assessment of SLX4 Mutations in Hereditary Breast Cancers. *PLoS One*. 2013;8(6):e66961.
- 104) Dong X, Li Y, Hess KR, Abbruzzese JL, Li D. DNA mismatch repair gene polymorphisms affect survival in pancreatic cancer. *Oncologist*. 2011;16(1):61-70.
- 105) Dong X, Jiao L, Li Y, et al. Significant associations of mismatch repair gene polymorphisms with clinical outcome of pancreatic cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(10):1592-1599.
- 106) Awasthi P, Foiani M, Kumar A. ATM and ATR signaling at a glance. *J Cell Sci*. 2016;129(6):1285.
- 107) Tanaka A, Weinel S, Nagy N, O'Driscoll M, Lai-Cheong JE, Kilp-Shorten CL, et al. Germline mutation in ATR in autosomal- dominant oropharyngeal cancer syndrome. *Am J Hum Genet*. 2012;90(3):511-517.
- 108) Lewis KA, Bakkum-Gamez J, Loewen R, French AJ, Thibodeau SN, Cliby WA. Mutations in the ataxia telangiectasia and rad3-related-checkpoint kinase 1 DNA damage response axis in colon cancers. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007;46(12):1061-1068.
- 109) Zigelboim I, Schmidt AP, Gao F, Thaker PH, Powell MA, Rader JS, et al. ATR mutation in endometrioid endometrial cancer is associated with poor clinical outcomes [published correction appears in *J Clin Oncol*. 2009 Oct 1;27(28):4819]. *J Clin Oncol*. 2009;27(19):3091-3096.

- 110) Zigelboim I, Ali S, Lankes HA, Backes F, Morre K, Mutch D et al. Assessing the prognostic role of ATR mutation in endometrioid endometrial cancer: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2015;138(3):614-619.
- 111) Russell B, Johnston JJ, Biesecker LG, Kramer N, Pickart A, Rhead W, et al. Clinical management of patients with ASXL1 mutations and Bohring-Opitz syndrome, emphasizing the need for Wilms tumor surveillance. *Am J Med Genet A*. 2015;167A(9):2122-2131.
- 112) Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adélaïde J, Bonansea J, Cervera N, Carbuccia N, et al. Mutations of polycomb-associated gene ASXL1 in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2009;145(6):788-800.
- 113) Chou WC, Huang HH, Hou HA, Chen CY, Tang JL, Yao M, et al. Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (ASXL1) mutations. *Blood*. 2010;116(20):4086-4094.

Anexo A: Lista de genes e grupos

Genes ¹	Hereditário ²	Reparo ³
14335	*	*
2AAB	*	*
A1BG	*	*
A1CF	*	*
AAPK1	*	*
ABCB1	*	*
ABCG2	*	*
ABI1	*	*
ABI2	*	*
ABL1	*	✓
ABL2	*	*
ABLM3	*	*
ABRX1	*	*
ABTB1	*	*
ACACA	*	*
ACBD4	*	*
ACK1	*	*
ACKR3	*	*
ACL6A	*	*
ACPH	*	*
ACSB2B	*	*
ACSL3	*	*
ACSL5	*	*
ACSL6	*	*
ACTB	*	*
ACTN4	*	*
ACTZ	*	*
ACV1B	*	*
ACVL1	*	*
ACVR1	*	*
ACVR2A	*	*
ADAM17	*	*
ADAP1	*	*
AEN	*	*
AF10	*	*
AF17	*	*
AF1Q	*	*
AF9	*	*
AFAD	*	*
AFF1	*	*
AFF3	*	*
AFF4	*	*

AFP	*	*
AGAP2	*	*
AGR2	*	*
AGRA2	*	*
AGRA3	*	*
AGRB1	*	*
AGRF1	*	*
AGRF2	*	*
AGRL2	*	*
AHRR	*	*
AIFM2	*	*
AIM2	*	*
AIP	*	*
AKAP9	*	*
AKIP1	*	*
AKP13	*	*
AKT1	✓	*
AKT2	*	*
AKT3	*	*
ALB	*	*
ALDH2	*	*
ALEX	*	*
ALK	✓	*
ALKBH2	*	✓
ALKBH3	*	✓
ALPK1	*	*
AMER1	*	*
AMGO2	*	*
AN32A	*	*
ANCHR	*	*
ANDR	*	*
ANK1	*	*
ANM3	*	*
ANM6	*	*
ANO1	*	*
ANS1A	*	*
ANS1B	*	*
ANXA5	*	*
APC	✓	*
APC10	*	*
APCL	*	*
APEX1	*	✓
APEX2	*	✓
APITD1	*	✓
APLF	*	✓
APOBEC3B	*	*

APTX	*	✓
AR	*	*
ARAF	*	*
ARF	*	*
ARG39	*	*
ARHG1	*	*
ARHG4	*	*
ARHG5	*	*
ARHG8	*	*
ARHGAP26	*	*
ARHGAP5	*	*
ARHGC	*	*
ARHGEF10	*	*
ARHGEF10L	*	*
ARHGEF12	*	*
ARHGI	*	*
ARHGQ	*	*
ARI3A	*	*
ARI3B	*	*
ARI4A	*	*
ARI5B	*	*
ARID1A	*	*
ARID1B	*	*
ARID2	*	*
ARK73	*	*
ARK74	*	*
ARNT	*	*
ASC	*	*
ASF1A	*	✓
ASPC1	*	*
ASPP2	*	*
ASPSR1	*	*
ASXL1	✓	*
ASXL2	*	*
ATAD2	*	*
ATF1	*	*
ATF5	*	*
ATF7	*	*
ATIC	*	*
ATM	✓	✓
ATP1A1	*	*
ATP2B3	*	*
ATR	✓	✓
ATRIP	*	✓
ATRX	*	*
ATXN3	*	✓

Genes	Hereditário	Reparo						
AURKA	*	*	BIRC3	*	*	CA2D3	*	*
AURKB	*	*	BIRC6	*	*	CACNA1D	*	*
AXIN1	*	*	BLCAP	*	*	CADH1	*	*
AXIN2	✓	*	BLK	*	*	CADH2	*	*
B2CL2	*	*	BLM	✓	✓	CADH3	*	*
B2L10	*	*	BLNK	*	*	CADM1	*	*
B2LA1	*	*	BMI1	*	*	CADM3	*	*
B2M	*	*	BMP5	*	*	CADM4	*	*
BACH2	*	*	BMPR1A	✓	*	CAH9	*	*
BAD	*	*	BMR1A	*	*	CALCA	*	*
BAG3	*	*	BMR1B	*	*	CALR	*	*
BAK	*	*	BMX	*	*	CAMTA1	*	*
BANP	*	*	BOREA	*	*	CANT1	*	*
BAP1	✓	*	BRAF	✓	*	CARD11	*	*
BARD1	✓	*	BRCA1	✓	✓	CARL3	*	*
BATF	*	*	BRCA2	✓	✓	CARS	*	*
BATF2	*	*	BRCC3	*	*	CASC3	*	*
BATF3	*	*	BRD1	*	*	CASC5	*	*
BAX	*	*	BRD3	*	*	CASL	*	*
BAZ1A	*	*	BRD4	*	*	CASP2	*	*
BC11A	*	*	BRD7	*	*	CASP3	*	*
BC11B	*	*	BRD8	*	*	CASP6	*	*
BCAR1	*	*	BRI3B	*	*	CASP8	*	*
BCAS3	*	*	BRIP1	✓	✓	CASP9	✓	*
BCAS4	*	*	BRMS1	*	*	CASPA	*	*
BCCIP	*	✓	BRNP1	*	*	CASR	*	*
BCL10	*	*	BTBD12	*	✓	CAV1	*	*
BCL11A	*	*	BTC	*	*	CAVN3	*	*
BCL11B	*	*	BTG1	*	*	CBFA2T3	*	*
BCL2	*	*	BTG2	*	*	CBFB	*	*
BCL2L1	*	*	BTG3	*	*	CBL	✓	*
BCL2L12	*	*	BTK	*	*	CBLB	*	*
BCL3	*	*	BUB1B	✓	*	CBLC	*	*
BCL6	*	*	C15orf65	*	*	CBLL2	*	*
BCL6B	*	*	C17orf70	*	✓	CBP	*	*
BCL7A	*	*	C19orf40	*	✓	CBX8	*	*
BCL9	*	*	C1orf86	*	✓	CC85B	*	*
BCL9L	*	*	C1QBP	*	*	CCAR2	*	*
BCLAF1	*	*	C1TC	*	*	CCD26	*	*
BCOR	*	*	C2D1A	*	*	CCD34	*	*
BCORL1	*	*	C2orf44	*	*	CCDB1	*	*
BCR	*	*	C56D2	*	*	CCDC6	*	*
BECN1	*	*	C7orf11	*	✓	CCL2	*	*
BIK	*	*	CA052	*	*	CCNB1	*	*
BIN1	*	*	CA053	*	*	CCNB1IP1	*	*
			CA2D2	*	*	CCNC	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
CCND1	*	*	CDKL1	*	*	CHST11	*	*
CCND2	*	*	CDKL2	*	*	CHSTB	*	*
CCND3	*	*	CDKN1A	*	*	CIB1	*	*
CCNE1	*	*	CDKN1B	✓	*	CIC	*	*
CCNE2	*	*	CDKN1C	✓	*	CIITA	*	*
CCNG1	*	*	CDKN2A	✓	*	CIP1	*	*
CCNG2	*	*	CDKN2C	*	*	CIP2A	*	*
CCNH	*	✓	CDKN3	*	*	CJ090	*	*
CCNL1	*	*	CDN1A	*	*	CK095	*	*
CCNT2	*	*	CDN1B	*	*	CKAP2	*	*
CCR4	*	*	CDN1C	*	*	CLD7	*	*
CCR7	*	*	CDN2A	*	*	CLIP1	*	*
CD19	*	*	CDN2B	*	*	CLK2	*	✓
CD209	*	*	CDN2C	*	*	CLOCK	*	*
CD274	*	*	CDN2D	*	*	CLP1	*	*
CD28	*	*	CDON	*	*	CLSPN	*	✓
CD34	*	*	CDT1	*	*	CLTC	*	*
CD38	*	*	CDX2	*	*	CLTCL1	*	*
CD3Z	*	*	CE162	*	*	CLUA1	*	*
CD40LG	*	*	CEACAM5	*	*	CLUS	*	*
CD44	*	*	CEAM1	*	*	CMC4	*	*
CD5	*	*	CEAM5	*	*	CMTA1	*	*
CD74	*	*	CEAM6	*	*	CNBD1	*	*
CD79A	*	*	CEBPA	✓	*	CNBP	*	*
CD79B	*	*	CEBPG	*	✓	CNOT3	*	*
CDC23	*	*	CENPK	*	*	CNTNAP2	*	*
CDC37	*	*	CENPU	*	*	CNTRL	*	*
CDC42	*	*	CENPW	*	*	COL1A1	*	*
CDC73	✓	*	CEP57	✓	*	COL2A1	*	*
CDCP1	*	*	CEP89	*	*	COL3A1	*	*
CDH1	✓	*	CETN2	*	✓	COMD1	*	*
CDH10	*	*	CHAF1A	*	✓	COP1	*	*
CDH11	*	*	CHAF1B	*	✓	COX1	*	*
CDH17	*	*	CHCHD7	*	*	COX6C	*	*
CDH2	*	*	CHD1L	*	*	CPEB3	*	*
CDK1	*	*	CHD2	*	*	CPEB4	*	*
CDK10	*	*	CHD4	*	*	CPNE1	*	*
CDK12	*	*	CHD5	*	*	CPNE3	*	*
CDK2	*	*	CHDH	*	*	CQ080	*	*
CDK20	*	*	CHEK1	*	✓	CR032	*	*
CDK4	✓	*	CHEK2	✓	✓	CR3L2	*	*
CDK6	*	*	CHFR	*	*	CR3L3	*	*
CDK7	*	✓	CHGA	*	*	CRADD	*	*
CDK9	*	*	CHIC2	*	*	CRBL2	*	*
CDKA1	*	*	CHK1	*	*	CRCM	*	*
			CHK2	*	*	CREB1	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
CREB3L1	*	*	CUL4B	*	✓	DDX6	*	*
CREB3L2	*	*	CUL5	*	*	DEC1	*	*
CREB5	*	*	CUL7	*	*	DEDD	*	*
CREBBP	✓	*	CUX1	*	*	DEDD2	*	*
CREG1	*	*	CUZD1	*	*	DEF1	*	*
CRK	*	*	CXCL12	*	*	DEK	*	*
CRKL	*	*	CXCR4	*	*	DEMA	*	*
CRLF2	*	*	CXXC5	*	*	DENR	*	*
CRNKL1	*	*	CYCS	*	*	DEP1A	*	*
CRPAK	*	*	CYLD	✓	*	DFFB	*	*
CRTC1	*	*	CYP19A1	*	*	DGAT2	*	*
CRTC3	*	*	CYP1A1	*	*	DGCR14	*	*
CRY1	*	✓	CYP2C8	*	*	DGCR8	*	*
CSDE1	*	*	CYR61	*	*	DHB13	*	*
CSF1R	*	*	CYSLTR2	*	*	DHSD	*	*
CSF2	*	*	CYTSB	*	*	DI3L2	*	*
CSF3	*	*	DAB2	*	*	DICER	*	*
CSF3R	✓	*	DAB2P	*	*	DICER1	✓	*
CSK	*	*	DACH1	*	*	DIRA3	*	*
CSK21	*	*	DACT1	*	*	DIS3L2	✓	*
CSK22	*	*	DAPK2	*	*	DJC27	*	*
CSK23	*	*	DAPK3	*	*	DKC1	✓	*
CSMD3	*	*	DAXX	*	*	DKK1	*	*
CSN3	*	*	DCAF1	*	*	DKK2	*	*
CSN5	*	*	DCAF12L2	*	*	DKK3	*	*
CSN6	*	*	DCBD2	*	*	DKK4	*	*
CSPP1	*	*	DCC	*	*	DLEC1	*	*
CSRN1	*	*	DCLRE1A	*	✓	DLG1	*	*
CTBP1	*	*	DCLRE1B	*	✓	DLG3	*	*
CTCF	*	*	DCLRE1C	*	✓	DLGP5	*	*
CTDS2	*	*	DCNL1	*	*	DLP1	*	*
CTDSL	*	*	DCNL3	*	*	DMAP1	*	*
CTIP	*	*	DCR1B	*	*	DMBT1	*	*
CTLA4	*	*	DCTN1	*	*	DMC1	*	✓
CTNB1	*	*	DDB1	*	✓	DMTF1	*	*
CTND1	*	*	DDB2	✓	✓	DNAJB1	*	*
CTNNA1	✓	*	DDIT3	*	*	DNM2	*	*
CTNNA2	*	*	DDIT4	*	*	DNMT3A	*	*
CTNNB1	✓	*	DDR1	*	*	DNTT	*	✓
CTNND1	*	*	DDR2	*	*	DOCK4	*	*
CTNND2	*	*	DDX10	*	*	DOCK8	✓	*
CUL1	*	*	DDX17	*	*	DP13A	*	*
CUL2	*	*	DDX3X	*	*	DPH1	*	*
CUL3	*	*	DDX41	✓	*	DPM3	*	*
CUL4A	*	✓	DDX42	*	*	DPOD1	*	*
			DDX5	*	*	DPOE1	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
DPOLQ	*	*	ELOC	*	*	ERCC6L	*	✓
DROSHA	*	*	EME1	*	✓	ERCC8	*	✓
DUS10	*	*	EME2	*	✓	ERD21	*	*
DUS16	*	*	EML4	*	*	REG	*	*
DUS26	*	*	EMP2	*	*	ERF	*	*
DUS7	*	*	EN113	*	*	ERG	*	*
DUT	*	✓	ENDOV	*	✓	ERRFI	*	*
DUX4L1	*	*	ENG	*	*	ESCO2	*	✓
E2F1	*	*	ENK18	*	*	ESR1	*	*
E2F2	*	*	ENK19	*	*	ESR2	*	*
E2F3	*	*	ENK21	*	*	ESX1	*	*
E2F6	*	*	ENK24	*	*	ETNK1	*	*
E2F7	*	*	ENK5	*	*	ETS1	*	*
E2F8	*	*	ENK6	*	*	ETS2	*	*
E41L3	*	*	ENK7	*	*	ETV1	*	*
E4F1	*	*	ENK8	*	*	ETV3	*	*
EBF1	*	*	ENK9	*	*	ETV4	*	*
ECT2	*	*	ENL	*	*	ETV5	*	*
ECT2L	*	*	ENO2	*	*	ETV6	✓	*
EED	*	*	ENTP5	*	*	ETV7	*	*
EFNA1	*	*	EP300	*	*	EVI2A	*	*
EFNA3	*	*	EPAS1	*	*	EVI2B	*	*
EFNA4	*	*	EPC1	*	*	EVI5	*	*
EFNB3	*	*	EPCAM	✓	*	EWS	*	*
EFS	*	*	EPHA2	*	*	EWSR1	*	*
EGF	*	*	EPHA3	*	*	EXO1	*	✓
EGFR	✓	*	EPHA4	*	*	EXT1	✓	*
EGLN1	*	*	EPHA5	*	*	EXT2	✓	*
EGLN2	*	*	EPHA7	*	*	EYA2	*	*
EGR3	*	*	EPHA8	*	*	EZH2	✓	*
EHBP1	*	*	EPHB2	*	*	EZR	*	*
EHF	*	*	EPHB3	*	*	F107A	*	*
EI24	*	*	EPHB6	*	*	F10A5	*	*
EIF1AX	*	*	EPN1	*	*	F120A	*	*
EIF3E	*	*	EPS15	*	*	F189B	*	*
EIF4A2	*	*	EPS8	*	*	F210B	*	*
EKI2	*	*	ERBB2	*	*	FA32A	*	*
ELANE	*	*	ERBB3	*	*	FA58B	*	*
ELF3	*	*	ERBB4	*	*	FA72A	*	*
ELF4	*	*	ERC1	*	*	FA83A	*	*
ELF5	*	*	ERCC1	*	✓	FA83B	*	*
ELK1	*	*	ERCC2	✓	✓	FA83D	*	*
ELK4	*	*	ERCC3	✓	✓	FABP7	*	*
ELL	*	*	ERCC4	✓	✓	FACD2	*	*
ELN	*	*	ERCC5	✓	✓	FADD	*	*
			ERCC6	✓	✓	FAK1	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
FAM131B	*	*	FGF22	*	*	FRK	*	*
FAM135B	*	*	FGF3	*	*	FRMD3	*	*
FAM175A	*	*	FGF4	*	*	FSCN1	*	*
FAM3C	*	*	FGF5	*	*	FSTL3	*	*
FAM46C	*	*	FGF6	*	*	FUBP1	*	*
FAM47C	*	*	FGF7	*	*	FUMH	*	*
FAN1	✓	✓	FGF8	*	*	FUND2	*	*
FANCA	✓	✓	FGFP1	*	*	FURIN	*	*
FANCB	✓	✓	FGFR1	*	*	FUS	*	*
FANCC	✓	✓	FGFR1OP	*	*	FYN	*	*
FANCD2	✓	✓	FGFR2	*	*	FZD1	*	*
FANCE	✓	✓	FGFR3	*	*	FZR1	*	*
FANCF	✓	✓	FGFR4	*	*	G3BP1	*	*
FANCG	✓	✓	FGOP2	*	*	GA45G	*	*
FANCI	✓	✓	FGR	*	*	GADD45A	*	✓
FANCI	✓	✓	FH	✓	*	GALNT12	*	*
FANCI	*	*	FHIT	*	*	GAS7	*	*
FANCI	*	*	FHL2	*	*	GATA1	✓	*
FANCL	✓	✓	FHL2	*	*	GATA2	✓	*
FANCM	✓	✓	FIP1L1	*	*	GATA3	*	*
FAS	*	*	FKBP9	*	*	GCNT3	*	*
FASLG	✓	*	FLCN	✓	*	GCR	*	*
FAT1	*	*	FLI1	*	*	GDS1	*	*
FAT3	*	*	FLNA	*	*	GEN1	*	✓
FAT4	*	*	FLOT1	*	*	GFI1	*	*
FBLN1	*	*	FLT1	*	*	GFI1B	*	*
FBLN2	*	*	FLT3	*	*	GGA1	*	*
FBSP1	*	*	FLT3L	*	*	GIPC1	*	*
FBW1A	*	*	FLT4	*	*	GIT1	*	*
FBW1B	*	*	FNBP1	*	*	GLI1	*	*
FBX5	*	*	FNIP1	*	*	GLI2	*	*
FBX7	*	*	FNIP2	*	*	GLT12	*	*
FBXL2	*	*	FOLH1	*	*	GML	*	*
FBXO11	*	*	FOS	*	*	GMPS	*	*
FBXW7	*	*	FOSL1	*	*	GNA11	*	*
FCG2B	*	*	FOSL2	*	*	GNAQ	*	*
FCGR2B	*	*	FOXA1	*	*	GNAS	✓	*
FCRL4	*	*	FOXD1	*	*	GNAS2	*	*
FCSD2	*	*	FOXE1	*	*	GNL3L	*	*
FEM1B	*	*	FOXL2	*	*	GO45	*	*
FEN1	*	✓	FOXO1	*	*	GOGA5	*	*
FER	*	*	FOXO3	*	*	GOLGA5	*	*
FES	*	*	FOXO4	*	*	GOPC	*	*
FEV	*	*	FOXP1	*	*	GOT1B	*	*
FGF1	*	*	FOXR1	*	*	GP15L	*	*
FGF10	*	*	FR1OP	*	*	GP5	*	*
FGF2	*	*	FRAT1	*	*			

Genes	Hereditário	Reparo						
GPAT3	*	*	HEY1	*	*	I17RB	*	*
GPC3	✓	*	HGF	*	*	IASPP	*	*
GPC5	*	*	HIC1	*	*	ID1	*	*
GPHN	*	*	HIC2	*	*	ID3	*	*
GPHRA	*	*	HIF1A	*	*	IDH1	*	*
GPKOW	*	*	HIF3A	*	*	IDH2	*	*
GPS2	*	*	HIP1	*	*	IER2	*	*
GRAP	*	*	HIPK2	*	*	IF16	*	*
GRB10	*	*	HIST1H3B	*	*	IF2B3	*	*
GRB2	*	*	HIST1H4I	*	*	IF4E	*	*
GRB7	*	*	HLA-A	*	*	IF5A2	*	*
GREM1	✓	*	HLF	*	*	IFFO1	*	*
GRHL2	*	*	HLTF	*	✓	IFIX	*	*
GRIN2A	*	*	HMGA1	*	*	IFM1	*	*
GRM3	*	*	HMGA2	*	*	IFM3	*	*
GRP1	*	*	HMGB1	*	✓	IFNA1	*	*
GRWD1	*	*	HMGB2	*	✓	IFNG	*	*
GSDMA	*	*	HMGN2P46	*	*	IFRD2	*	*
GSDME	*	*	HNF1A	✓	*	IGF1	*	*
GSTM1	*	*	HNF1B	*	*	IGF1R	*	*
GSTP1	*	*	HNRNPA2B1	*	*	IGF2	*	*
GTF2H1	*	✓	HOOK3	*	*	IGF2BP2	*	*
GTF2H2	*	✓	HOP	*	*	IGH	*	*
GTF2H3	*	✓	HOT	*	*	IGK	*	*
GTF2H4	*	✓	HOXA11	*	*	IGL	*	*
GTF2H5	*	✓	HOXA13	*	*	IKBB	*	*
GUAA	*	*	HOXA9	*	*	IKBKB	*	*
H2AFX	*	✓	HOXB13	✓	*	IKZF1	*	*
H3F3A	*	*	HOXC11	*	*	IL10	*	*
H3F3B	*	*	HOXC13	*	*	IL15	*	*
HABP2	*	*	HOXD11	*	*	IL18	*	*
HASP	*	*	HOXD13	*	*	IL1B	*	*
HBA1	*	*	HPGDS	*	*	IL2	*	*
HCK	*	*	HRAS	✓	*	IL21R	*	*
HDAC1	*	*	HS90B	*	*	IL24	*	*
HDAC2	*	*	HSP90AA1	*	*	IL3RB	*	*
HDGR2	*	*	HSP90AB1	*	*	IL4RA	*	*
HEAT6	*	*	HTAI2	*	*	IL6	*	*
HELQ	*	✓	HTATIP2	*	✓	IL6ST	*	*
HEMK1	*	*	HUS1	*	✓	IL7R	*	*
HERC1	*	*	HUTI	*	*	IL8	*	*
HERPUD1	*	*	HUTU	*	*	ILK	*	*
HEXB	*	*	HXA9	*	*	ILKAP	*	*
HEX1	*	*	HXB13	*	*	ING1	*	*
HEX2	*	*	HYAL1	*	*	ING2	*	*
			HYAL3	*	*	ING3	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
ING4	*	*	KCNJ5	*	*	KRT19	*	*
INSL3	*	*	KCTD6	*	*	KRT7	*	*
INSM1	*	*	KDM1A	*	*	KS6A2	*	*
INSR	*	*	KDM3B	*	*	KS6A5	*	*
INT6	*	*	KDM5A	*	*	KS6B1	*	*
IRF1	*	*	KDM5C	*	*	KS6B2	*	*
IRF3	*	*	KDM6A	*	*	KS6B2	*	*
IRF4	*	*	KDR	*	*	KSYK	*	*
IRF7	*	*	KDSR	*	*	KTN1	*	*
IRS1	*	*	KEAP1	*	*	L2GL1	*	*
IRS4	*	*	KHDR1	*	*	LACTB	*	*
ISK1	*	*	KI20B	*	*	LAP4B	*	*
IST1	*	*	KIAA1549	*	*	LARP4B	*	*
ISX	*	*	KIAA1598	*	*	LASP1	*	*
ITA9	*	*	KIF1B	✓	*	LATS1	*	*
ITCH	*	*	KIF22	*	*	LATS2	*	*
ITGAV	*	*	KIF5B	*	*	LC7L3	*	*
ITK	*	*	KILIN	*	*	LCK	*	*
ITPA	*	*	KIME	*	*	LCP1	*	*
IWS1	*	*	KISS1	*	*	LDB1	*	*
JAK1	*	*	KIT	✓	*	LEF1	*	*
JAK2	✓	*	KLF4	*	*	LEG1	*	*
JAK3	*	*	KLF5	*	*	LEG8	*	*
JAZF1	*	*	KLF6	*	*	LEPROTL1	*	*
JIP4	*	*	KLH20	*	*	LEU1	*	*
JTB	*	*	KLH22	*	*	LFG1	*	*
JUN	*	*	KLH41	*	*	LGI1	*	*
JUND	*	*	KLK10	*	*	LGR6	*	*
JUPI2	*	*	KLK2	*	*	LHFP	*	*
KANK1	*	*	KLK3	*	*	LHX2	*	*
KAPO	*	*	KMT2A	*	*	LHX4	*	*
KAPCB	*	*	KMT2B	*	*	LIFR	*	*
KAT2A	*	*	KMT2C	*	*	LIG1	*	✓
KAT2B	*	*	KMT2D	*	*	LIG3	*	✓
KAT5	*	✓	KMT2E	*	*	LIG4	✓	✓
KAT6A	*	*	KMT5A	*	*	LIMA1	*	*
KAT6B	*	*	KNL1	*	*	LIMD1	*	*
KAT7	*	*	KNSTRN	*	*	LIMK1	*	*
KC1D	*	*	KPCA	*	*	LIN7A	*	*
KC1E	*	*	KPCD	*	*	LIN9	*	*
KC1G2	*	*	KPCD2	*	*	LITAF	*	*
KCC4	*	*	KPCI	*	*	LMBL1	*	*
KCD11	*	*	KPCL	*	*	LMF1	*	*
KCD21	*	*	KPYM	*	*	LMNA	*	*
KCNA1	*	*	KRAS	✓	*	LMO1	*	*
			KRIT1	*	*	LMO2	*	*
						LOX12	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
LPP	*	*	MAP2K4	*	*	MGP	*	*
LRIG3	*	*	MAP2K7	*	*	MIB2	*	*
LRP12	*	*	MAP3K1	✓	*	MIEN1	*	*
LRP1B	*	*	MAP3K13	*	*	MINK1	*	*
LRRN2	*	*	MAPK1	*	*	MINP1	*	*
LSM14A	*	*	MAPK3	*	*	MINY3	*	*
LSM7	*	*	MAPK5	*	*	MITF	✓	*
LTK	*	*	MAPK8	*	*	MK01	*	*
LTMD1	*	*	MAPK8IP1	*	*	MK03	*	*
LUR1L	*	*	MAPK8IP2	*	*	MK06	*	*
LUZP4	*	*	MARE1	*	*	MK07	*	*
LYL1	*	*	MARE3	*	*	MK09	*	*
LYN	*	*	MAS	*	*	MK15	*	*
LYOX	*	*	MATK	*	*	MKL1	*	*
LZTR1	✓	*	MATR3	*	✓	MKL2	*	*
LZTS1	*	*	MAVS	*	*	MKRN2	*	*
LZTS2	*	*	MAX	✓	*	MLF1	*	*
M3K1	*	*	MB21D2	*	*	MLH1	✓	✓
M3K10	*	*	MBD4	*	✓	MLH3	✓	✓
M3K11	*	*	MBP	*	*	MLLT1	*	*
M3K14	*	*	MC1R	*	*	MLLT10	*	*
M3K2	*	*	MCF2	*	*	MLLT11	*	*
M3K5	*	*	MCF2L	*	*	MLLT3	*	*
M3K7	*	*	MCL1	*	*	MLLT4	*	*
M3K8	*	*	MCM4	*	*	MLLT6	*	*
M4K5	*	*	MCTS1	*	*	MLX	*	*
MAD2L2	✓	✓	MD1L1	*	*	MME	*	*
MADD	*	*	MDC1	*	✓	MMP1	✓	*
MAEA	*	*	MDGA1	*	*	MMP14	*	*
MAF	*	*	MDM2	*	*	MMP2	*	*
MAFA	*	*	MDM4	*	*	MMP9	*	*
MAFB	*	*	MDS2	*	*	MMRN2	*	*
MAFF	*	*	MECOM	*	*	MMS19	*	✓
MAFG	*	*	MED1	*	*	MN1	*	*
MAFK	*	*	MED10	*	*	MNAT1	*	✓
MAGI1	*	*	MED12	*	*	MNX1	✓	*
MAGI3	*	*	MED28	*	*	MO4L1	*	*
MAK	*	*	MELK	*	*	MO4L2	*	*
MALAT1	*	*	MEN1	✓	*	MOB1A	*	*
MALT1	*	*	MEP50	*	*	MOD5	*	*
MAML2	*	*	MERL	*	*	MOS	*	*
MANF	*	*	MERTK	*	*	MOV10	*	*
MAP12	*	*	MET	✓	*	MP2K1	*	*
MAP2K1	✓	*	MFHA1	*	*	MP2K4	*	*
MAP2K2	✓	*	MFR1L	*	*	MP2K6	*	*
			MGMT	*	✓	MP2K7	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
MPG	*	✓	MYCP1	*	*	NEIL3	*	✓
MPIP2	*	*	MYD88	*	*	NEK2	*	*
MPIP3	*	*	MYEOV	*	*	NEK3	*	*
MPL	*	*	MYH11	*	*	NEK4	*	*
MPP3	*	*	MYH9	*	*	NEMF	*	*
MRE11	✓	*	MYO5A	*	*	NEMO	*	*
MRE11A	*	✓	MYOD1	*	*	NENF	*	*
MRGBP	*	*	N4BP2	*	*	NEO1	*	*
MRV1	*	*	NAA15	*	*	NEUL1	*	*
MSD3	*	*	NAB2	*	*	NF1	✓	*
MSH2	✓	✓	NACA	*	*	NF2	✓	*
MSH3	✓	✓	NACC2	*	*	NFAT5	*	*
MSH4	*	✓	NADAP	*	*	NFATC2	*	*
MSH5	*	✓	NANO1	*	*	NFE2L2	*	*
MSH6	✓	✓	NANP8	*	*	NFIB	*	*
MSI2	*	*	NARR	*	*	NFIP1	*	*
MSMB	*	*	NAT6	*	*	NFIP2	*	*
MSN	*	*	NAV2	*	*	NFKB1	*	*
MSRE	*	*	NBAS	*	*	NFKB2	*	*
MTA1	*	*	NBEA	*	*	NFKBIE	*	*
MTA2	*	*	NBL1	*	*	NGAL	*	*
MTA3	*	*	NBN	✓	✓	NGF	*	*
MTCP1	*	*	NBPF3	*	*	NHEJ1	*	✓
MTG16	*	*	NBPFC	*	*	NIN	*	*
MTG8	*	*	NCAM1	*	*	NINL	*	*
MTG8R	*	*	NCKIPSD	*	*	NKX21	*	*
MTND	*	*	NCOA1	*	*	NKX2-1	*	*
MTOR	*	*	NCOA2	*	*	NKX31	*	*
MTSS1	*	*	NCOA4	*	*	NKX3-1	*	*
MTUS1	*	*	NCOR1	*	*	NLS1	*	*
MUC1	*	*	NCOR2	*	*	NMI	*	*
MUC16	*	*	NDC80	*	*	NOL11	*	*
MUC4	*	*	NDE1	*	*	NOL7	*	*
MUL1	*	*	NDEL1	*	*	NONO	*	*
MUS81	*	✓	NDKA	*	*	NOP53	*	*
MUTYH	✓	✓	NDKB	*	*	NOTC4	*	*
MXI1	*	*	NDRG1	*	*	NOTCH1	*	*
MXRA5	*	*	NDRG2	*	*	NOTCH2	*	*
MY18B	*	*	NDUAD	*	*	NOV	*	*
MYB	*	*	NDUC2	*	*	NPAT	*	*
MYBA	*	*	NDUF4	*	*	NPM	*	*
MYBB	*	*	NEB2	*	*	NPM1	*	*
MYC	*	*	NEDD4	*	*	NPRL2	*	*
MYCL	*	*	NEDD8	*	*	NR4A3	*	*
MYCN	*	*	NEIL1	*	✓	NRAS	✓	*
			NEIL2	*	✓	NRG1	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
NS1BP	*	*	PANO1	*	*	PER1	*	✓
NSA2	*	*	PAR10	*	*	PERP	*	*
NSD1	✓	*	PAR6A	*	*	PFD3	*	*
NSD2	*	*	PARK7	*	*	PGDH	*	*
NSD3	*	*	PARN	✓	*	PGFRA	*	*
NT5C2	*	*	PARP1	*	✓	PGFRB	*	*
NTHL1	✓	✓	PARP2	*	✓	PGFRL	*	*
NTRK1	✓	*	PARP3	*	✓	PGM1	*	*
NTRK3	*	*	PARP4	*	✓	PGR	*	*
NU214	*	*	PATZ1	*	*	PGRP2	*	*
NUAK1	*	*	PAWR	*	*	PHB	*	*
NUDT1	*	✓	PAX3	*	*	PHF23	*	*
NUMA1	*	*	PAX5	✓	*	PHF6	*	*
NUP214	*	*	PAX7	*	*	PHLA3	*	*
NUP98	*	*	PAX8	*	*	PHLP1	*	*
NUTM1	*	*	PAXI	*	*	PHLP2	*	*
NUTM2A	*	*	PB1	*	*	PHOX2B	✓	*
NUTM2B	*	*	PBIP1	*	*	PIAS1	*	*
OBF1	*	*	PBRM1	✓	*	PIAS2	*	*
OBFC2B	*	✓	PBX1	*	*	PIAS4	*	*
OBSCN	*	*	PBX2	*	*	PICAL	*	*
OGG1	*	✓	PBX3	*	*	PICALM	*	*
OGR1	*	*	PC11Y	*	*	PIDD1	*	*
OLIG2	*	*	PCA3	*	*	PIGU	*	*
OMD	*	*	PCBP1	*	*	PIK3CA	✓	*
OPCM	*	*	PCD15	*	*	PIK3CB	*	*
OTU7B	*	*	PCL1	*	*	PIK3R1	*	*
P2RY8	*	*	PCM1	*	*	PIM1	*	*
P3H1	*	*	PCNA	*	✓	PIM2	*	*
P53	*	*	PCSK7	*	*	PIM3	*	*
P73	*	*	PCX2	*	*	PIMRE	*	*
P85A	*	*	PDCD1LG2	*	*	PIN1	*	*
P85B	*	*	PDCD4	*	*	PININ	*	*
PA216	*	*	PDE4DIP	*	*	PINK1	*	*
PA2G4	*	*	PDGFB	✓	*	PINX1	*	*
PABPC1	*	*	PDGFC	*	*	PIR	*	*
PAF1	*	*	PDGFD	*	*	PIWL1	*	*
PAF15	*	*	PDGFRA	✓	*	PIWL2	*	*
PAFAH1B2	*	*	PDGFRB	✓	*	PK3CA	*	*
PAK1	*	*	PDLI5	*	*	PK3CB	*	*
PAK4	*	*	PDPN	*	*	PK3CD	*	*
PAK5	*	*	PDRG1	*	*	PKHG2	*	*
PAL4A	*	*	PDZD4	*	*	PKHG5	*	*
PALB2	✓	✓	PEA15	*	*	PKHO1	*	*
PALLD	*	*	PEBB	*	*	PLAG1	*	*
			PEG10	*	*	PLAK	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
PLAL1	*	*	PPM1D	*	*	PTOV1	*	*
PLCE1	*	*	PPP2R1A	*	*	PTPN11	✓	*
PLCG1	*	*	PPP6C	*	*	PTPN13	*	*
PLGF	*	*	PPR18	*	*	PTPN6	*	*
PLK1	*	*	PRAF3	*	*	PTPRB	*	*
PLK2	*	*	PRAM	*	*	PTPRC	*	*
PLK3	*	*	PRC1	*	*	PTPRD	*	*
PLPL3	*	*	PRCC	*	*	PTPRE	*	*
PLPP5	*	*	PRDM1	*	*	PTPRH	*	*
PLXB1	*	*	PRDM16	*	*	PTPRJ	*	*
PLXB2	*	*	PRDM2	*	*	PTPRK	*	*
PLXB3	*	*	PRDM5	*	*	PTPRN	*	*
PML	*	*	PRDX6	*	*	PTPRO	*	*
PMS1	*	✓	PREX2	*	*	PTPRT	*	*
PMS2	✓	✓	PRF1	✓	*	PTPRU	*	*
PMS2L3	*	✓	PRKACA	*	*	PTTG1	*	✓
PNKP	*	✓	PRKAR1A	✓	*	PTTG2	*	*
PO3F2	*	*	PRKCB	*	*	PTTG3	*	*
PO4F1	*	*	PRKDC	*	✓	PUM1	*	*
PO4F2	*	*	PRKN	*	*	PUM2	*	*
POLA1	*	✓	PRKX	*	*	PWWP2A	*	*
POLB	*	✓	PROM1	*	*	PXMP4	*	*
POLD1	✓	✓	PRPF19	*	✓	QKI	*	*
POLD2	*	✓	PRPF40B	*	*	R144B	*	*
POLD3	*	✓	PRR14	*	*	RA51C	*	*
POLD4	*	✓	PRR5	*	*	RA51D	*	*
POLE	✓	✓	PRRX1	*	*	RA54B	*	*
POLE2	*	✓	PRUN1	*	*	RAB11B	*	*
POLE3	*	✓	PRUN2	*	*	RAB26	*	*
POLE4	*	✓	PSA5	*	*	RAB5A	*	*
POLG	*	✓	PSCA	*	*	RAB7A	*	*
POLH	✓	✓	PSD10	*	*	RAB8A	*	*
POLI	*	✓	PSIP1	*	*	RABEP1	*	*
POLK	*	✓	PSMD6	*	*	RAC1	*	*
POLL	*	✓	PTC1	*	*	RACK1	*	*
POLM	*	✓	PTC2	*	*	RAD1	*	✓
POLN	*	✓	PTCH1	✓	*	RAD17	*	✓
POLQ	*	✓	PTEN	✓	*	RAD18	*	✓
POT1	✓	*	PTGS2	*	*	RAD21	*	✓
POU2AF1	*	*	PTHB1	*	*	RAD23A	*	✓
POU5F1	*	*	PTK6	*	*	RAD23B	*	✓
PP1A	*	*	PTK7	*	*	RAD50	✓	✓
PPARG	*	*	PTN13	*	*	RAD51	✓	✓
PPFIBP1	*	*	PTN14	*	*	RAD51B	*	✓
PPIE	*	*	PTN18	*	*	RAD51C	✓	✓
			PTN7	*	*	RAD51D	✓	✓

Genes	Hereditário	Reparo						
RAD52	*	✓	RBTN1	*	*	RINT1	*	*
RAD54	*	*	RBTN2	*	*	RIOX1	*	*
RAD54B	*	✓	RBX1	*	✓	RIOX2	*	*
RAD54L	✓	✓	RBX2	*	*	RIPK1	*	*
RAD9A	*	✓	RDM1	*	✓	RIT2	*	*
RAF1	✓	*	REC6	*	*	RL10	*	*
RAI3	*	*	RECK	*	*	RL1D1	*	*
RALGDS	*	*	RECQ4	*	*	RL40	*	*
RANB9	*	*	RECQL	✓	✓	RL7A	*	*
RANBP2	*	*	RECQL4	✓	✓	RLF	*	*
RAP1A	*	*	RECQL5	*	✓	RMI1	*	✓
RAP1GDS1	*	*	RED	*	*	RMI2	*	✓
RAP2A	*	*	REL	*	*	RMP	*	*
RAP2B	*	*	REPS2	*	*	RN135	*	*
RARA	*	*	RET	✓	*	RN139	*	*
RARB	*	*	RETN	*	*	RN149	*	*
RASA1	*	*	REV1L	*	✓	RN167	*	*
RASF1	*	*	REV3L	*	✓	RN213	*	*
RASF2	*	*	RFC1	*	✓	RN5A	*	*
RASF3	*	*	RFC2	*	✓	RNF11	*	*
RASF4	*	*	RFC3	*	✓	RNF168	*	✓
RASF5	*	*	RFC4	*	✓	RNF213	*	*
RASF6	*	*	RFC5	*	✓	RNF34	*	*
RASFA	*	*	RFIP3	*	*	RNF4	*	✓
RASH	*	*	RFWD3	*	*	RNF43	✓	*
RASK	*	*	RGCC	*	*	RNF6	*	*
RASM	*	*	RGDSR	*	*	RNF8	*	✓
RASN	*	*	RGPD3	*	*	RNT2	*	*
RB	*	*	RGRF1	*	*	RNZ2	*	*
RB1	✓	*	RGS7	*	*	ROBO1	*	*
RB11A	*	*	RHBDF2	✓	*	ROBO2	*	*
RB612	*	*	RHDF2	*	*	RON	*	*
RBBP8	*	✓	RHG07	*	*	ROR1	*	*
RBCC1	*	*	RHG20	*	*	RORA	*	*
RBG1L	*	*	RHG21	*	*	ROS1	*	*
RBL1	*	*	RHG26	*	*	RPA1	*	✓
RBL2	*	*	RHG29	*	*	RPA2	*	✓
RBM10	*	*	RHG35	*	*	RPA3	*	✓
RBM14	*	✓	RHNO1	*	*	RPA4	*	✓
RBM15	*	*	RHOA	*	*	RPB1	*	*
RBM5	*	*	RHOB	*	*	RPL10	*	*
RBM6	*	*	RHOG	*	*	RPL22	*	*
RBMS1	*	*	RHOH	*	*	RPL5	*	*
RBMX	*	*	RHXF2	*	*	RPN1	*	*
RBP56	*	*	RIF1	*	✓	RRAS2	*	*
			RIG	*	*	RRM2B	*	✓

Genes	Hereditário	Reparo						
RRP1B	*	*	SDCG3	*	*	SIK1	*	*
RS27A	*	*	SDHA	✓	*	SIK3	*	*
RS30	*	*	SDHAF2	✓	*	SIR1	*	*
RSLAA	*	*	SDHB	✓	*	SIR2	*	*
RSPO2	*	*	SDHC	✓	*	SIR4	*	*
RSPO3	*	*	SDHD	✓	*	SIRPA	*	*
RSSA	*	*	SE6L1	*	*	SIVA	*	*
RT11	*	*	SEM3B	*	*	SIX1	*	*
RTEL1	✓	*	SEM3F	*	*	SIX2	*	*
RTKN	*	*	SEM5A	*	*	SKI	*	*
RTN4	*	*	SENP1	*	*	SKIL	*	*
RUBCL	*	*	SENP6	*	*	SLAP2	*	*
RUFY3	*	*	SEPT5	*	*	SLC34A2	*	*
RUNDC2A	*	*	SEPT6	*	*	SLC45A3	*	*
RUNX1	✓	*	SEPT9	*	*	SLIP	*	*
RUNX1T1	*	*	SESN1	*	*	SLX1A	*	✓
RUNX2	*	*	SESN2	*	*	SLX1B	*	✓
RUNX3	*	*	SET	*	*	SLX4	✓	*
RUVB1	*	*	SETBP	*	*	SMAD2	*	*
RUVB2	*	*	SETBP1	✓	*	SMAD3	*	*
RUXG	*	*	SETD1B	*	*	SMAD4	✓	*
RXFP2	*	*	SETD2	*	*	SMAD5	*	*
RYK	*	*	SETMAR	*	✓	SMAD6	*	*
S100A7	*	*	SETMR	*	*	SMAD7	*	*
S10A2	*	*	SF3B1	*	*	SMAGP	*	*
S22AA	*	*	SFPQ	*	✓	SMARCA4	✓	*
S22AI	*	*	SFRP4	*	*	SMARCB1	✓	*
S2533	*	*	SG2A2	*	*	SMARCD1	*	*
S2547	*	*	SGK1	*	*	SMARCE1	✓	*
S35B2	*	*	SH21B	*	*	SMC1A	*	✓
S38A3	*	*	SH2B1	*	*	SMC3	*	✓
SALL4	*	*	SH2B2	*	*	SMC5	*	✓
SAMN1	*	*	SH2B3	✓	*	SMCA4	*	*
SAPC2	*	*	SH3G1	*	*	SMO	*	*
SASH1	*	*	SH3GL1	*	*	SMUF2	*	*
SAV1	*	*	SH3R2	*	*	SMUG1	*	✓
SBDS	✓	*	SHB	*	*	SNAI1	*	*
SC23B	*	*	SHC1	*	*	SNAI2	*	*
SC31A	*	*	SHC2	*	*	SND1	*	*
SC5A8	*	*	SHC3	*	*	SNF5	*	*
SCRIB	*	*	SHCAF	*	*	SNIP1	*	*
SCUB3	*	*	SHFM1	*	✓	SNTB1	*	*
SDC1	*	*	SHIP2	*	*	SNW1	*	*
SDC4	*	*	SHPRH	*	✓	SOCS1	*	*
SDCB1	*	*	SHSA5	*	*	SOX2	*	*
			SIAH1	*	*	SOX21	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
SP1	*	*	STEA4	*	*	TBRG1	*	*
SP100	*	*	STIL	*	*	TBX3	*	*
SPAG1	*	*	STK11	✓	*	TCAL7	*	*
SPECC1	*	*	STK25	*	*	TCAM1	*	*
SPEN	*	*	STK26	*	*	TCAM2	*	*
SPI1	*	*	STK3	*	*	TCEA1	*	*
SPN90	*	*	STK38	*	*	TCF12	*	*
SPO11	*	✓	STK39	*	*	TCF3	*	*
SPOP	*	*	STK4	*	*	TCF7L2	*	*
SPRTN	✓	✓	STRN	*	*	TCHP	*	*
SPT13	*	*	STYK1	*	*	TCL1A	*	*
SQSTM	*	*	SUFU	✓	*	TCL1B	*	*
SRC	*	*	SUMO1	*	*	TCP1L	*	*
SRC8	*	*	SUSD2	*	*	TCTA	*	*
SRGAP3	*	*	SUSD3	*	*	TDG	*	✓
SRGP1	*	*	SUSD6	*	*	TDP1	*	✓
SRSF1	*	*	SUV91	*	*	TDP2	*	✓
SRSF2	*	*	SUV92	*	*	TEC	*	*
SRSF3	*	*	SUZ12	*	*	TEF	*	*
SRY	*	*	SYCC	*	*	TEFF1	*	*
SS18	*	*	SYCP3	*	✓	TENS4	*	*
SS18L1	*	*	SYK	*	*	TERC	*	*
SSPN	*	*	SYNP2	*	*	TERT	✓	*
SSX1	*	*	SYP	*	*	TES	*	*
SSX2	*	*	SZRD1	*	*	TET1	*	*
SSX4	*	*	T184B	*	*	TET2	*	*
SSXT	*	*	T5311	*	*	TEX10	*	*
ST134	*	*	T5312	*	*	TF2H1	*	*
ST14	*	*	TACC1	*	*	TF65	*	*
ST17A	*	*	TACC2	*	*	TF7L2	*	*
ST18	*	*	TACC3	*	*	TFDP1	*	*
ST20	*	*	TAD2B	*	*	TFDP2	*	*
ST5	*	*	TAF12	*	*	TFDP3	*	*
ST7	*	*	TAF15	*	*	TFE2	*	*
ST7L	*	*	TAF4	*	*	TFE3	*	*
STA13	*	*	TAL1	*	*	TFEB	*	*
STABP	*	*	TAL2	*	*	TFG	*	*
STAG1	*	*	TAOK1	*	*	TFIP8	*	*
STAG2	*	*	TAOK2	*	*	TFPT	*	*
STAP2	*	*	TAOK3	*	*	TFRC	*	*
STAR8	*	*	TARG1	*	*	TG	*	*
STAT3	✓	*	TAXB1	*	*	TGFA	*	*
STAT5B	*	*	TBC3A	*	*	TGFB1	*	*
STAT6	*	*	TBK1	*	*	TGFB2	✓	*
STEA3	*	*	TBL1XR1	*	*	TGFR1	*	*
			TBP	*	*	TGFR2	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
THA	*	*	TNR6B	*	*	TRIP11	*	*
THADA	*	*	TNR6C	*	*	TRRAP	*	*
THAP1	*	*	TOB1	*	*	TS101	*	*
THB	*	*	TOB2	*	*	TSC1	✓	*
THEM4	*	*	TOP1	*	*	TSC2	✓	*
THOC1	*	*	TOP3A	*	✓	TSHR	*	*
THRAP3	*	*	TOPB1	*	*	TSN31	*	*
TIAM1	*	*	TOPBP1	*	✓	TSN6	*	*
TIE2	*	*	TOPRS	*	*	TTC23	*	*
TIF1A	*	*	TP4A2	*	*	TTK	*	*
TIFA	*	*	TP53	✓	✓	TTP	*	*
TINF2	✓	*	TP53BP1	*	✓	TUSC1	*	*
TIPRL	*	*	TP63	*	*	TUSC2	*	*
TISB	*	*	TPD52	*	*	TX1B3	*	*
TISD	*	*	TPD53	*	*	TXK	*	*
TLK1	*	*	TPGS2	*	*	TXNIP	*	*
TLK2	*	*	TPM3	*	*	TYDP2	*	*
TLX1	*	*	TPM4	*	*	TYK2	*	*
TLX3	*	*	TPO	*	*	TYRO	*	*
TM101	*	*	TPOR	*	*	TYRO3	*	*
TM102	*	*	TPR	*	*	TYW4	*	*
TM115	*	*	TR10B	*	*	TYY1	*	*
TM127	*	*	TRA	*	*	TZAP	*	*
TM158	*	*	TRADD	*	*	U2AF1	*	*
TM9S4	*	*	TRAF1	*	*	U2QL1	*	*
TMED4	*	*	TRAF3	*	*	UB2D2	*	*
TMED8	*	*	TRAF5	*	*	UB2R1	*	*
TMEM127	✓	*	TRAF6	*	*	UB2R2	*	*
TMF1	*	*	TRAF7	*	*	UB2V2	*	*
TMPRSS2	*	*	TRB	*	*	UBB	*	*
TNAP3	*	*	TRD	*	*	UBC	*	*
TNC	*	*	TREX1	*	✓	UBC9	*	*
TNF	*	*	TREX2	*	✓	UBD	*	*
TNF15	*	*	TRG-GCC2	*	*	UBE2A	*	✓
TNFAIP3	*	*	TRI13	*	*	UBE2B	*	✓
TNFRSF10B	*	*	TRI22	*	*	UBE2N	*	✓
TNFRSF14	*	*	TRI27	*	*	UBE2T	✓	✓
TNFRSF17	*	*	TRI33	*	*	UBE2V1	*	✓
TNFRSF8	*	*	TRI35	*	*	UBE2V2	*	✓
TNIP2	*	*	TRI36	*	*	UBE4B	*	*
TNIP3	*	*	TRI37	*	*	UBIA1	*	*
TNK1	*	*	TRIB3	*	*	UBIM	*	*
TNR17	*	*	TRIM24	*	*	UBP10	*	*
TNR1A	*	*	TRIM27	*	*	UBP2	*	*
TNR6A	*	*	TRIM33	*	*	UBP28	*	*
			TRIM8	*	*	UBP32	*	*

Genes	Hereditário	Reparo						
UBP4	*	*	WIF1	*	*	ZBT7A	*	*
UBP47	*	*	WIPI1	*	*	ZBT7C	*	*
UBP6	*	*	WIPI2	*	*	ZBTB16	*	*
UBR5	*	*	WIPI3	*	*	ZBTB4	*	*
UBS3A	*	*	WIPI4	*	*	ZC12D	*	*
UCHL1	*	*	WISP1	*	*	ZCCHC8	*	*
UFL1	*	*	WN10B	*	*	ZDH13	*	*
UFO	*	*	WNK1	*	*	ZDH17	*	*
UHRF1	*	*	WNK2	*	*	ZEB1	*	*
UHRF2	*	*	WNK3	*	*	ZFHX3	*	*
ULA1	*	*	WNK4	*	*	ZGPAT	*	*
UNG	*	✓	WNT1	*	*	ZKSC3	*	*
URFB1	*	*	WNT2B	*	*	ZMAT3	*	*
US6NL	*	*	WNT3	*	*	ZMY10	*	*
USE1	*	*	WNT4	*	*	ZMY11	*	*
USP1	*	✓	WNT5A	*	*	ZMYM3	*	*
USP44	*	*	WNT6	*	*	ZN185	*	*
USP6	*	*	WRN	✓	✓	ZN217	*	*
USP8	*	*	WT1	✓	*	ZN320	*	*
UVSSA	*	✓	WWOX	*	*	ZN350	*	*
VATH	*	*	WWP1	*	*	ZN365	*	*
VAV	*	*	WWTR1	*	*	ZN513	*	*
VAV1	*	*	XAB2	*	✓	ZN521	*	*
VAV2	*	*	XAF1	*	*	ZN655	*	*
VAV3	*	*	XBP1	*	*	ZN703	*	*
VEGFA	*	*	XIAP	✓	*	ZNF198	*	*
VEGFC	*	*	XPA	✓	✓	ZNF278	*	*
VGFR1	*	*	XPC	✓	✓	ZNF331	*	*
VGFR2	*	*	XPF	*	*	ZNF384	*	*
VGFR3	*	*	XPO1	*	*	ZNF429	*	*
VHL	✓	*	XRCC1	*	✓	ZNF479	*	*
VIME	*	*	XRCC2	✓	✓	ZNF521	*	*
VMA5A	*	*	XRCC3	*	✓	ZNRF3	*	*
VMP1	*	*	XRCC4	*	✓	ZRSR2	*	*
VOPP1	*	*	XRCC5	*	✓	ZSC32	*	*
VRK1	*	*	XRCC6	*	✓	ZW10	*	*
VTI1A	*	*	XRN1	*	*	ZWINT	*	*
VWA2	*	*	YAF2	*	*	ZZEF1	*	*
WAS	✓	*	YAP1	*	*	ACD	*	*
WBP1	*	*	YBOX1	*	*	ANKRD26	✓	*
WDR11	*	*	YES	*	*	ARMC5	✓	*
WDR48	*	✓	YETS4	*	*	ASCL1	✓	*
WFDC2	*	*	YWHAE	*	*	ATP4A	*	*
WHSC1	*	*	YYAP1	*	*	BDNF	✓	*
WHSC1L1	*	*	ZBT16	*	*	BPGM	*	*
			ZBT17	*	*	CABLES1	*	*

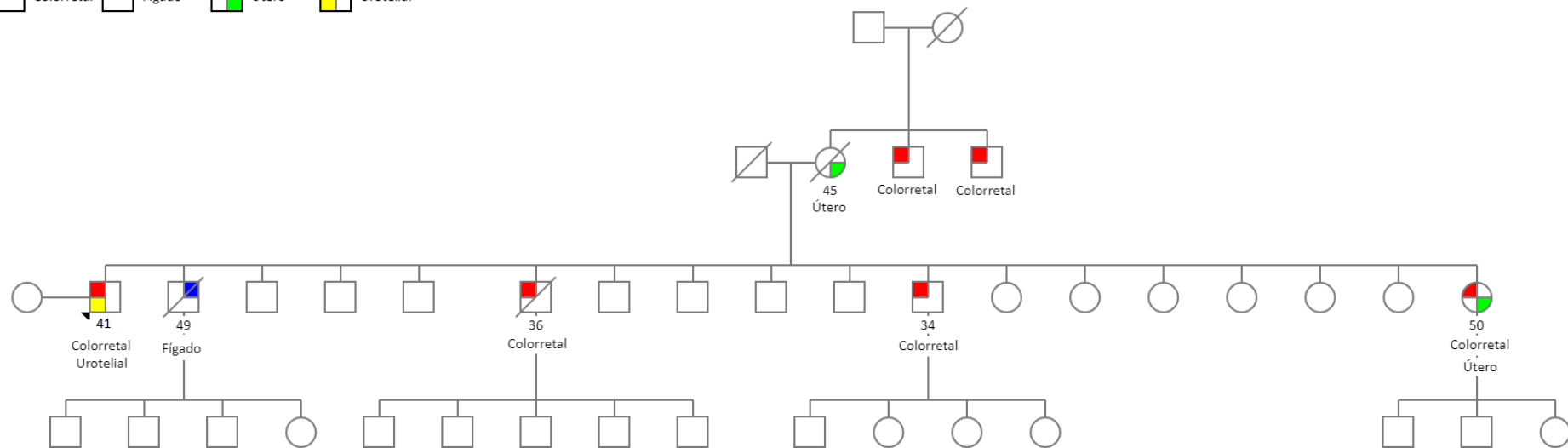
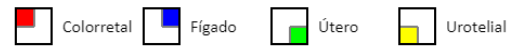
Genes	Hereditário	Reparo
CASP10	✓	✗
CD70	✗	✗
CDH23	✓	✗
CTC1	✓	✗
CTR9	✗	✗
DLST	✗	✗
DNAJC21	✓	✗
DNMT3B	✗	✗
EDN3	✓	✗
EFL1	✗	✗
ERCC6L2	✓	✗
FIBP	✗	✗
G6PC	✓	✗
GDNF	✓	✗
GLMN	✓	✗
HCLS1	✓	✗
IPMK	✓	✗
JAG1	✓	✗
KLLN	✓	✗
LAPTM5	✓	✗
LDAH	✗	✗
MAGT1	✓	✗
MDH2	✗	✗
MSR1	✓	✗
MTAP	✓	✗
NHP2	✓	✗
NME1	✓	✗
NOP10	✓	✗
NYNRIN	✗	✗
OS9	✗	✗
PPP2R3B	✗	✗
PSMC3IP	✓	✗
PTCH2	✓	✗
RASA2	✓	✗
RASAL1	✓	✗
RBBP6	✓	✗
RNASEL	✓	✗
RNF139	✓	✗
RRAS	✓	✗
RSPO1	✓	✗
SAMD9	✓	✗
SAMD9L	✓	✗
SEC23B	✓	✗
SERPINA1	✓	✗
SH2D1A	✓	✗

SHOC2	✓	✗
SLC25A11	✗	✗
SMARCAD1	✗	✗
SOS1	✓	✗
SRP54	✗	✗
SRP72	✓	✗
TERF2IP	✓	✗
TEX15	✓	✗
THSD1	✗	✗
TMC6	✓	✗
TMC8	✓	✗
TPCN2	✗	✗
TRIM28	✗	✗
TRIP13	✓	✗
WIPF1	✓	✗
WNT10A	✓	✗
WRAP53	✓	✗
ZNF687	✓	✗

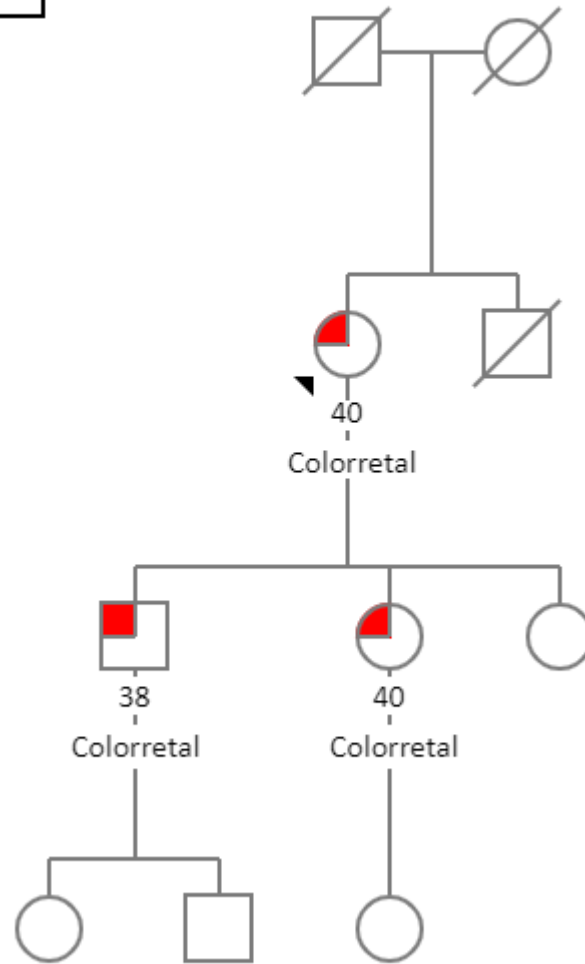
- 1) Levantamento do COSMIC, UniProt e DISEASE;
- 2) Painéis empresariais revisados;
- 3) Levantamento realizado por Das R em 2017.

Anexo B: Lista de Heredogramas

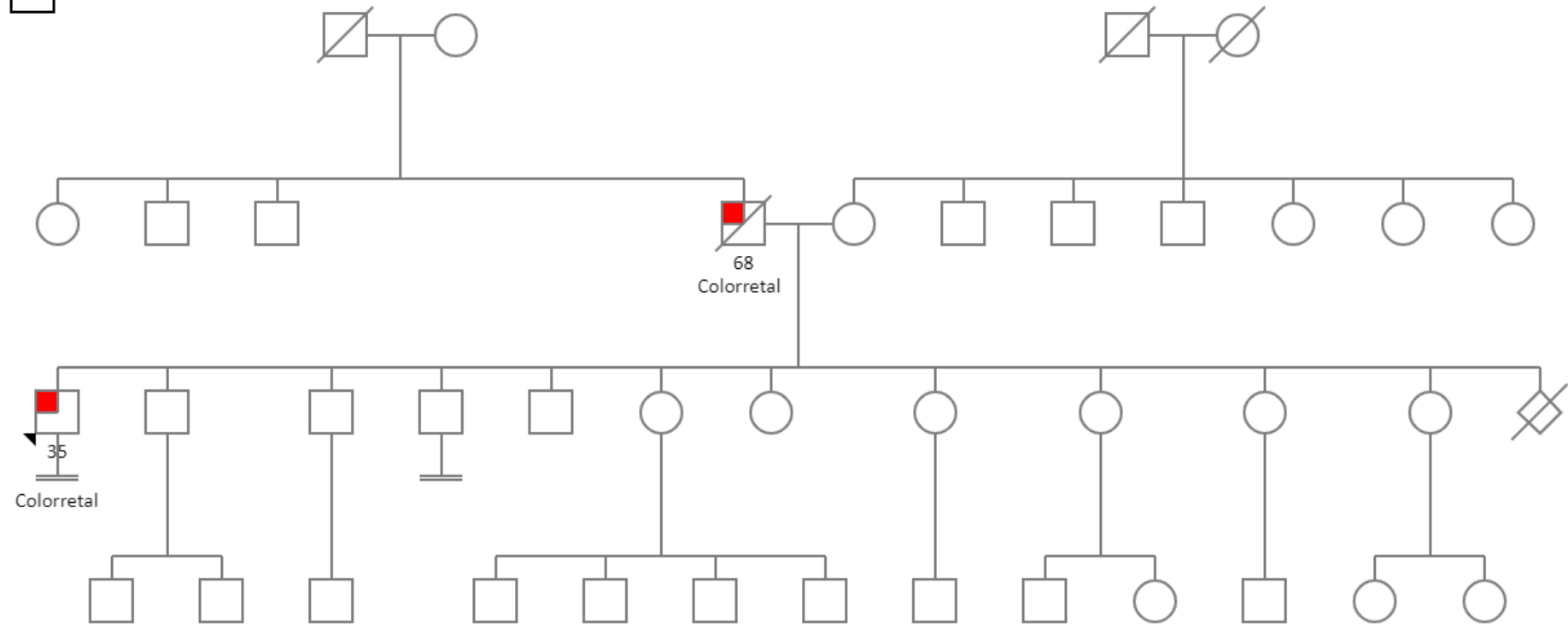
Família 1

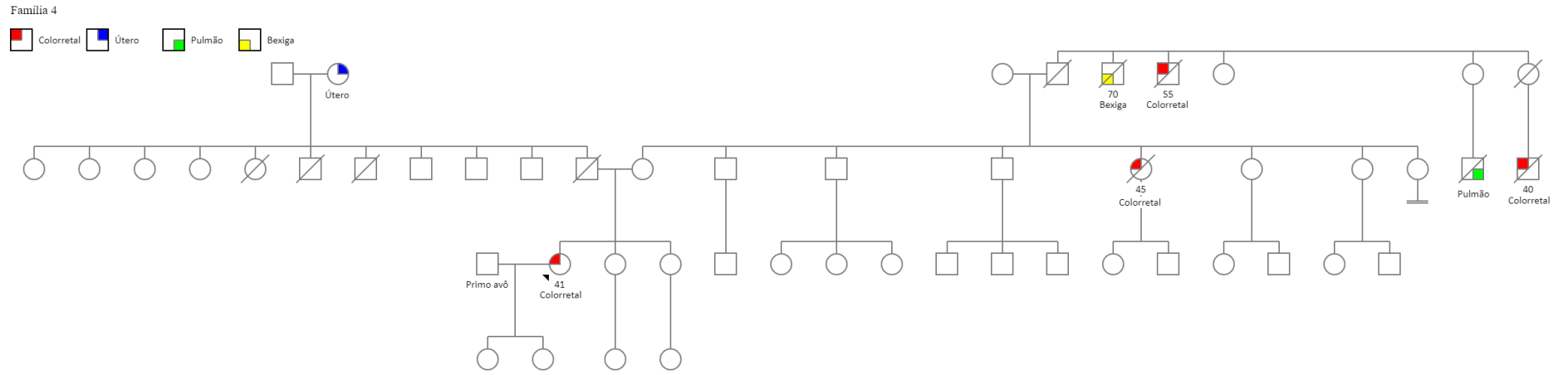


Família 2

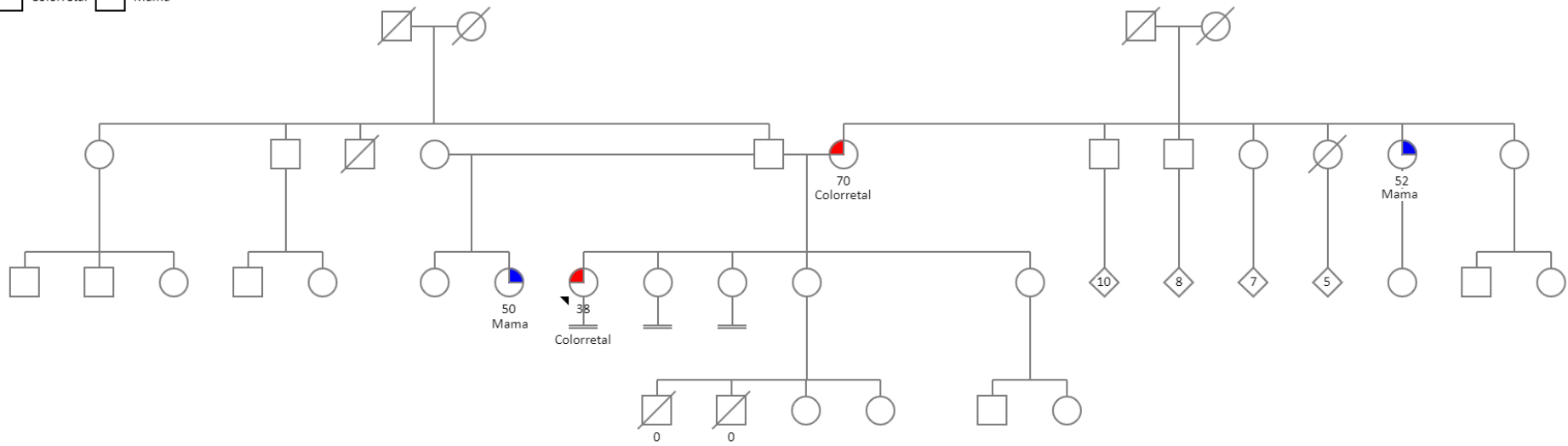


Família 3



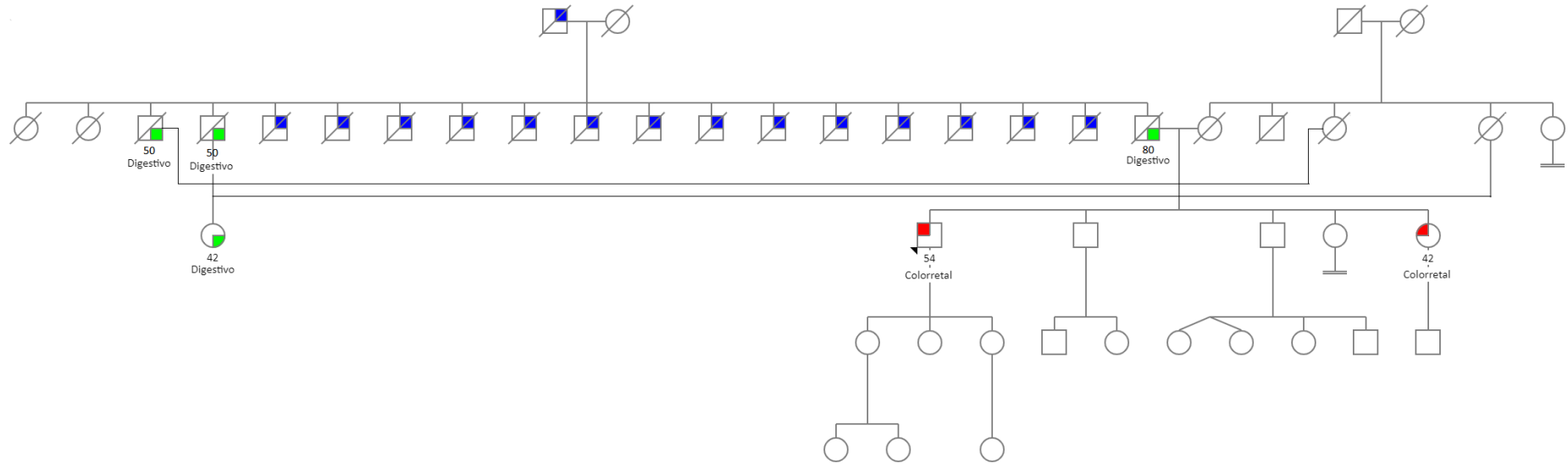


Familia 5

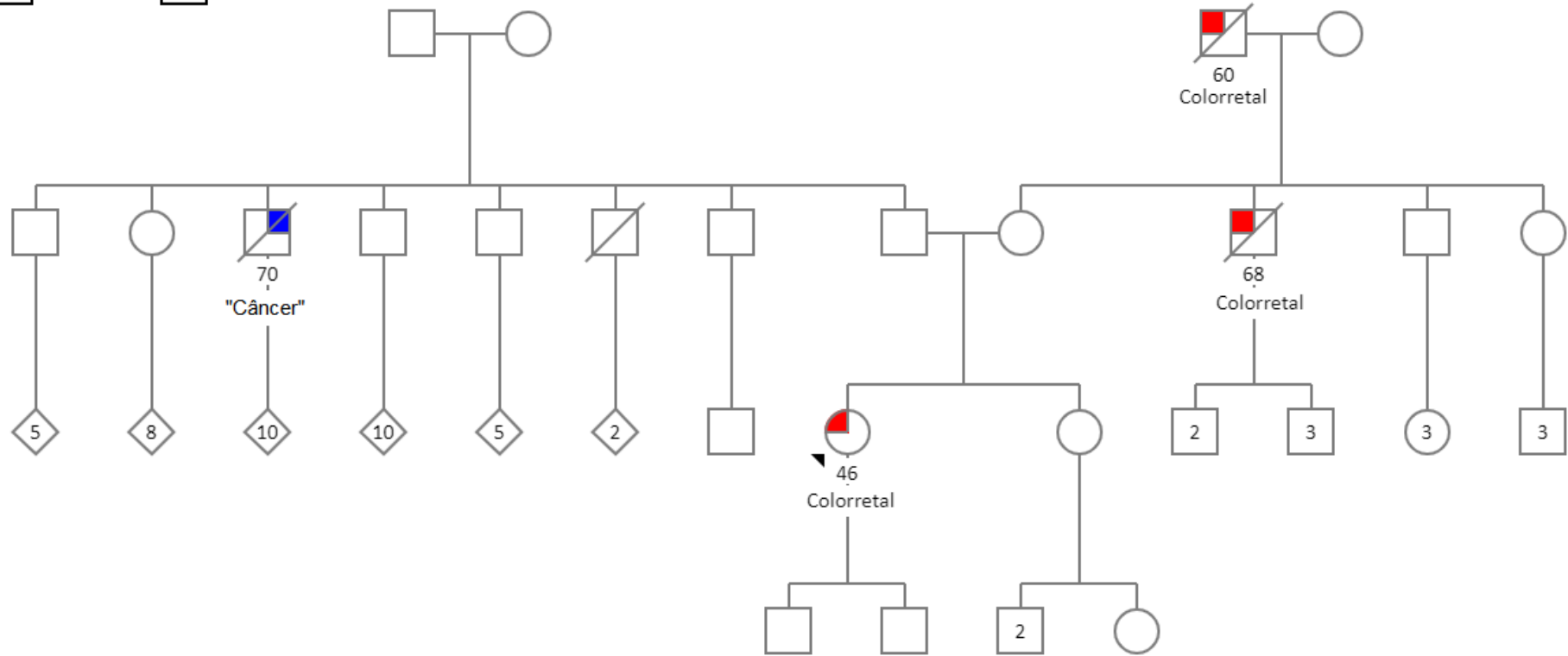
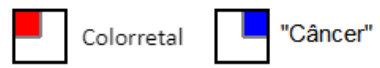


Familia 6

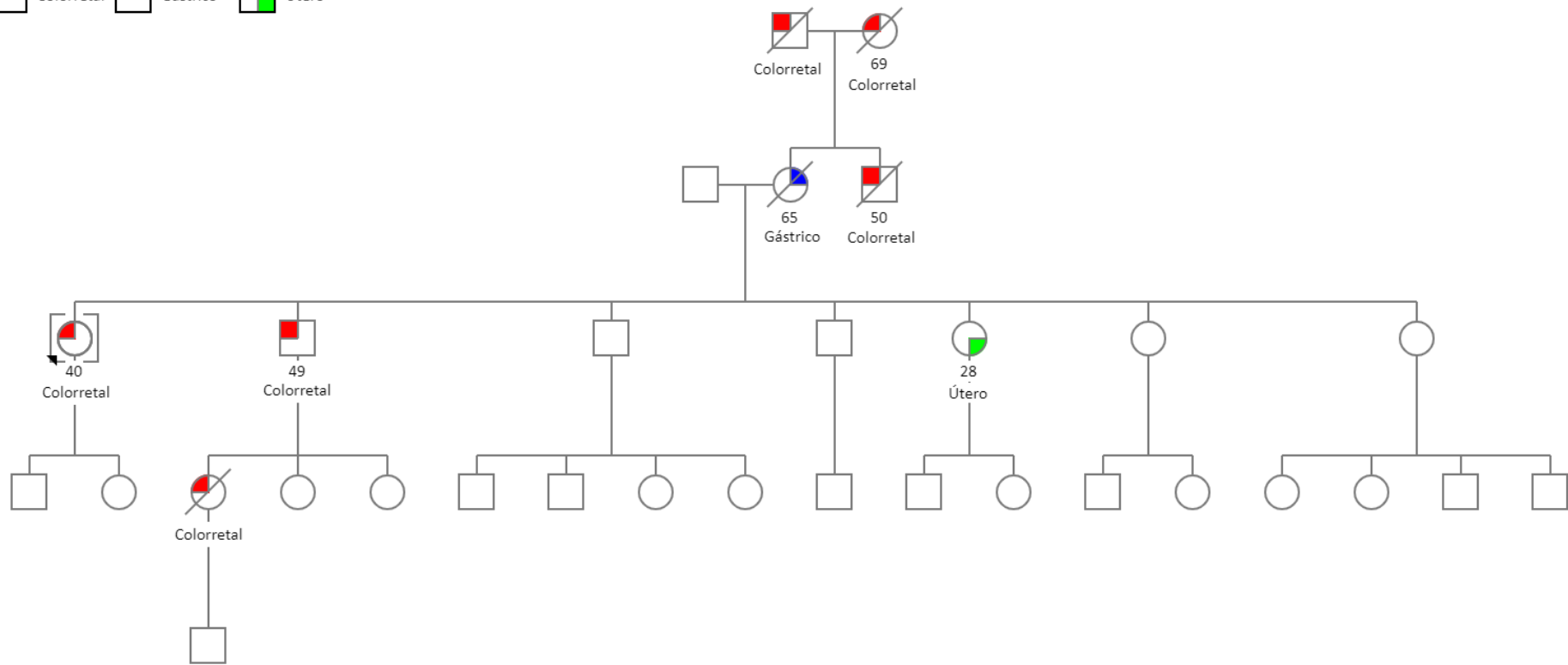
Colorretal "Problemas estomacais" Digestivo



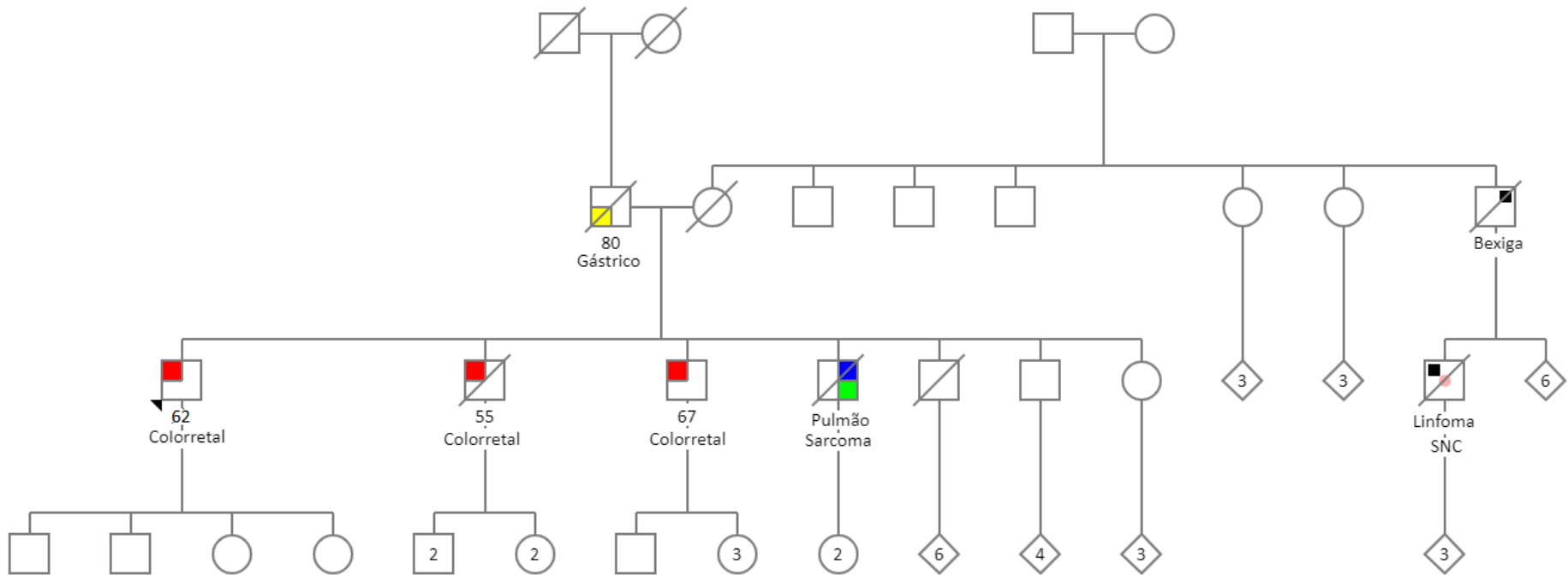
Família 7



Familia 8

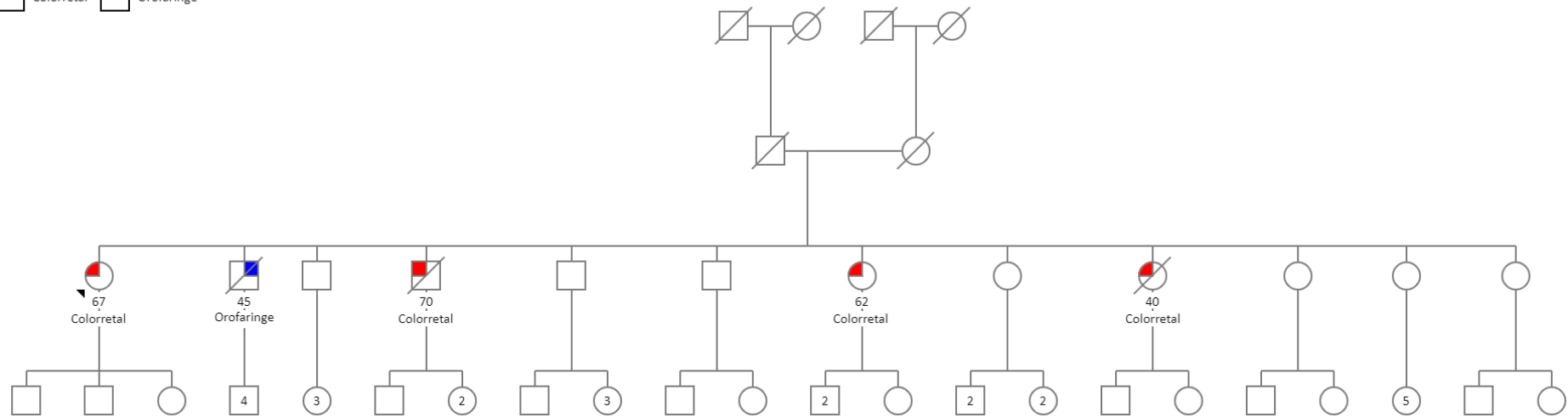


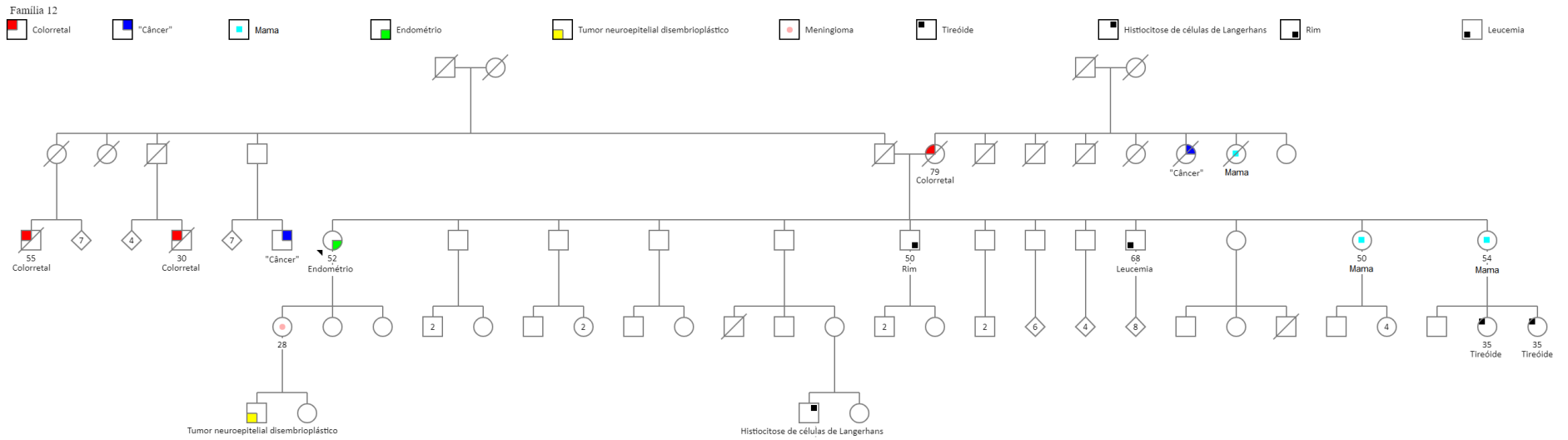
Família 9



Familia 11

Colorretal Orofaringe



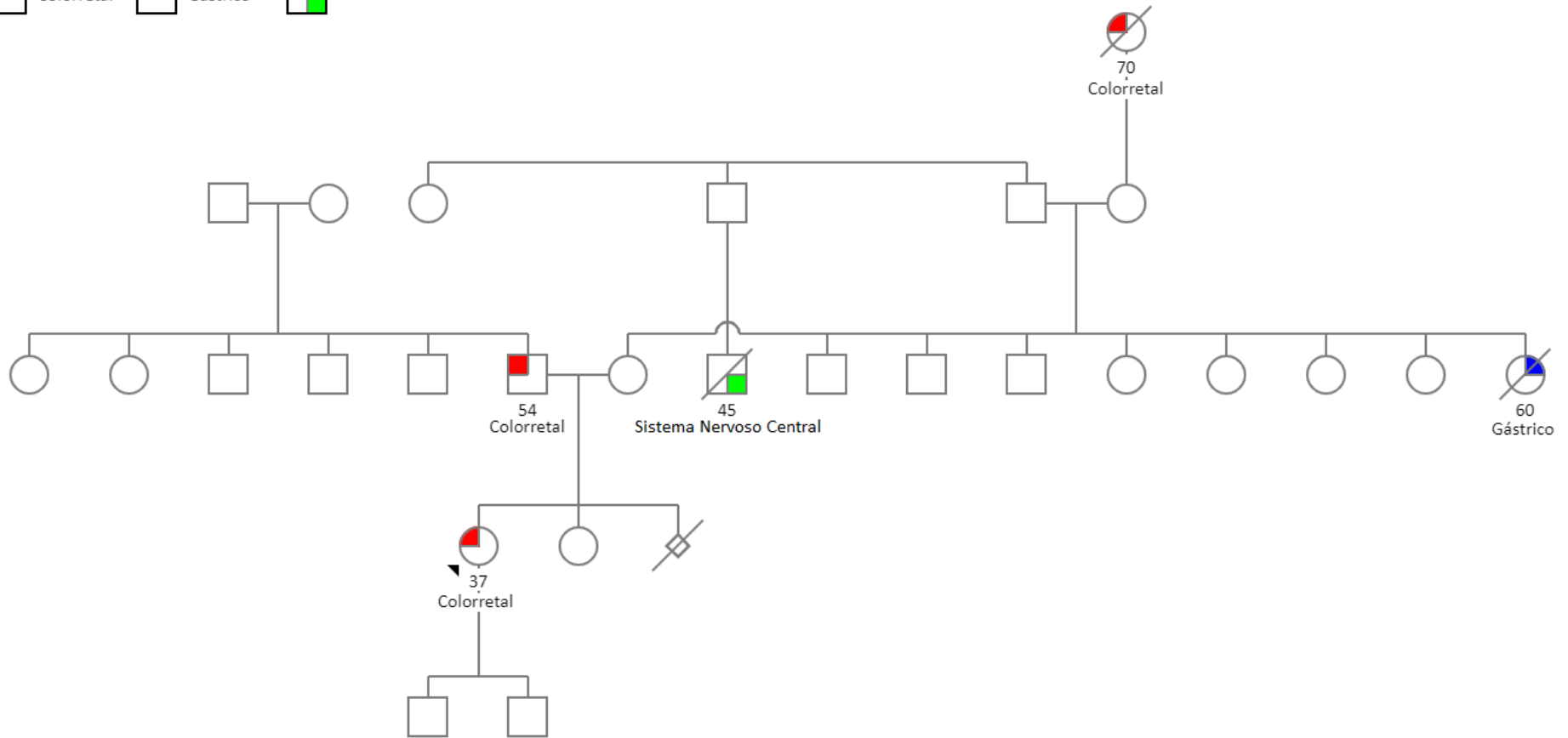


Família 13

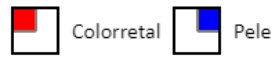
Colorretal

 Gástrico

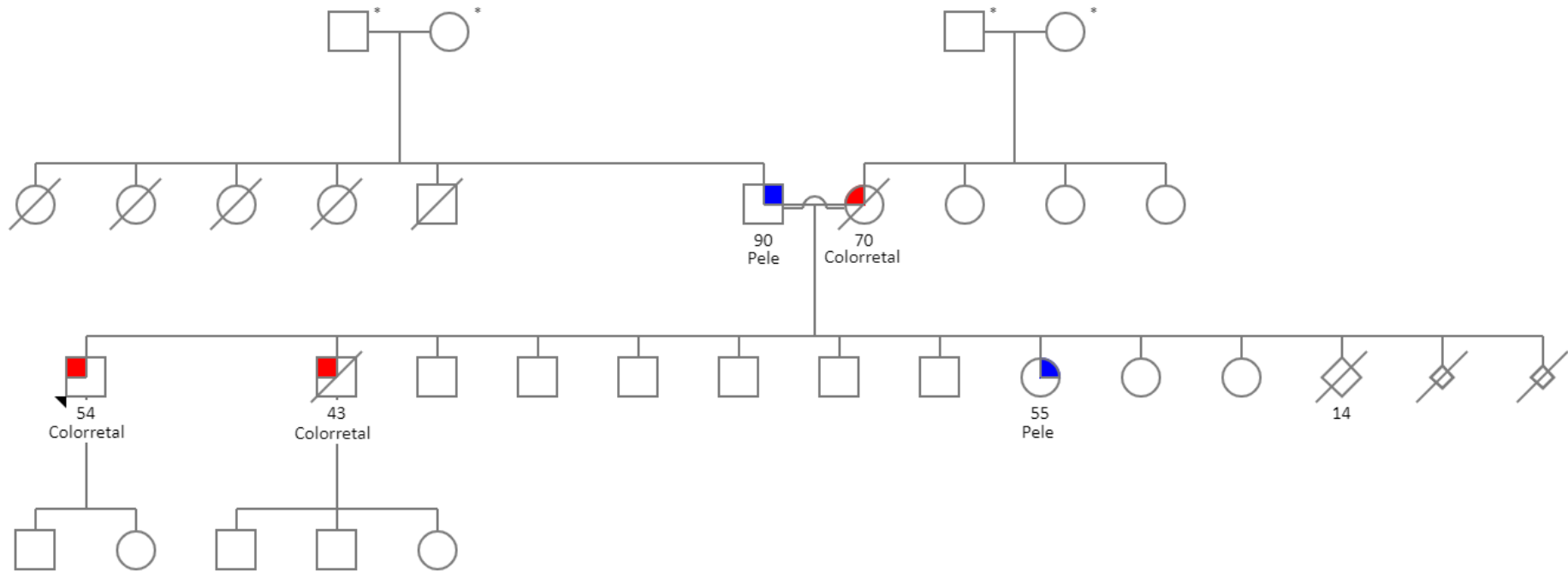
 Sistema Nervoso Central



Família 14



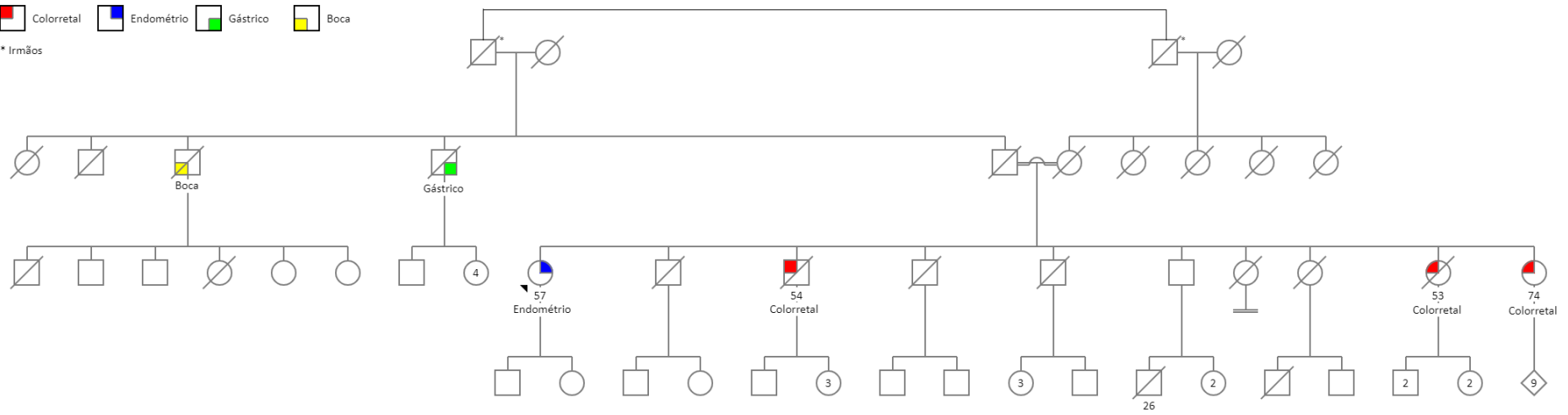
* Apresentam grau de parentesco desconhecido.



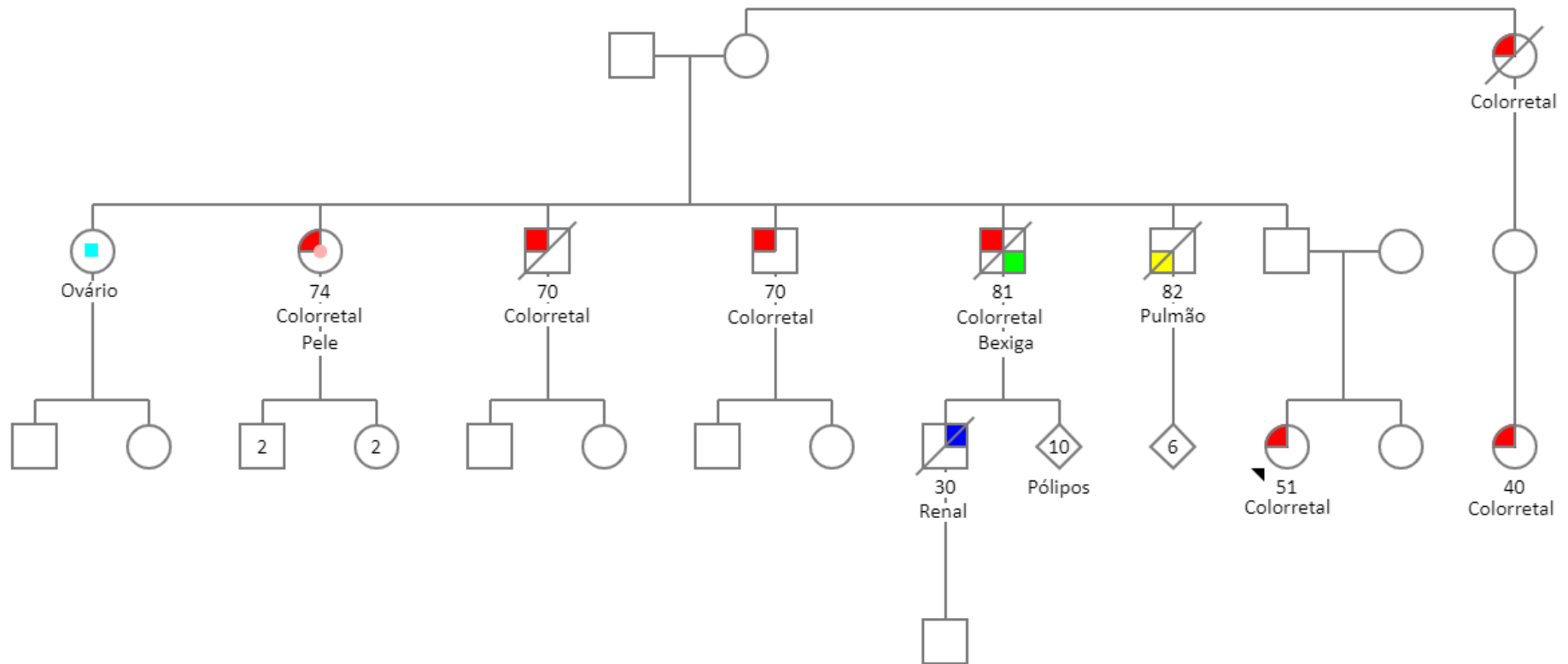
Família 15

Colorretal
 Endométrio
 Gástrico
 Boca

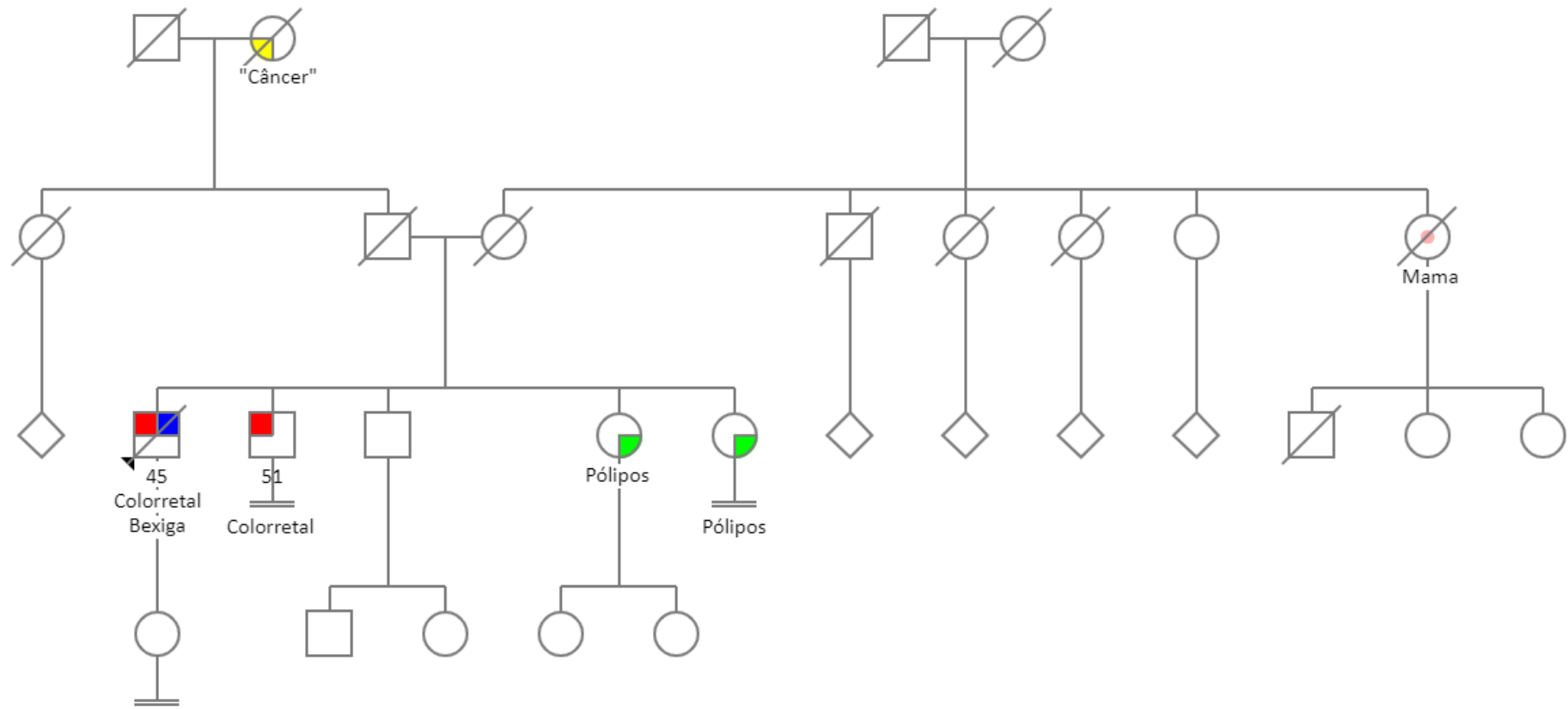
* Irmãos



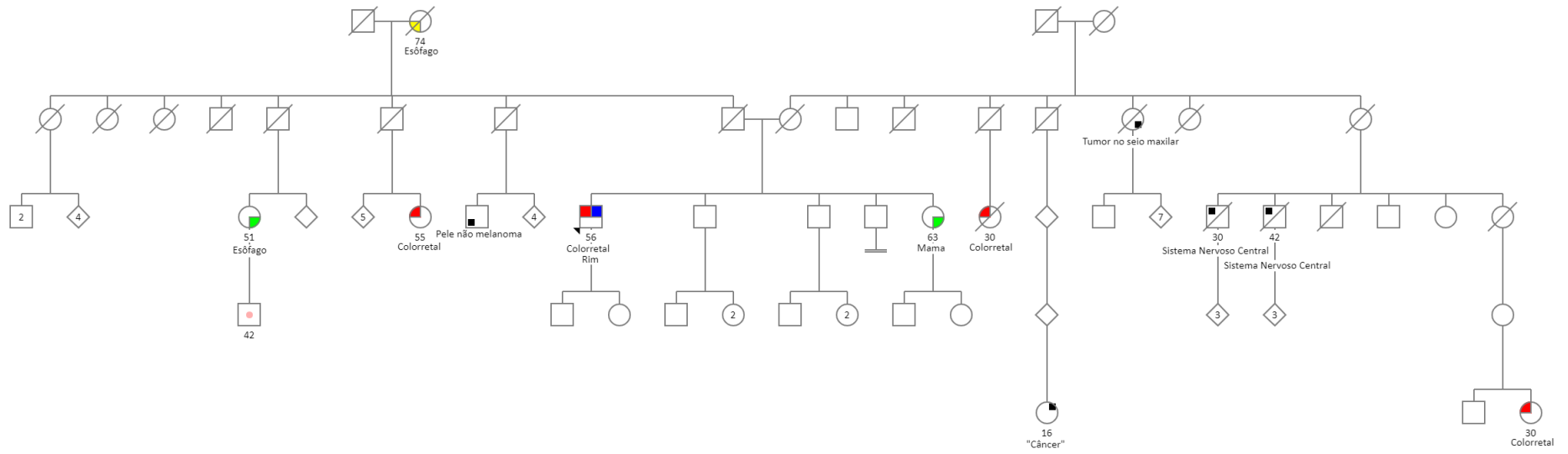
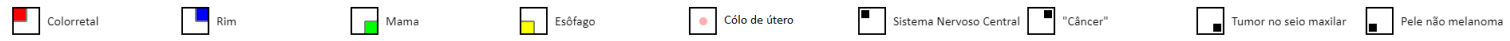
Família 16



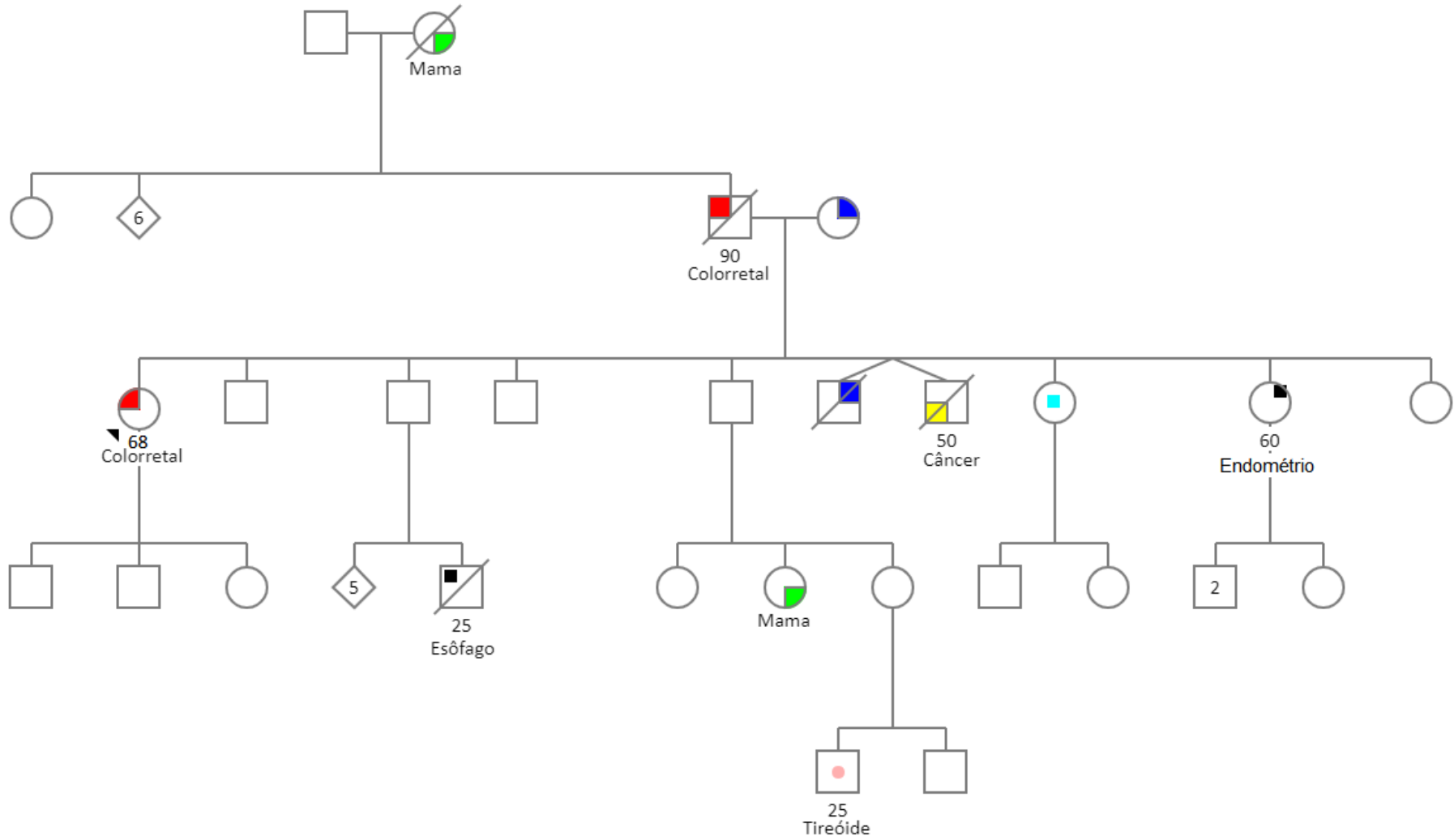
Família 17



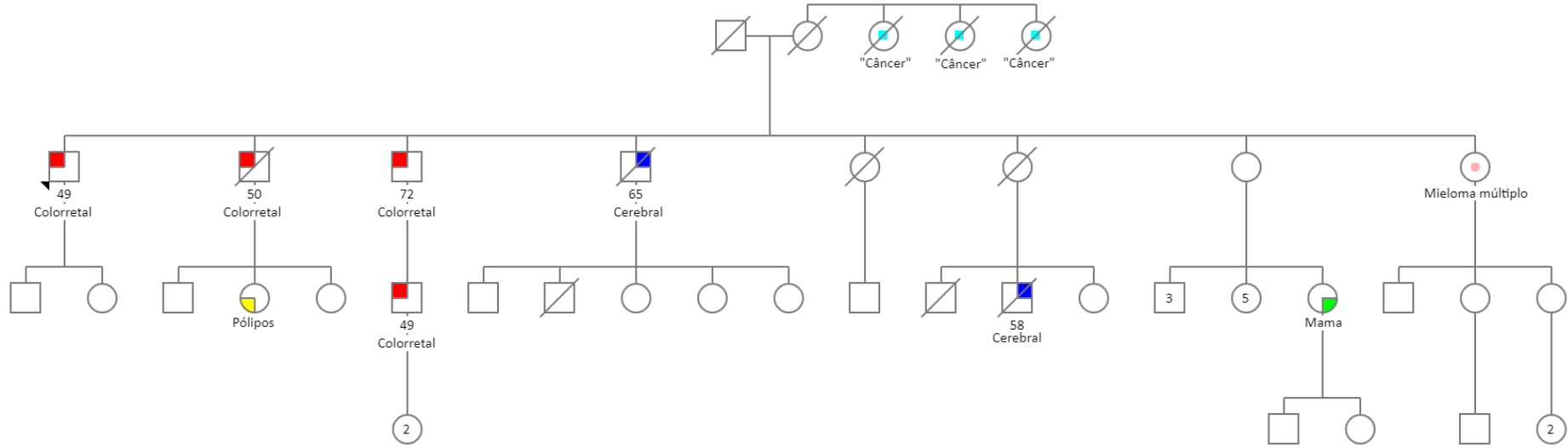
Familia 18



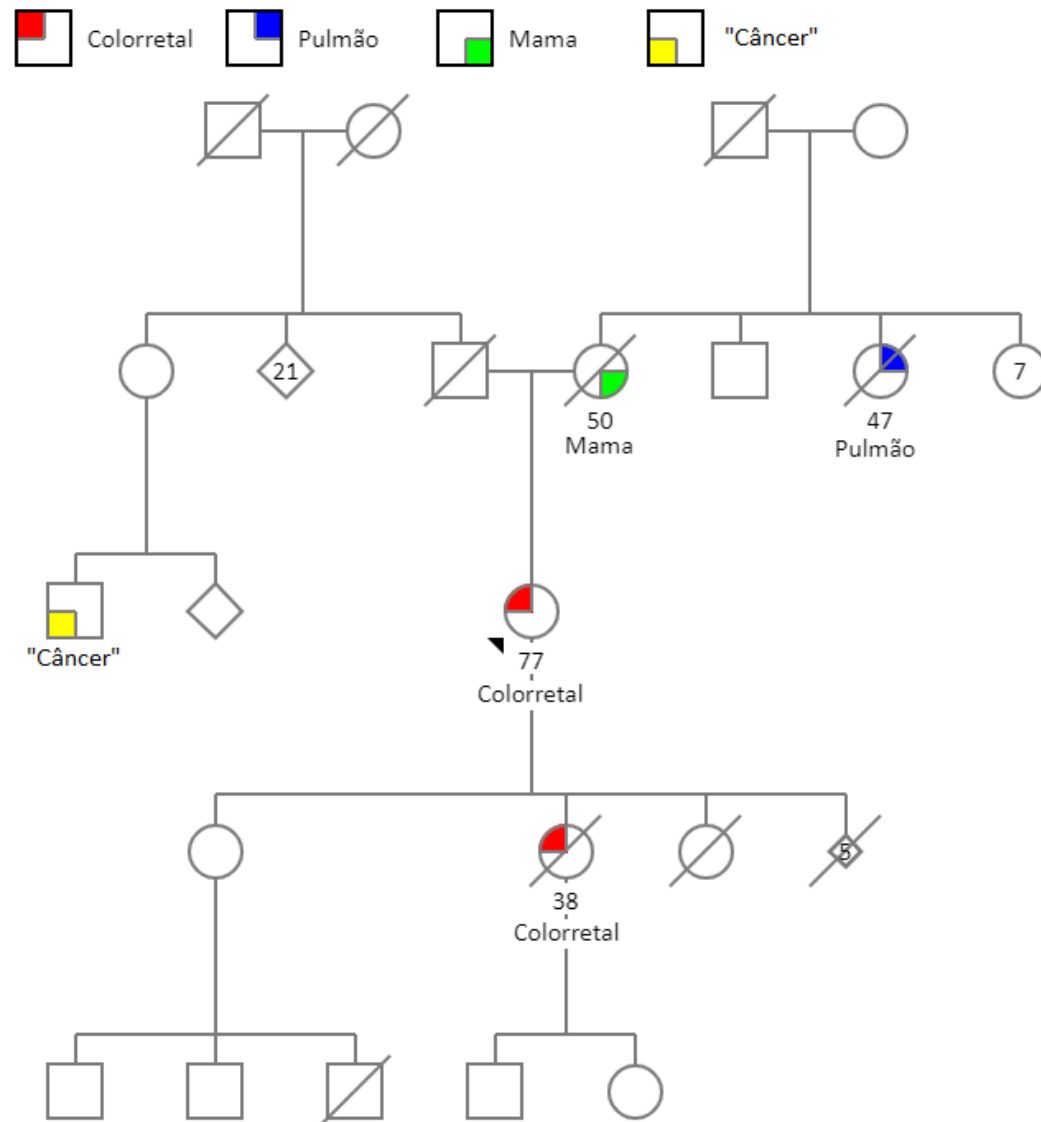
Família 20



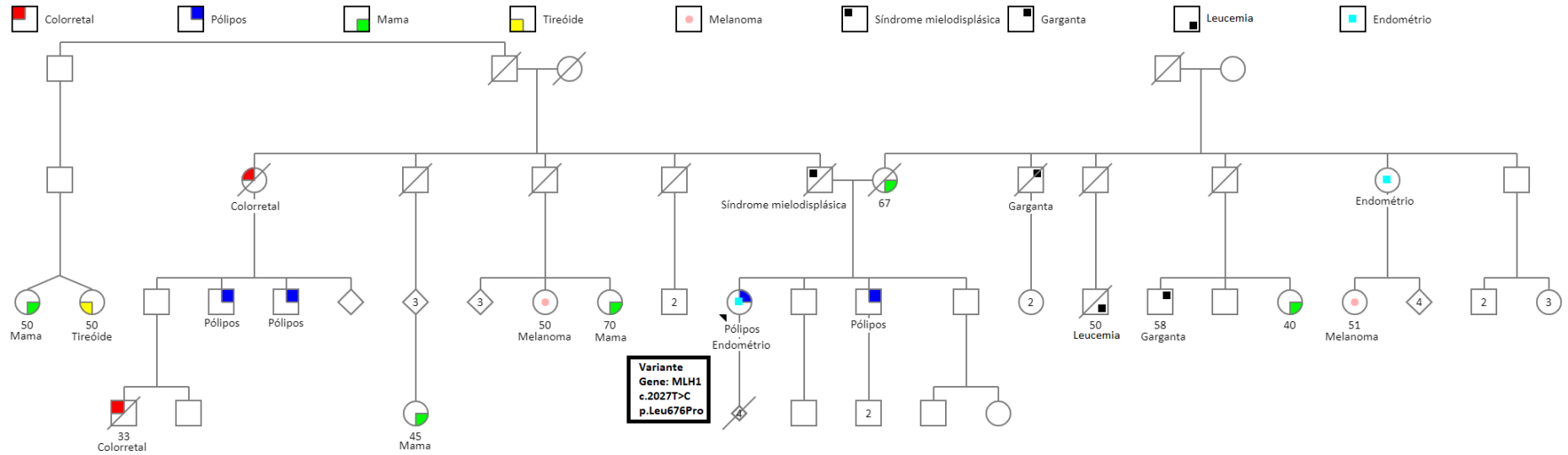
Familia 21



Família 22

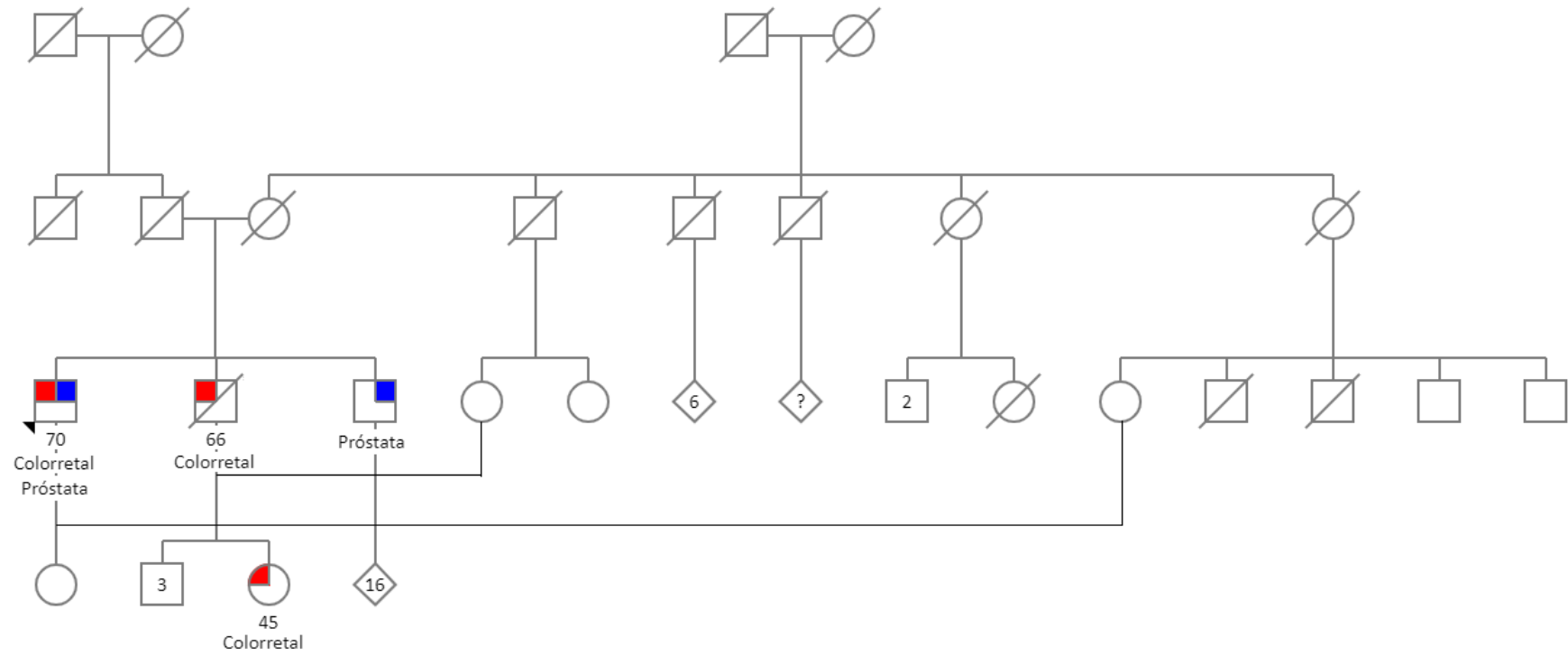


Familia 23

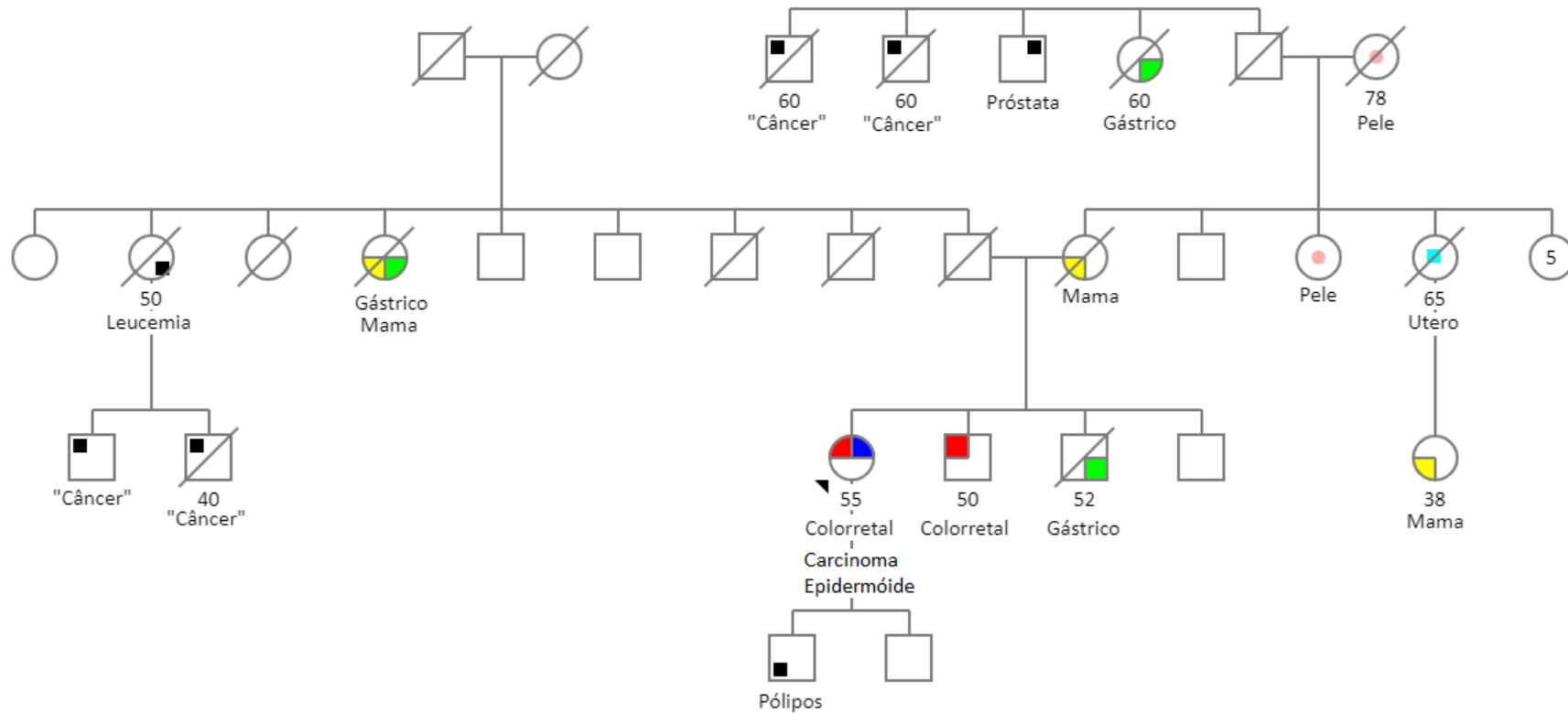


Família 24


 Colorectal Próstata

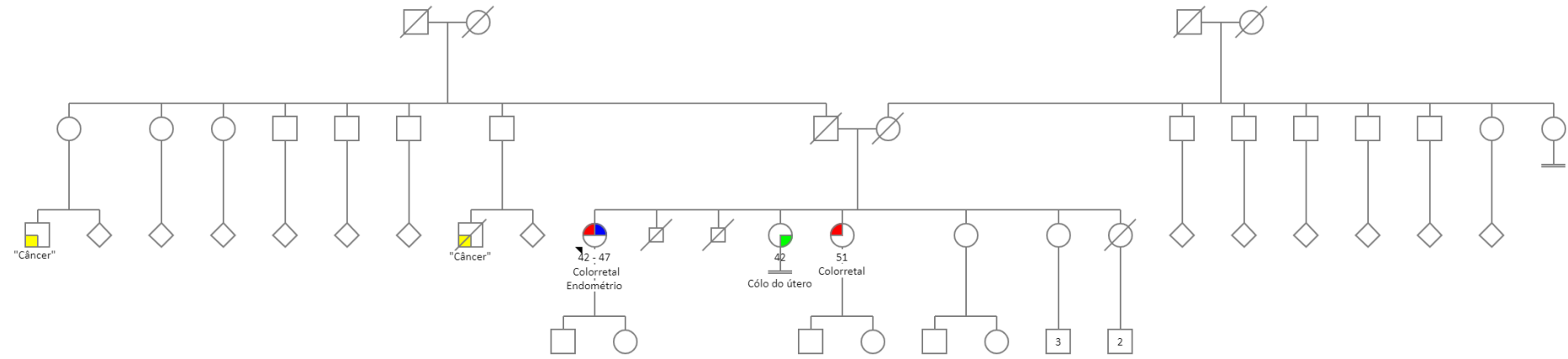


Família 25

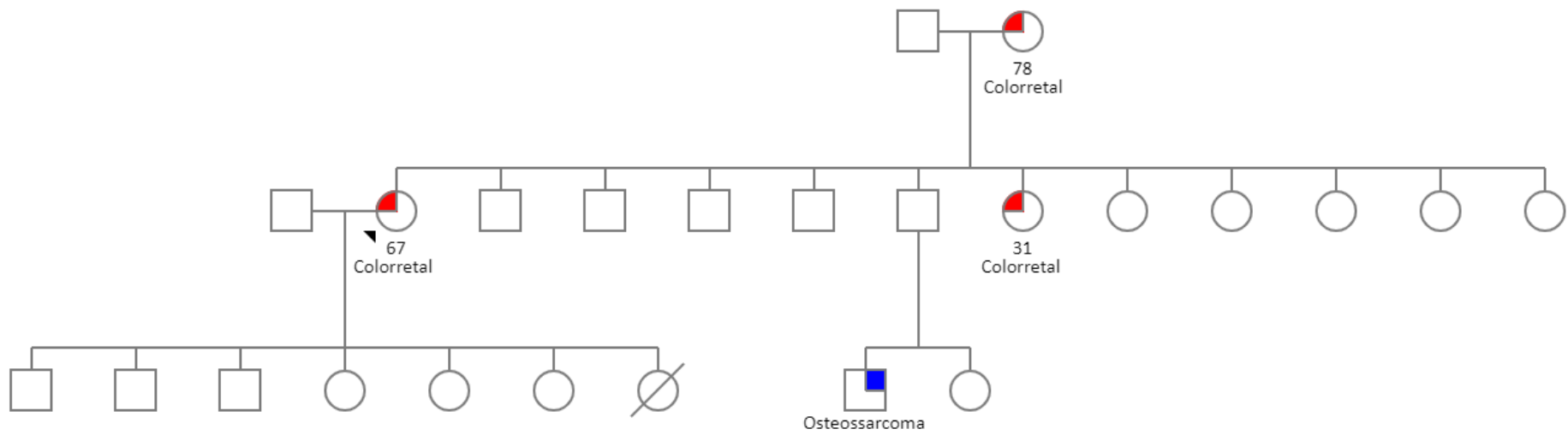
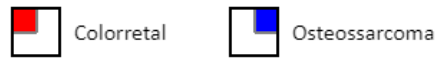


Família 26

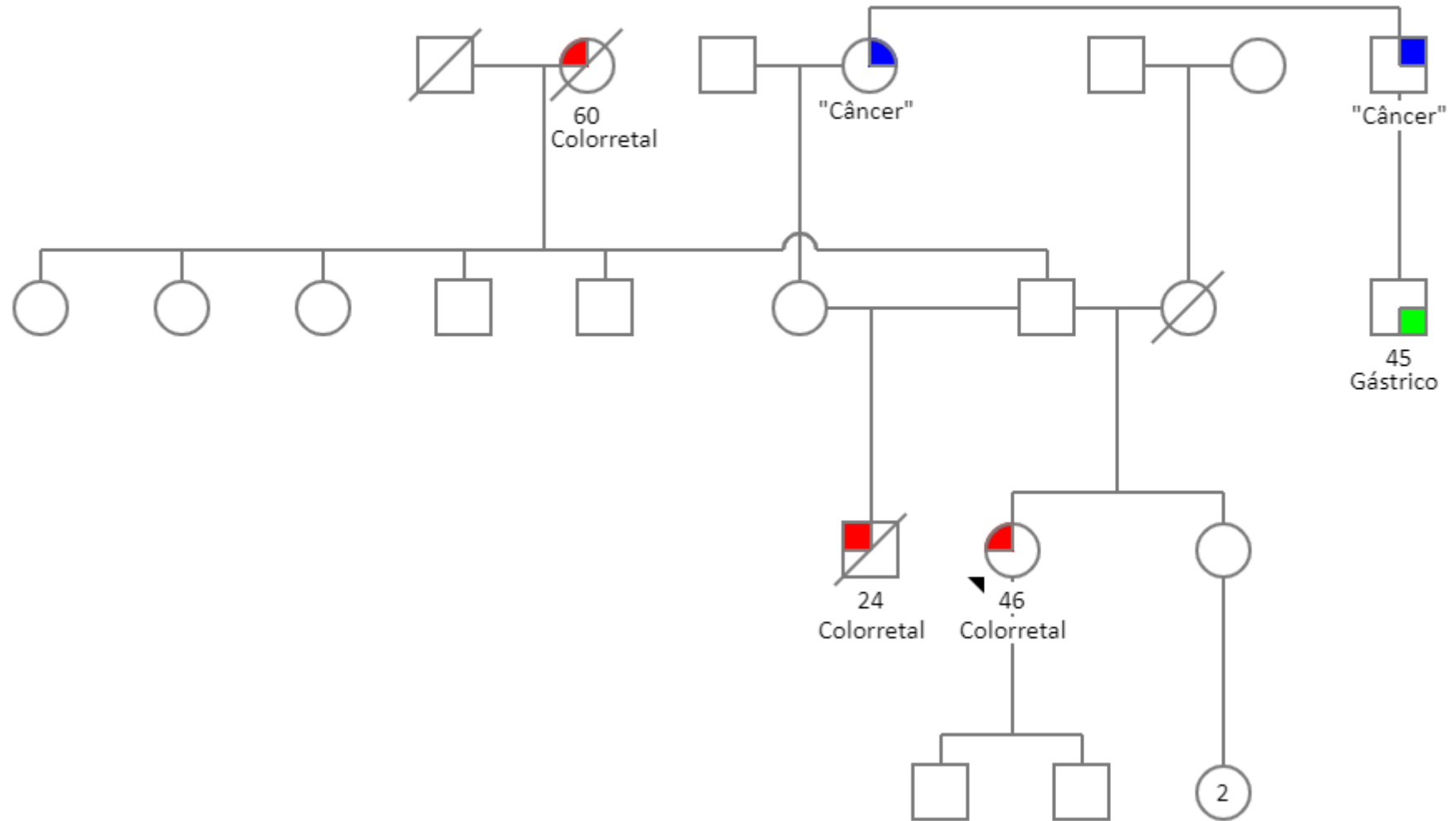
Colorretal
 Endométrio
 Cólo do útero
 "Câncer"



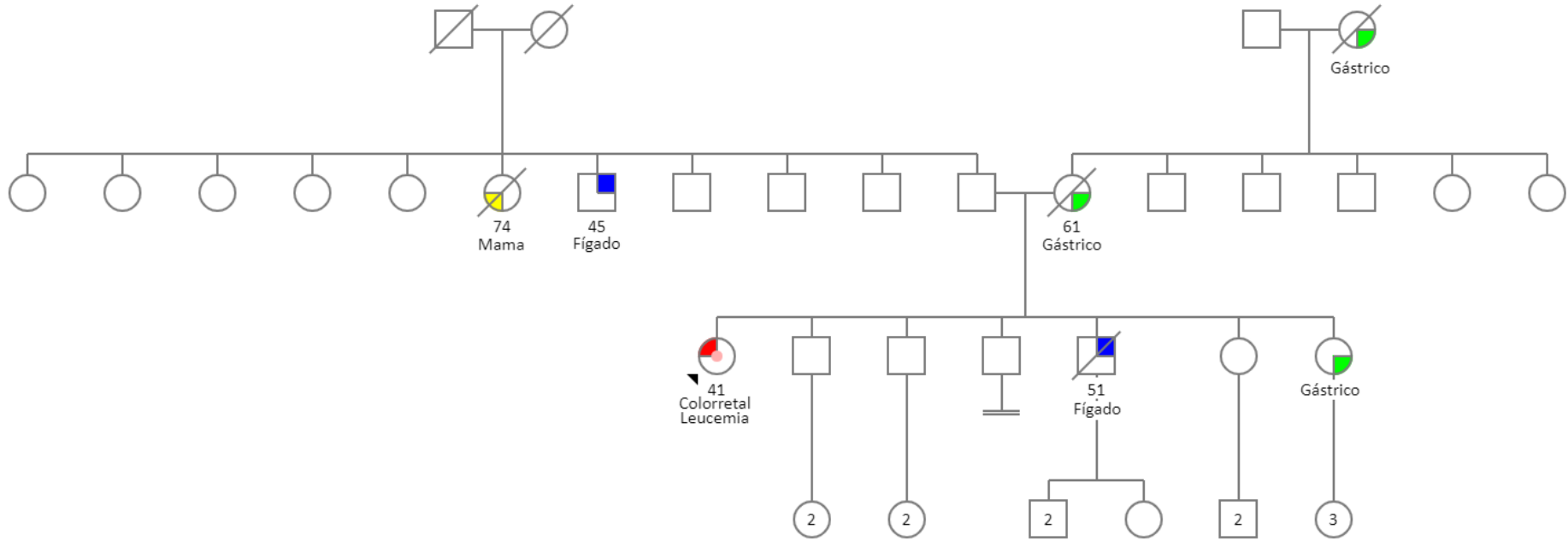
Família 27



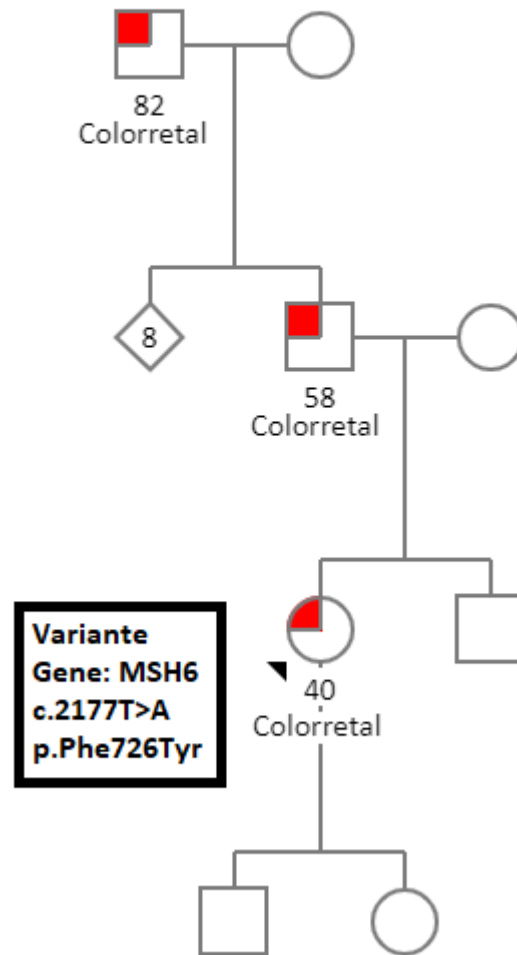
Família 28



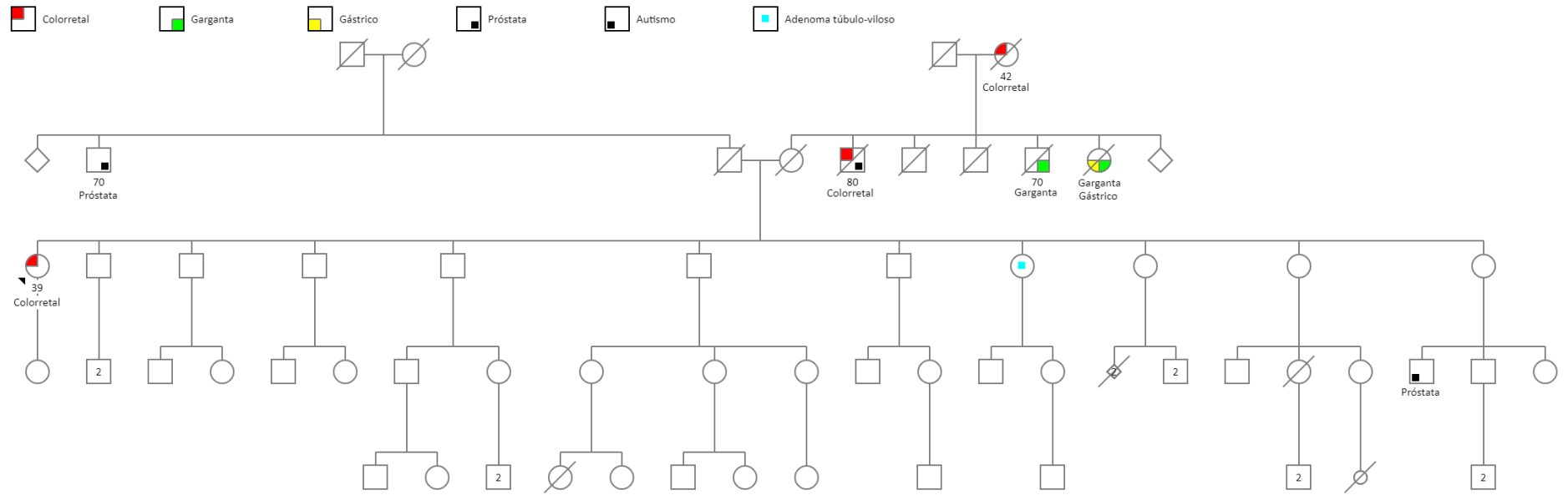
Familia 29



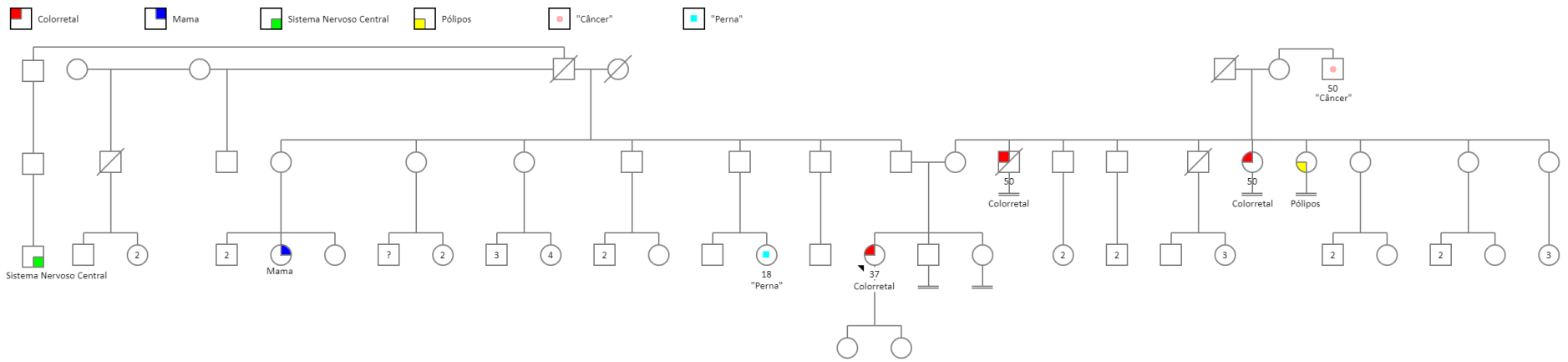
Família 30



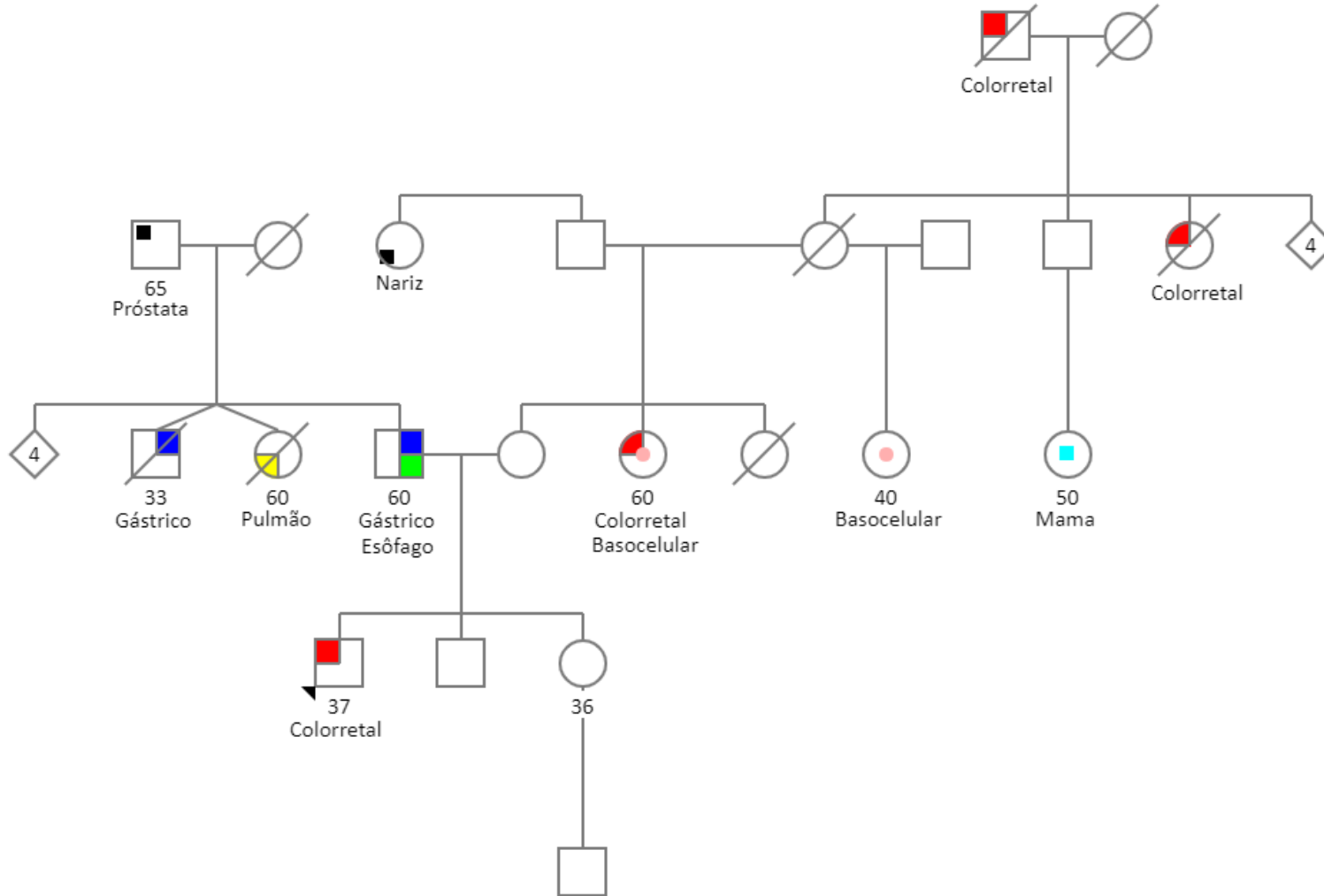
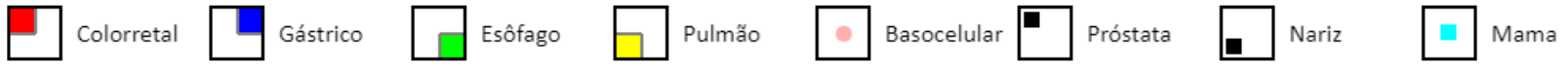
Familia 31



Família 32



Família 33



Anexo C: Variantes classe III

Variantes exônicas em genes relacionados à câncer hereditário

Gene	c.	p.	ClinVar*	REVEL	M-CAP
KIF1B	c.2365G>A	p.Ala789Thr	Não relatada	0,382	0,146809
PTCH2	c.3473C>G	p.Thr1158Ser	Significado Incerto	0,211	0,100797
PTCH2	c.704G>A	p.Arg235Gln	Significado Incerto	0,371	0,068779
RAD54L	c.604C>T	p.Arg202Cys	Não relatada	0,714	0,153277
RNASEL	c.770G>C	p.Arg257Thr	Não relatada	0,167	0,030752
RNASEL	c.196G>A	p.Ala66Thr	Não relatada	0,714	0,321082
ALK	c.2577G>C	p.Glu859Asp	Conflito	0,426	0,259935
ALK	c.361C>T	p.Arg121Trp	Não relatada	0,017	0,039494
ERCC3	c.2111C>T	p.Ser704Leu	Não relatada	0,228	0,102902
MSH6	c.1787T>A	p.Phe596Tyr	Significado Incerto	0,678	0,190663
ATR	c.2306T>A	p.Leu769Gln	Não relatada	0,422	0,066746
MLH1	c.1304T>C	p.Leu435Pro	Significado Incerto	0,917	0,473622
TGFBR2	c.373G>A	p.Glu125Lys	Não relatada	0,343	0,04892
XPC	c.2404G>A	p.Gly802Ser	Não relatada	0,383	0,087328
XPC	c.1001C>A	p.Pro334His	Patogênica	0,078	Indisponível
SMARCAD1	c.1031G>A	p.Arg344His	Não relatada	0,241	0,035644
NSD1	c.4949A>G	p.Asn1650Ser	Não relatada	0,24	0,028268
PDGFRB	c.2756G>A	p.Arg919Gln	Não relatada	0,434	0,084265
PDGFRB	c.1223C>G	p.Ser408Cys	Não relatada	0,498	0,127493
SDHA	c.1676A>G	p.Glu559Gly	Significado Incerto	0,355	0,348786
SDHA	c.1687G>A	p.Val563Met	Significado Incerto	0,484	0,289257
POLH	c.40A>G	p.Met14Val	Não relatada	0,848	0,147301
POLH	c.1231A>G	p.Lys411Glu	Provavelmente Patogênica	0,192	Indisponível
SASH1	c.2795G>A	p.Arg932Gln	Não relatada	0,558	0,081689
MCM4	c.526C>T	p.Pro176Ser	Não relatada	0,202	0,054439
MSR1	c.1105C>T	p.Arg369Trp	Não relatada	0,095	0,029174
TEX15	c.647C>T	p.Ser216Phe	Não relatada	Indisponível	Indisponível
WRN	c.436A>G	p.Lys146Glu	Significado Incerto	0,433	0,09425

JAK2	c.802G>A	p.Gly268Ser	Não relatada	0,68	0,100005
PTCH1	c.2689A>G	p.Ile897Val	Significado Incerto	0,241	0,071401
ANKRD26	c.4246G>C	p.Gly1416Arg	Não relatada	0,187	0,035906
ERCC6	c.3704A>G	p.Asp1235Gly	Não relatada	0,114	0,0327
AIP	c.124G>A	p.Val42Met	Conflito	0,805	0,645858
AIP	c.607G>A	p.Asp203Asn	Não relatada	0,698	0,241892
ATM	c.1236G>T	p.Trp412Cys	Significado Incerto	0,494	0,496258
ATM	c.6257A>T	p.Tyr2086Phe	Significado Incerto	0,108	0,046351
CEP57	c.833_834ins	p.Val278fs	Patogênica	Indisponível	Indisponível
MRE11	c.1475C>A	p.Ala492Asp	Conflito	0,234	0,05513
POLE	c.3133G>A	p.Asp1045Asn	Não relatada	0,326	0,030574
RASAL1	c.2020G>A	p.Ala674Thr	Não relatada	0,11	0,191067
RASAL1	c.1403T>C	p.Phe468Ser	Não relatada	0,939	0,486553
RASAL1	c.904C>T	p.Arg302Cys	Não relatada	0,38	0,070256
SH2B3	c.188G>A	p.Arg63Gln	Não relatada	0,237	0,083138
SH2B3	c.587G>T	p.Arg196Leu	Não relatada	0,317	0,05925
ERCC5	c.56C>T	p.Pro19Leu	Não relatada	0,312	0,071367
LIG4	c.2467T>C	p.Tyr823His	Não relatada	0,377	0,051129
SERPINA1	c.514G>A	p.Gly172Arg	Não relatada	0,47	0,030488
FAN1	c.80C>T	p.Ser27Phe	Não relatada	0,22	0,047098
FAN1	c.149T>G	p.Met50Arg	Não relatada	0,761	0,122157
ACD	c.1335G>C	p.Gln445His	Não relatada	0,059	0,025387
ARMC5	c.2192C>G	p.Pro731Arg	Não relatada	0,063	0,034354
TSC2	c.3340C>G	p.Pro1114Ala	Significado Incerto	0,67	0,666093
HNF1B	c.226G>T	p.Gly76Cys	Conflito	0,915	0,926522
PRKAR1A	c.1012T>G	p.Ter338Glu	Não relatada	Indisponível	Indisponível
TMC8	c.934G>A	p.Gly312Arg	Não relatada	0,285	0,040069
TOP3A	c.118C>T	p.Arg40Ter	Patogênica	0,091	Indisponível
SETBP1	c.3962G>A	p.Arg1321His	Não relatada	0,354	0,052784
ATP4A	c.2039A>T	p.Gln680Leu	Não relatada	0,814	0,382493
EGLN2	c.235G>A	p.Gly79Ser	Não relatada	0,093	0,048

ERCC2	c.2114A>G	p.Asn705Ser	Não relatada	0,26	0,036931
ERCC2	c.648C>G	p.Asp216Glu	Não relatada	0,587	0,250278
TRIM28	c.1073A>C	p.Asn358Thr	Não relatada	0,054	0,037188
TRIM28	c.2441C>T	p.Pro814Leu	Não relatada	0,208	0,063752
GNAS	c.484A>G	p.Met162Val	Não relatada	0,203	0,094947
GNAS	c.1462G>A	p.Ala488Thr	Não relatada	0,156	0,734804

*Consulta em 12/2019, 01/2020, 02/2020

Variantes exônicas em genes de Reparo

Gene	c.	p.	ClinVar*	REVEL	M-CAP
DCLRE1B	c.293A>G	p.Asn98Ser	Não relatada	0,71	0,0266
RAD54L	c.604C>T	p.Arg202Cys	Não relatada	0,714	0,15328
ERCC3	c.2111C>T	p.Ser704Leu	Não relatada	0,228	0,1029
MSH6	c.1787T>A	p.Phe596Tyr	Significado Incerto	0,678	0,19066
HLTF	c.2437C>T	p.Pro813Ser	Não relatada	0,277	0,11726
MLH1	c.1304T>C	p.Leu435Pro	Significado Incerto	0,917	0,47362
PARP3	c.806C>T	p.Pro269Leu	Não relatada	0,52	0,13159
PARP3	c.1462C>T	p.Gln488Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
SETMAR	c.532G>C	p.Val178Leu	Não relatada	0,386	0,10354
TOPBP1	c.2879C>A	p.Ser960Tyr	Não relatada	0,451	0,11732
XPC	c.2404G>A	p.Gly802Ser	Não relatada	0,383	0,08733
POLN	c.2509delC	p.Gln837fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
RAD1	c.270A>T	p.Leu90Phe	Não relatada	0,386	0,02567
FANCE	c.31G>A	p.Ala11Thr	Significado Incerto	0,028	0,04426
MSH5	c.859C>T	p.Arg287Cys	Não relatada	0,753	0,14541
MSH5	c.1738T>G	p.Cys580Gly	Não relatada	0,486	0,02897
POLH	c.40A>G	p.Met14Val	Não relatada	0,848	0,1473
NEIL2	c.772C>T	p.Gln258Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
RAD21	c.1892T>C	p.Ile631Thr	Não relatada	0,382	0,08152
RAD21	c.1892T>C	p.Ile631Thr	Não relatada	0,382	0,08152
WRN	c.436A>G	p.Lys146Glu	Significado Incerto	0,433	0,09425
DNTT	c.1121T>G	p.Leu374Arg	Não relatada	0,652	0,13089
POLL	c.133G>A	p.Gly45Arg	Não relatada	0,477	0,06531
POLL	c.715T>C	p.Trp239Arg	Não relatada	0,724	0,16304
ATM	c.1236G>T	p.Trp412Cys	Significado Incerto	0,494	0,49626
ATM	c.6257A>T	p.Tyr2086Phe	Significado Incerto	0,108	0,04635
POLE	c.3133G>A	p.Asp1045Asn	Não relatada	0,326	0,03057
ERCC5	c.56C>T	p.Pro19Leu	Não relatada	0,312	0,07137
APEX1	c.433G>A	p.Gly145Ser	Não relatada	0,776	0,34664
FAN1	c.149T>G	p.Met50Arg	Não relatada	0,761	0,12216
FANCI	c.1111A>G	p.Ser371Gly	Conflito	0,505	0,06574
POLG	c.2354G>A	p.Gly785Asp	Significado Incerto	0,331	0,11264
POLG	c.2207A>G	p.Asn736Ser	Conflito	0,483	0,04363
POLG	c.2145A>T	p.Gln715His	Significado Incerto	0,292	0,06104
POLG	c.376C>T	p.Arg126Cys	Não relatada	0,385	0,50517
MPG	c.311G>A	p.Arg104Gln	Não relatada	0,416	0,03431
RDM1	c.52_53del	p.Gln18fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
TOP3A	c.118C>T	p.Arg40Ter	Patogênica	0,091	Indisponível
RBBP8	c.298C>T	p.Arg100Trp	Patogênica	0,753	0,05147
RBBP8	c.1487G>A	p.Arg496Gln	Não relatada	0,199	0,04174
ERCC2	c.2114A>G	p.Asn705Ser	Não relatada	0,26	0,03693
ERCC2	c.648C>G	p.Asp216Glu	Não relatada	0,587	0,25028
LIG1	c.2635C>T	p.Arg879Cys	Não relatada	0,786	0,099654
CHAF1B	c.947G>T	p.Arg316Leu	Não relatada	0,644	0,22171

*Consulta em 12/2019, 01/2020, 02/2020

Variantes exônicas em genes relacionados à carcinogênese

Gene	c.	p.	ClinVar*	REVEL	M-CAP
<i>A1CF</i>	c.826C>T	p.Arg276Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>ABCB1</i>	c.3770A>C	p.His1257Pro	Não relatada	0,836	0,256695
<i>ABCB1</i>	c.3322T>C	p.Trp1108Arg	Não relatada	0,732	0,230591
<i>ABTB1</i>	c.490C>T	p.Arg164Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>ABTB1</i>	c.71T>C	p.Phe24Ser	Não relatada	0,913	0,474665
<i>AEN</i>	c.103C>T	p.Arg35Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>AFF1</i>	c.647C>G	p.Ser216Cys	Não relatada	0,313	0,154573
<i>AFF3</i>	c.2116_2117del	p.Leu706fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>AFF3</i>	c.2112_2113insAG	p.Asp705fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>AIM2</i>	c.712dupA	p.Thr238fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>AIP</i>	c.607G>A	p.Asp203Asn	Não relatada	0,698	0,241892
<i>AIP</i>	c.124G>A	p.Val42Met	Conflito	0,805	0,645858
<i>AKAP9</i>	c.10426A>T	p.Arg3476Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>ALDH2</i>	c.343G>A	p.Asp115Asn	Não relatada	0,365	0,060168
<i>ANO1</i>	c.2516A>G	p.Asn839Ser	Não relatada	0,564	0,086185
<i>ARHGEF10</i>	c.3379C>T	p.Arg1127Cys	Não relatada	0,479	0,23691
<i>ASPSR1</i>	c.934_946del	p.Pro312fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>ATM</i>	c.1236G>T	p.Trp412Cys	Significado incerto	0,494	0,496258
<i>ATM</i>	c.6257A>T	p.Tyr2086Phe	Significado incerto	0,108	0,046351
<i>ATP4A</i>	c.2039A>T	p.Gln680Leu	Não relatada	0,814	0,382493
<i>ATP4A</i>	c.2275A>G	p.Met759Val	Não relatada	0,861	0,217854
<i>BAD</i>	c.221G>A	p.Ser74Asn	Não relatada	0,209	0,048689
<i>BCL9</i>	c.3674G>A	p.Arg1225Gln	Não relatada	0,286	0,045771
<i>CACNA1D</i>	c.3557G>A	p.Arg1186Gln	Não relatada	0,782	0,223695
<i>CACNA1D</i>	c.3185A>G	p.Tyr1062Cys	Não relatada	0,948	0,372564
<i>CADM3</i>	c.178C>G	p.Leu60Val	Não relatada	0,087	0,093218
<i>CASR</i>	c.74G>A	p.Arg25Gln	Significado incerto	0,542	0,132106
<i>CBLC</i>	c.200G>A	p.Gly67Glu	Não relatada	0,265	0,219271
<i>CD274</i>	c.95C>G	p.Pro32Arg	Não relatada	0,121	0,093327
<i>CDH23</i>	c.361C>T	p.Arg121Trp	Significado incerto	0,583	0,062861
<i>CDT1</i>	c.1373C>T	p.Ala458Val	Não relatada	0,463	0,146513
<i>CEBPA</i>	c.423C>A	p.His141Gln	Significado incerto	0,022	0,695009
<i>CEP57</i>	c.833_834ins	p.Val278fs	Patogênica	Indisponível	Indisponível
<i>CHAF1B</i>	c.947G>T	p.Arg316Leu	Não relatada	0,644	0,221705
<i>CHCHD7</i>	c.206C>T	p.Thr69Met	Não relatada	0,217	0,064883
<i>CIC</i>	c.4783T>C	p.Ser1595Pro	Significado incerto	0,293	0,353904
<i>COL1A1</i>	c.2467C>G	p.Pro823Ala	Significado incerto	0,706	0,37647
<i>COL3A1</i>	c.226A>G	p.Asn76Asp	Significado incerto	0,177	0,032859
<i>COL3A1</i>	c.560C>T	p.Thr187Ile	Conflito	0,187	0,063677
<i>CTBP1</i>	c.1075G>A	p.Ala359Thr	Não relatada	0,197	0,102204
<i>CTNND2</i>	c.587C>T	p.Pro196Leu	Não relatada	0,675	0,225518
<i>DCLRE1B</i>	c.293A>G	p.Asn98Ser	Não relatada	0,71	0,026601
<i>DDR1</i>	c.124A>G	p.Ile42Val	Não relatada	0,205	0,717166
<i>DFFB</i>	c.205C>G	p.Leu69Val	Não relatada	0,372	0,053516
<i>DKK4</i>	c.488C>T	p.Thr163Met	Não relatada	0,466	0,076299
<i>DNMT3B</i>	c.274C>T	p.Arg92Trp	Não relatada	0,528	0,148804
<i>DNMT3B</i>	c.73G>A	p.Gly25Arg	Significado incerto	0,477	0,219053
<i>DNTT</i>	c.1121T>G	p.Leu374Arg	Não relatada	0,652	0,130888
<i>DPH1</i>	c.292C>T	p.Arg98Cys	Não relatada	0,537	0,146259
<i>E2F7</i>	c.7G>T	p.Val3Leu	Não relatada	0,213	0,045625
<i>ECT2</i>	c.1072C>T	p.Gln358Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>EFL1</i>	c.1696A>C	p.Ile566Leu	Não relatada	0,33	0,048597
<i>EFS</i>	c.155T>A	p.Leu52Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>EGLN1</i>	c.454C>G	p.Arg152Gly	Não relatada	0,234	0,759045
<i>EHBP1</i>	c.1099C>T	p.Pro367Ser	Não relatada	0,295	0,055892

<i>ELL</i>	c.868C>T	p.Arg290Trp	Não relatada	0,427	0,284902
<i>EPN1</i>	c.1430C>T	p.Pro477Leu	Não relatada	0,27	0,70404
<i>ERBB2</i>	c.2689C>T	p.Arg897Trp	Não relatada	0,748	0,229027
<i>ERCC2</i>	c.648C>G	p.Asp216Glu	Não relatada	0,587	0,250278
<i>ERCC2</i>	c.2114A>G	p.Asn705Ser	Não relatada	0,26	0,036931
<i>ERCC3</i>	c.2111C>T	p.Ser704Leu	Não relatada	0,228	0,102902
<i>ERCC5</i>	c.56C>T	p.Pro19Leu	Não relatada	0,312	0,071367
<i>FAN1</i>	c.149T>G	p.Met50Arg	Não relatada	0,761	0,122157
<i>FANCE</i>	c.31G>A	p.Ala11Thr	Significado incerto	0,028	0,044257
<i>FANCI</i>	c.1111A>G	p.Ser371Gly	Conflito	0,505	0,065742
<i>FANCM</i>	c.392G>A	p.Trp131Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>FAT1</i>	c.8465T>C	p.Leu2822Pro	Não relatada	0,288	0,030918
<i>FAT4</i>	c.10780C>T	p.Pro3594Ser	Não relatada	0,48	0,026164
<i>FBLN1</i>	c.1282G>T	p.Val428Leu	Não relatada	0,144	0,092556
<i>FER</i>	c.1286A>T	p.Asp429Val	Não relatada	0,539	0,075194
<i>FES</i>	c.1016C>G	p.Pro339Arg	Não relatada	0,44	0,311379
<i>FGF4</i>	c.538G>A	p.Ala180Thr	Não relatada	0,716	0,20223
<i>FGF6</i>	c.572G>A	p.Arg191Gln	Não relatada	0,508	0,118585
<i>FGFR4</i>	c.1202G>C	p.Arg401Pro	Não relatada	0,311	0,104704
<i>FHL2</i>	c.337C>T	p.Arg113Cys	Significado incerto	0,829	0,126992
<i>FLCN</i>	c.303G>C	p.Glu101Asp	Significado incerto	0,557	0,111147
<i>FLT1</i>	c.3602C>T	p.Pro1201Leu	Não relatada	0,433	0,049838
<i>FLT3</i>	c.113T>A	p.Ile38Asn	Não relatada	0,539	0,120434
<i>FLT3</i>	c.580G>A	p.Val194Met	Não relatada	0,219	0,029824
<i>FOXE1</i>	c.52G>A	p.Val18Met	Não relatada	0,268	0,906953
<i>FOXO1</i>	c.311G>C	p.Gly104Ala	Não relatada	0,282	0,913861
<i>FOXO3</i>	c.413C>T	p.Pro138Leu	Não relatada	0,266	0,414753
<i>FOXP1</i>	c.11A>C	p.Glu4Ala	Não relatada	0,596	0,291848
<i>FRAT1</i>	c.214C>T	p.Arg72Trp	Não relatada	0,168	0,464638
<i>FRMD3</i>	c.463A>G	p.Ile155Val	Não relatada	0,438	0,027061
<i>FUBP1</i>	c.124G>T	p.Ala42Ser	Não relatada	0,29	0,059871
<i>FUBP1</i>	c.121A>T	p.Ile41Phe	Não relatada	0,464	0,059998
<i>GOLGA5</i>	c.1120G>A	p.Glu374Lys	Não relatada	0,392	0,034612
<i>HEY1</i>	c.218C>T	p.Ser73Phe	Não relatada	0,423	0,075209
<i>HIC1</i>	c.1468G>C	p.Gly490Arg	Não relatada	0,142	0,067907
<i>HLTF</i>	c.2437C>T	p.Pro813Ser	Não relatada	0,277	0,117256
<i>HNF1B</i>	c.226G>T	p.Gly76Cys	Conflito	0,915	0,926522
<i>HOXD11</i>	c.902G>A	p.Arg301Gln	Não relatada	0,582	0,14319
<i>HSP90AA1</i>	c.836A>T	p.Lys279Met	Não relatada	0,321	0,037503
<i>IFFO1</i>	c.139G>C	p.Gly47Arg	Não relatada	0,462	0,983947
<i>IFRD2</i>	c.1154G>A	p.Arg385His	Não relatada	0,48	0,090624
<i>IL6ST</i>	c.898C>T	p.Arg300Cys	Não relatada	0,353	0,034047
<i>IRF4</i>	c.1019C>T	p.Ala340Val	Não relatada	0,52	0,084032
<i>JAZF1</i>	c.685T>C	p.Phe229Leu	Não relatada	0,327	0,048923
<i>KDR</i>	c.2312C>T	p.Thr771Met	Não relatada	0,478	0,105661
<i>KIF1B</i>	c.2365G>A	p.Ala789Thr	Não relatada	0,382	0,146809
<i>KIF1B</i>	c.2978A>G	p.Asp993Gly	Não relatada	0,171	0,035571
<i>KMT2A</i>	c.5065C>T	p.Pro1689Ser	Não relatada	0,313	0,092937
<i>KMT2D</i>	c.10193T>A	p.Met3398Lys	Não relatada	0,449	0,452326
<i>KMT2D</i>	c.181G>A	p.Gly61Ser	Não relatada	0,315	0,185873
<i>KRT19</i>	c.980C>T	p.Thr327Met	Não relatada	0,672	0,165107
<i>LATS2</i>	c.2434C>T	p.Leu812Phe	Não relatada	0,674	0,072322
<i>LEF1</i>	c.550A>C	p.Met184Leu	Não relatada	0,445	0,144869
<i>LEF1</i>	c.1153G>A	p.Ala385Thr	Não relatada	0,49	0,358028
<i>LGR6</i>	c.1339G>A	p.Val447Met	Não relatada	0,077	0,042737
<i>LMNA</i>	c.692G>A	p.Arg231Gln	Significado incerto	0,492	0,079215
<i>LRP1B</i>	c.12047C>T	p.Pro4016Leu	Não relatada	0,491	0,05888

LZTS1	c.338T>C	p.Leu113Pro	Não relatada	0,354	0,033885
LIG1	c.2635C>T	p.Arg879Cys	Não relatada	0,786	0,099654
MAFK	c.353C>T	p.Ala118Val	Não relatada	0,57	0,404094
MBD4	c.939delA	p.Lys313fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MIB2	c.1824_1830del	p.Asn608fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MIB2	c.1181A>G	p.Lys394Arg	Não relatada	0,185	0,148308
MIB2	c.2509C>G	p.Gln837Glu	Não relatada	0,069	0,461417
MIB2	c.2015G>A	p.Arg672Gln	Não relatada	0,32	0,090215
MKL2	c.1570G>C	p.Asp524His	Não relatada	0,438	0,065941
MLH1	c.1304T>C	p.Leu435Pro	Significado incerto	0,917	0,473622
MPG	c.311G>A	p.Arg104Gln	Não relatada	0,416	0,034308
MPP3	c.692C>A	p.Ser231Tyr	Não relatada	0,575	0,071302
MRE11	c.1475C>A	p.Ala492Asp	Conflito	0,234	0,05513
MSH5	c.859C>T	p.Arg287Cys	Não relatada	0,753	0,145412
MSH5	c.1738T>G	p.Cys580Gly	Não relatada	0,486	0,028969
MSH6	c.1787T>A	p.Phe596Tyr	Significado incerto	0,678	0,190663
MTOR	c.2150G>A	p.Arg717Gln	Não relatada	0,438	0,20482
MUC4	c.11368_11369insTG	p.Thr3790fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MUC4	c.10240_10247del	p.Pro3414fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MUC4	c.10198_10237del	p.Ser3400fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MUC4	c.6948_6952del	p.Gly2316fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MUC4	c.6900_6942del	p.Gly2300fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MUC4	c.6710_6711del	p.Gln2237fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MUC4	c.2782C>T	p.Arg928Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MUC4	c.10236_10239del	p.Thr3412fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MUC4	c.7335_7336del	p.His2445fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
MYEOV	c.633delG	p.Leu211fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
NAV2	c.2336A>G	p.Asn779Ser	Não relatada	0,382	0,154017
NAV2	c.2308C>T	p.Arg770Trp	Significado incerto	0,309	0,136484
NBAS	c.1669T>C	p.Tyr557His	Não relatada	0,605	0,054407
NBPF3	c.1591C>T	p.Gln531Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
NDRG2	c.172C>T	p.Arg58Cys	Não relatada	0,48	0,084001
NEIL2	c.772C>T	p.Gln258Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
NFKB2	c.1972C>T	p.Arg658Trp	Não relatada	0,187	0,131075
NR4A3	c.760C>G	p.Leu254Val	Não relatada	0,303	0,392006
NRG1	c.298C>A	p.Leu100Ile	Não relatada	0,316	0,072291
NUTM2A	c.2280delC	p.Ser760fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
NUTM2B	c.1093C>T	p.Arg365Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
OBSCN	c.4531G>T	p.Glu1511Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
OBSCN	c.1513G>A	p.Val505Met	Não relatada	0,373	0,120659
PABPC1	c.1240C>T	p.Pro414Ser	Não relatada	0,683	0,025635
PAK5	c.1652C>T	p.Ser551Leu	Não relatada	0,531	0,066542
PALLD	c.902T>G	p.Ile301Ser	Significado incerto	0,314	0,066693
PARP3	c.1462C>T	p.Gln488Ter	Não relatada	Indisponível	Indisponível
PARP3	c.806C>T	p.Pro269Leu	Não relatada	0,52	0,131589
PDGFRB	c.2756G>A	p.Arg919Gln	Não relatada	0,434	0,084265
POLE	c.3133G>A	p.Asp1045Asn	Não relatada	0,326	0,030574
POLG	c.376C>T	p.Arg126Cys	Não relatada	0,385	0,505167
POLG	c.2354G>A	p.Gly785Asp	Significado incerto	0,331	0,112636
POLG	c.2207A>G	p.Asn736Ser	Conflito	0,483	0,043629
POLG	c.2145A>T	p.Gln715His	Significado incerto	0,292	0,061035
POLH	c.40A>G	p.Met14Val	Não relatada	0,848	0,147301
POLL	c.133G>A	p.Gly45Arg	Não relatada	0,477	0,065309
PRDM2	c.246_247del	p.Asp82fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
PRDM2	c.249delT	p.Asp83fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
PRDM2	c.3027G>C	p.Gln1009His	Não relatada	0,349	0,033145
PREX2	c.61C>T	p.Leu21Phe	Não relatada	0,221	0,829486

<i>PRKAR1A</i>	c.1012T>G	p.Ter338Glu	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>PRPF40B</i>	c.413C>T	p.Ser138Leu	Não relatada	0,797	0,099105
<i>PTCH1</i>	c.2689A>G	p.Ile897Val	Significado incerto	0,241	0,071401
<i>PTCH2</i>	c.3473C>G	p.Thr1158Ser	Significado incerto	0,211	0,100797
<i>PTCH2</i>	c.704G>A	p.Arg235Gln	Significado incerto	0,371	0,068779
<i>PTPN13</i>	c.3580G>A	p.Gly1194Ser	Não relatada	0,598	0,039702
<i>PTPN13</i>	c.3581G>T	p.Gly1194Val	Não relatada	0,64	0,061049
<i>PTPRB</i>	c.4097G>A	p.Arg1366His	Não relatada	0,285	0,097712
<i>RAD21</i>	c.1892T>C	p.Ile631Thr	Não relatada	0,382	0,081519
<i>RAD54L</i>	c.604C>T	p.Arg202Cys	Não relatada	0,714	0,153277
<i>RASAL1</i>	c.1403T>C	p.Phe468Ser	Não relatada	0,939	0,486553
<i>RBBP8</i>	c.298C>T	p.Arg100Trp	Patogênica	0,753	0,051465
<i>RBBP8</i>	c.1487G>A	p.Arg496Gln	Não relatada	0,199	0,041737
<i>RDM1</i>	c.52_53del	p.Gln18fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>RHBDF2</i>	c.589C>G	p.Arg197Gly	Não relatada	0,562	0,069398
<i>RIOX2</i>	c.602C>T	p.Pro201Leu	Não relatada	0,48	0,060029
<i>RNASEL</i>	c.196G>A	p.Ala66Thr	Não relatada	0,714	0,321082
<i>RNF139</i>	c.47A>G	p.Gln16Arg	Não relatada	0,035	0,027986
<i>RTN4</i>	c.230G>C	p.Gly77Ala	Não relatada	0,55	0,048678
<i>SASH1</i>	c.2795G>A	p.Arg932Gln	Não relatada	0,558	0,081689
<i>SDHA</i>	c.1676A>G	p.Glu559Gly	Significado incerto	0,355	0,348786
<i>SDHA</i>	c.1687G>A	p.Val563Met	Significado incerto	0,484	0,289257
<i>SFRP4</i>	c.344A>G	p.Tyr115Cys	Não relatada	0,897	0,205348
<i>SGK1</i>	c.313delC	p.Pro105fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>SGK1</i>	c.317G>T	p.Ser106Ile	Não relatada	0,208	0,132277
<i>SHC3</i>	c.1489G>A	p.Glu497Lys	Não relatada	0,252	0,065497
<i>SLC45A3</i>	c.1456C>T	p.Arg486Trp	Não relatada	0,452	0,054864
<i>SPECC1</i>	c.2915A>G	p.Gln972Arg	Não relatada	0,635	0,120956
<i>SPEN</i>	c.1475C>G	p.Ala492Gly	Não relatada	0,543	0,026191
<i>TBP</i>	c.171_177del	p.Gln57fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>TBP</i>	c.171_183del	p.Gln57fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>TBP</i>	c.171_192del	p.Gln57fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>TBX3</i>	c.1240G>A	p.Asp414Asn	Não relatada	0,31	0,620597
<i>TCF7L2</i>	c.1427T>A	p.Leu476Gln	Não relatada	0,364	0,152136
<i>TET2</i>	c.3434G>T	p.Gly1145Val	Não relatada	0,522	0,045371
<i>TGFB1</i>	c.1022C>T	p.Ala341Val	Não relatada	0,444	0,207902
<i>TGFBR2</i>	c.373G>A	p.Glu125Lys	Não relatada	0,343	0,04892
<i>THADA</i>	c.65A>C	p.Glu22Ala	Não relatada	0,141	0,056885
<i>THADA</i>	c.2011C>G	p.Leu671Val	Não relatada	0,294	0,066494
<i>TMF1</i>	c.928T>A	p.Phe310Ile	Não relatada	0,42	0,073324
<i>TMF1</i>	c.716G>A	p.Ser239Asn	Não relatada	0,28	0,026406
<i>TNIP2</i>	c.121C>T	p.Arg41Cys	Não relatada	0,168	0,45214
<i>TOP3A</i>	c.118C>T	p.Arg40Ter	Patogênica	0,091	Indisponível
<i>TRAF7</i>	c.85A>G	p.Arg29Gly	Não relatada	0,188	0,030952
<i>TSC2</i>	c.3340C>G	p.Pro1114Ala	Significado incerto	0,67	0,666093
<i>TTK</i>	c.323G>C	p.Ser108Thr	Não relatada	0,403	0,085393
<i>TTK</i>	c.325T>C	p.Phe109Leu	Não relatada	0,502	0,069219
<i>TTK</i>	c.553C>T	p.Arg185Trp	Não relatada	0,304	0,199525
<i>TYK2</i>	c.3409C>T	p.Pro1137Ser	Não relatada	0,779	0,274833
<i>TYK2</i>	c.3010G>A	p.Ala1004Thr	Não relatada	0,658	0,236103
<i>TYK2</i>	c.1324C>T	p.Arg442Trp	Não relatada	0,315	0,223598
<i>TYRO3</i>	c.1444_1445insGAGA	p.Gly482fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>TYRO3</i>	c.1888G>A	p.Gly630Arg	Não relatada	0,867	NA
<i>UBR5</i>	c.6631delA	p.Ile2211fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>VEGFC</i>	c.224C>G	p.Pro75Arg	Não relatada	0,545	0,030322
<i>WISP1</i>	c.434C>T	p.Thr145Met	Não relatada	0,484	0,259198
<i>WNK1</i>	c.187A>C	p.Lys63Gln	Não relatada	0,214	0,893766

<i>WNK1</i>	c.2786C>T	p.Ser929Leu	Significado incerto	0,287	0,028356
<i>WNK1</i>	c.4949G>C	p.Ser1650Thr	Não relatada	0,385	0,068688
<i>WNK4</i>	c.2645dupT	p.Leu882fs	Não relatada	Indisponível	Indisponível
<i>WNK4</i>	c.2585G>A	p.Arg862His	Não relatada	0,435	0,1105
<i>WNK4</i>	c.2545C>T	p.Arg849Cys	Significado incerto	0,767	0,506628
<i>WNT2B</i>	c.49C>T	p.Arg17Cys	Não relatada	0,386	0,521818
<i>WRN</i>	c.436A>G	p.Lys146Glu	Significado incerto	0,433	0,09425
<i>XPC</i>	c.2404G>A	p.Gly802Ser	Não relatada	0,383	0,087328
<i>ZFH3</i>	c.625C>T	p.Arg209Trp	Não relatada	0,226	0,044526
<i>ZFH3</i>	c.5717C>T	p.Ser1906Leu	Não relatada	0,429	0,038343
<i>ZNF687</i>	c.3344G>A	p.Arg1115Gln	Não relatada	0,12	0,121482

*Consulta em 12/2019, 01/2020, 02/2020

Variantes de Splicing

Gene	c.	Relação gênica	ClinVar*	HSF
<i>AFP</i>	c.1840+2T>C	Carcinogênese	Não relatada	Erro
<i>ATM</i>	c.1236-1G>T	Reparo e hereditário	Não relatada	Deletéria
<i>ECT2L</i>	c.1579-1G>C	Carcinogênese	Não relatada	Deletéria
<i>GSDMA</i>	c.1021+2T>C	Carcinogênese	Não relatada	Deletéria
<i>NCOR1</i>	c.3401-2A>G	Carcinogênese	Não relatada	Deletéria
<i>PREX2</i>	c.2715+2T>C	Carcinogênese	Não relatada	Deletéria
<i>PTPRE</i>	c.1524+1G>A	Carcinogênese	Não relatada	Deletéria
<i>RAD51B</i>	c.1037-1G>A	Reparo	Não relatada	Deletéria
<i>RBL2</i>	c.1180-1G>T	Carcinogênese	Não relatada	Deletéria
<i>SGK1</i>	c.271-2->TTTT	Carcinogênese	Não relatada	Não processa
<i>SMAD4</i>	Indisponível	Hereditário	Não relatada	Não processa
<i>TDG</i>	c.1090+1->AGAGCGTGGAGT	Reparo	Não relatada	Não processa
<i>TYRO3</i>	c.2282+2ins	Carcinogênese	Não relatada	Não processa
<i>TYRO3</i>	c.1579+2T>-	Carcinogênese	Não relatada	Erro

*Consulta em 12/2019, 01/2020, 02/2020

Anexo D: Primers, ciclagens e protocolos usados para confirmação dos achados

Tabela de primers

Gene	Éxon	Primer foward*	Primer reverse*
<i>ATR</i>	15	agcccttatgtccttggtgct	gctgagaacctctcccatg
<i>SLX4</i>	12	TGGAAGTCGGAGACAGTG	GGGAATTGGCGAGAGGG
<i>OGG1</i>	1	cggagaacgggctgggga	tgaggcggcaggagccag
<i>TREX1</i>	2	GGGGCCACCTCCCACAGT	CCCTCAGCCGTGTGCGAG
<i>PRKN</i>	11	cgctcctacgcatacgcc	gttaccaacacaccaggc
<i>FAN1</i>	2	GCCTGCCCCGTTTGCAGT	CTGTGGACTAGAACCGGCA
<i>CHEK2</i>	4	cactagtttcagagtgatgct	gggtaacagagcaacaccc
<i>ASXL1</i>	12	TCTGAATGGTGTGTTATGGCG	GTACACTTTCAGGGGTGCT

*Em maiúsculo: *primer* localizado no éxon e minúsculo no íntron.

Protocolo de PCR

Reagentes	Quantidades
Taq Master Mix Multiplex	5 µl
Q-Solution	2 µl
Primer F [25pM]	0,25 µl
Primer R [25pM]	0,25 µl
Água ultrapura	6,5 µl
DNA	1 µl
TOTAL	15 µl

Condição de ciclagem para o CHEK2

Etapa	Temperatura	Tempo	Repetição
Desnaturação	95°C	15 minutos	1X
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	62°C	1 minuto e 30 segundos	2X
Extensão	72°C	1 minuto e 30 segundos	
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	60°C	1 minuto e 30 segundos	3X
Extensão	72°C	1 minuto e 30 segundos	
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	58°C	1 minuto e 30 segundos	30X
Extensão	72°C	1 minuto e 30 segundos	
Extensão final	72°C	10 minutos	1X
Temperatura final	15°C	“Infinito”	

Condição de ciclagem para o FAN1			
Etapa	Temperatura	Tempo	Repetição
Desnaturação	95°C	15 minutos	1X
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	64°C	1 minuto e 30 segundos	2X
Extensão	72°C	1 minuto e 30 segundos	
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	62°C	1 minuto e 30 segundos	3X
Extensão	72°C	1 minuto e 30 segundos	
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	60°C	1 minuto e 30 segundos	30X
Extensão	72°C	1 minuto e 30 segundos	
Extensão final	72°C	10 minutos	1X
Temperatura final	4°C	"Infinito"	

Condição de ciclagem para os genes ATR, FUBP1, OGG1, PRKN e TREX1			
Etapa	Temperatura	Tempo	Repetição
Desnaturação	95°C	15 minutos	1X
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	58°C	1 minuto e 30 segundos	2X
Extensão	72°C	1 minuto e 30 segundos	
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	60°C	1 minuto e 30 segundos	3X
Extensão	72°C	1 minuto e 30 segundos	
Desnaturação	95°C	30 segundos	
Anelamento	62°C	1 minuto e 30 segundos	30X
Extensão	72°C'	1 minuto e 30 segundos	
Extensão final	72°C	10 minutos	1X
Temperatura final	15°C	"Infinito"	

Purificação do produto de PCR- Precipitação com ExoSap-IT: Adicionar 3 µL de ExoSap- IT na placa definitiva (Colocar a ExoSap-IT no fundo de cada poço na placa) e 7 µL de produto de PCR (manter em baixa temperatura durante o procedimento). Transferir 5 µL para outro poço (para sequenciar forward e reverse). Dar spin e encaminhar ao termociclador.

Condição de ciclagem	
Temperatura	Tempo
37°C	30 minutos
80°C	15 minutos
4°C	"infinito"

Reação de sequenciamento: adicionar os 2,5 µL do mix (na borda do poço) e o 1,0 µL de primer para sequenciamento no produto de PCR purificado por ExoSap-IT.

Componentes da reação	
Reagente	Quantidade
BigDye	0,5 µL
Buffer	1,5 µL
Água	0,5 µL
Primer (3,2µM)	1,0 µL

Após dar spin, encaminhar ao termociclador:

Condição de ciclagem		
Temperatura	Tempo	Repetição
96°C	10 segundos	
50°C	5 segundos	30 x
60°C	4 minutos	
4°C	"infinito"	

Reação de purificação pós-sequenciamento (fazer sob pouca luz): adicionar a San Solution e o Xterminator. Em seguida, vedar a placa e agitá-la por 30 minutos. Centrifugar a 1000g por 3 minutos e levar ao sequenciador.

Componentes da reação	
Reagente	Quantidade
San Solution	45 µL
Xterminator	10 µL

Anexo E: Ficha de coleta

Ficha De Coleta			
FCCTX			
Identificação			
1	ID	1	
2	PASS ID	2	
3	Iniciais do paciente		
4	RH	3	
5	Data de Nascimento DD/MM/AAAA	4	
Sociodemográfico			
6	Sexo 0-Feminino; 1-Masculino	5	
7	Raça 1- Branco; 2- Negro; 3- Pardo; 4- Indígena; 5- Asiático; 6- Outro; 99- Ignorado	6	
8	Se outra raça, descreva Descrever; 99- Ignorado	7	
9	Escolaridade 1- Analfabeto; 2- Sabe ler e escrever; 3- Ensino fundamental incompleto; 4- Ensino fundamental completo; 5- Ensino médio incompleto; 6- Ensino médio completo; 7- Ensino superior incompleto; 8- Ensino superior completo; 9- Pós-graduação; 99- Ignorado	8	
10	Estado Civil 1- Solteiro; 2- Casado/União Estável; 3- Viúvo; 99- Ignorado		
11	Cidade Descrever; 99- Ignorado		
12	Estado Sigla. Ex.: SP; 99- Ignorado		
13	Tem o TCLE do Biobanco 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
14	Se sim, o paciente quer ser reconsentido a cada estudo 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
15	Status 1-Vivo, em tratamento; 2-Vivo, em seguimento; 3- Perda de seguimento; 4- Óbito; 99-Ignorado		
16	Data da última informação		
17	Data do óbito		
18	Idade no último retorno		
Teste Genético – Probando			
19	Realizou teste genético 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
20	Qual teste realizou 1- Análise de rearranjo gênico por MLPA; 2-APC; 3 –MUTYH; 4-BRCA1; 5- BRCA2; 6- TP53; 7- CDH1; 8- CHEK2; 9- Metilação MLH1; 10- MLH1; 11 – MSH2; 12- MSH6; 13 – PMS2; 14 – MSI; 15- BRAF; 16 – MMR; 17 – PTEN; 18 – RET; 19 – VHL; 99- Ignorado		
21	Data do teste genético		
22	Critério preenchido 1-Hboc; 2-Amsterdã1; 3-Amsterdã2; 4- Bethesda; 5-Gástrico; 6- Medular Tireoide; 7- Polipose familiar; 8- CCR Jovem; 9 - Agregação; 99- Ignorado		
24	Critério Amsterdã1		

	1 – Pelo menos 3 membros da mesma família com CCR; 2 – Um membro parente de 1º dos outros; 3 – Ao menos duas gerações acometidas; 4 – Ao menos um membro familiar com CCR e idade < 50 anos; 6 – Exclusão de PAF; 99 - Ignorado		
25	Critério Amsterdã2 1 – Pelo menos 3 membros da mesma família com CCR ou adenocarcinoma de endométrio ou carcinoma de células transicionais de vias excretoras renais (pelve renal ou ureter) ou adenocarcinoma de intestino delgado; 2 – Um membro parente de 1º dos outros; 3 – Pelo menos duas gerações acometidas; 4 – Pelo menos um membro familiar com CCR e idade < 50 anos; 6 – Exclusão de PAF; 99 - Ignorado		
26	Critério Bethesda 1 – CCR diagnosticado < 50 anos; 2 – Presença de CCR sincrônico ou metacrônico, ou outro tumor extracolônico associado a síndrome independente da idade; 3 – CCR com histologia sugerindo MSI diagnosticado < 60 anos; 4 – CCR diagnosticado em um ou mais parente de 1º com tumor relacionado à síndrome e um dos tumores diagnosticado < 50 anos; 5 – CCR diagnosticado em um ou mais parentes de 1º ou 2º grau, com tumores relacionados à síndrome independente da idade; 99 - Ignorado		
	Data de inclusão no estudo		
	Data do envio de amostra		
	Data de entrega de resultado		
	Possui história familiar de câncer 0 – Não; 1 – Sim; 99 - Ignorado		
Colorretal – Tumor Primário			
	Número de tumores primários (Se tiver mais que um, repetir de acordo com o número de tumores) Número descrever		
	Tipo de tumor primário 1 – Mama; 2 – Ovário; 3 – Colo retal; 4 – Gástrico; 5 – Tireoide; 6 – Polipose; 7 – Renal; 8 – Adrenal; 9 – Bexiga; 10 – Ureter; 11 – Pênis; 12 – Vagina; 13 – Útero; 14 – Endométrio; 15 – Trompas; 16 – Baço; 17 – Olho; 18 – Vias biliares; 19 – Coluna; 20 – Fígado; 21 – Pâncreas; 22 – Próstata; 23 – Esôfago; 24 – Garganta; 25 – Boca; 26 – Língua; 27 – Melanoma; 28 – Leucemia; 29 – Pele não melanoma; 30 – SNC; 31 – Sarcoma; 32- Lipossarcoma; 33 – Osso; 34- Linfoma; 35 - Outros		
	Se outro tipo, descrever		
	Data do diagnóstico Data do AP de biópsia ou da imagem	20	
	Idade no diagnóstico		
	E da peça Descrever; 99 - Ignorado	21	
Colorretal – Tumor Primário			
	Tipo histológico 1 – Adenocarcinoma; 2 – Adenocarcinoma mucinoso; 3 – Carcinoma de células do anel de sinete; 4 – Carcinoma de pequenas células; 5 – Carcinoma de células escamosas; 6 – Carcinoma adenoescamoso; 7 - Carcinoma medular; 8 - Carcinoma indiferenciado		
	Localização tumoral 1 – Cólon direito; 2 – Flexura hepática; 3 – Cólon transversos; 4 – Flexura esplênica; 5 – Cólon esquerdo; 6 – Sigmoide; 7 - Reto; 8 – Canal anal; 9 – Tumores sincrônicos; 10 – Não se aplica.		
	Grau de diferenciação 1 – Bem diferenciado; 2 – Moderadamente diferenciado; 3 – Mal diferenciado.		

Status linfonodal	0 – Negativo; 1 – Positivo; 99 - Ignorado	27	
Número de Linfonodos Positivos	Número; 999- Ignorado	28	
Estadiamento pT	0 – Tx; 1 – T0; 2 – Tis; 3 – T1; 4– T2; 5 - T3; 6 – T4; 7 - T4A; 8 - T4B; 99- Ignorado	29	
Estadiamento pN	0- Nx; 1 – N0; 2 – N1; 3 –N1A; 4 –N1B; 5 – N1C; 6 – N2; 7 –N2A; 8 – N2B; 99 - Ignorado	30	
Estadiamento pM	0 – M0; 1 – M1A; 2 – M1B; 99 - Ignorado	31	
Estadiamento pTNM		32	
Estadiamento pTNM	0 – 0; 1 - I; 2 –II; 3 – IIA; 4 – IIB; 5 – IIC; 6- III; 7 – IIIA; 8 – IIIB; 9 – IIIC; 10- IVA; 11- IVB; 99 - Ignorado	33	
Instabilidade de microsatelite	0; Não realizado; 1 – MSIH; 2 –MSIL; 3 – MSS; 99 - Ignorado	34	
Imunoistoquímica do MLH1	0 – Negativo; 1 – Positivo; 99 - Ignorado	35	
Imunoistoquímica do MSH2	0 – Negativo; 1 – Positivo; 99 - Ignorado	36	
Imunoistoquímica do MSH6	0 – Negativo; 1 – Positivo; 99 - Ignorado	37	
Imunoistoquímica do PMS2	0 – Negativo; 1 – Positivo; 99 - Ignorado	38	
BRAF V600E	0 – Negativo; 1 – Positivo; 99 - Ignorado		
Metilação MLH1	0 – Não metilado; 1 – Metilado; 99 - Ignorado		
Realizou cirurgia	0 – Não; 1 – Sim; 99 - Ignorado	39	
Tipo de cirurgia	1 – Cauterização (destruição local de tumor); 2 – Incisão cirúrgica local; 3 – Colectomia direita; 4 - Colectomia esquerda; 5 – Hemicolectomia (lado não especificado); 6 – Ressecção anterior baixa; 7 – Colectomia total; 8 – Proctocolectomia total; 9 – Ressecção abdominoperineal; 10 – Retirada de seguimento ou parte do intestino; 11 – Outro; 99 - Ignorado	40	
Se outro tipo de cirurgia		41	
Data da cirurgia			
Tipo de tratamento realizado	1 –QT; 2- RT; 99 - Ignorado	42	
Tipo de quimioterapia	1 – Neoadjuvante; 2 – Adjuvante; 3 – Paliativa; 99 - Ignorado	43	
Tipo de radioterapia	1 – Neoadjuvante; 2 – Adjuvante; 99 - Ignorado	46	
Outras observações	Descrever; 99 - Ignorado	46	
Ficha - Histórico Familiar – Repetir de acordo com a quantidade de familiares com câncer			
Número de familiares com câncer	Descrever	103	
Grau de parentesco	1- pai; 2- mãe; 3- irmão; 4- irmã; 5- tio paterno; 6- tia paterna; 7- tio materno;		

	8- tia materna; 9- avô paterno; 10- avó paterna; 11- avô materno; 12- avó materna; 13- primo paterno; 14- prima paterna; 15- primo materno; 16- prima materna; 17- outro; 99- Ignorado		
	Se outro, especificar: Descrever; 99- Ignorado	107	
	Tipo de tumor 1 – Mama; 2 – Ovário; 3 – Colo retal; 4 – Gástrico; 5 – Tireoide; 6 – Polipose; 7 – Renal; 8 – Adrenal; 9 – Bexiga; 10 – Ureter; 11 – Pênis; 12 – Vagina; 13 – Útero; 14 – Endométrio; 15 – Trompas; 16 – Baço; 17 – Olho; 18 – Vias biliares; 19 – Coluna; 20 – Fígado; 21 – Pâncreas; 22 – Próstata; 23 – Esôfago; 24 – Garganta; 25 – Boca; 26 – Língua; 27 – Melanoma; 28 – Leucemia; 29 – Pele não melanoma; 30 – SNC; 31 – Sarcoma; 32- Lipossarcoma; 33 – Osso; 34- Linfoma; 35 - Outros	108	
	Se outro câncer, descrever		
	Idade ao diagnóstico? Em anos; 999- Ignorado		
	Realizou teste genético? 0 – Não; 1 – Sim; 99 - Ignorado		
	Qual teste realizou 1- Análise de rearranjo gênico por MLPA; 2-APC; 3 –MUTYH; 4-BRCA1; 5- BRCA2; 6- TP53; 7- CDH1; 8- CHEK2; 9- Metilação MLH1; 10- MLH1; 11 – MSH2; 12- MSH6; 13 – PMS2; 14 – MSI; 15- BRAF; 16 – MMR; 17 – PTEN; 18 – RET; 19 – VHL; 99- Ignorado		
	Investigação 1- Lado Paterno; 2- Lado Materno; 3 - Consanguíneo		
	Quantos familiares de 1º grau com câncer abaixo dos 50 anos? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 2º grau com câncer abaixo dos 50 anos? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 1º grau com câncer de mama? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 1º grau com CA de mama antes dos 50 anos? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 2º grau com câncer de mama? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 2º grau com CA de mama antes dos 50 anos? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 1º grau com câncer de ovário? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 1º grau com CA de ovário antes dos 50 anos? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 2º grau com câncer de ovário? Número; 99- Ignorado		
	Quantos familiares de 2º grau com CA de ovário antes dos 50 anos? Número; 99- Ignorado		
	História familiar de Sarcomas/ADR/ SNC ou tumores pediátricos 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
	História familiar de tumor papilífero e/ou folicular de tireoide 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
	História familiar de Câncer gástrico 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		

	Presença de Câncer de Mama Masculino 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
	Números de casos de Câncer de Mama Masculino Número; 99- Ignorado		
	Presença de Câncer de Mama > 40 anos 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
	Números de casos de Câncer de Mama > 40 anos Número; 99- Ignorado		
	Presença de Mãe Filha/Pares de irmãs com Câncer de Mama < 50 anos 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
	Presença de Mãe Filha/Pares de irmãs com Câncer de Mama e Ovário 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
	Presença de Mãe Filha/Pares de irmãs com Câncer de Ovário 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
	Presença de Câncer de Mama Bilateral 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
	Números de casos de Câncer de Mama Bilateral Número; 99- Ignorado		

Anexo F: Parecer Consubstanciado Do Comitê de Ética em Pesquisa (FCCTX)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Identificação das bases genéticas envolvidas no Câncer Colorretal Familiar Tipo X (FCCTX)

Pesquisador: Edenír Inêz Palmero

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 53417916.5.0000.5437

Instituição Proponente: Fundação Pio XII

Patrocinador Principal: Fundação Pio XII

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.501.995

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação de Riscos e Benefícios" foram retiradas do documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_657674.pdf" de 30/03/2016.

Resumo:

A Síndrome de Lynch (SL) é uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer, causada principalmente por mutações germinativas nos genes do sistema MMR (mismatch repair system) de reparo de danos ao DNA. Indivíduos portadores da SL apresentam um risco de desenvolvimento de câncer colorretal (CCR) de 60% a 80% (versus 5% que é o risco para a população em geral) e, além disso, possuem um aumento no risco de desenvolver tumores extracolônicos (principalmente câncer de endométrio). No entanto, apesar de mutações nos genes do sistema MMR estarem associadas a uma maior predisposição ao CCR hereditário, para uma parcela considerável dos casos (cerca de 30-40%), a causa genética permanece uma incógnita. Essas famílias, classificadas como FCCTX (Câncer Colorretal Familiar Tipo X) preenchem os critérios clínicos de Amsterdam I, os quais são utilizados para identificação de famílias em risco para SL. No entanto, diferentemente dessas, não há, em FCCTX, o envolvimento do sistema MMR como fator causal da carcinogênese.

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

Dessa forma, considerando o alto risco para desenvolvimento de câncer desses indivíduos e a necessidade de conhecer a mutação causadora do fenótipo para que estratégias preventivas possam ser delineadas, o objetivo central da presente proposta é realizar uma ampla caracterização molecular de um grupo de indivíduos com FCCTX, no intuito de identificar alterações moleculares germinativas que poderiam se constituir em uma explicação para a sua história pessoal e familiar de câncer colorretal. Para isso, analisaremos inicialmente, cinco famílias distintas, cada uma composta por três familiares de primeiro ou segundo grau com diagnóstico de câncer colorretal em idade inferior a 50 anos, em que um dos indivíduos de cada trio apresente resultado negativo para o screening para Síndrome de Lynch (Imunohistoquímica, análise da presença de Instabilidade de Microssatélites e presença de mutação p.V600E em BRAF) e cuja família preencha os critérios clínicos de Amsterdam I. Na sequência, as mutações deletérias identificadas e compartilhadas entre os familiares serão confirmadas e validadas através de três abordagens distintas: i) análises *in silico* da patogenicidade, ii) análise de segregação e, iii) análise da frequência da(s) alteração(ões) suspeita(s) em uma coorte adicional de famílias classificadas com FCCTX. Na sequência, os dados serão correlacionados aos dados clínicos, histopatológicos e de história familiar no intuito de identificar associações genótipo-fenótipo com as variantes identificadas, assim como determinar, na medida do possível, a penetrância e a idade média ao diagnóstico para os indivíduos mutados. Esperamos, dessa forma, identificar alterações genéticas (mutações pontuais e/ou ganhos e perdas de DNA) que expliquem a história familiar de câncer colorretal das famílias FCCTX, as quais são rotineiramente encaminhadas para teste genético para Síndrome de Lynch e não são efetivamente testadas, dado que o screening inicial (Imunohistoquímica e Instabilidade de Microssatélites) resulta negativo. Dessa forma, o manejo e seguimento desses pacientes ficam comprometidos, visto que não se consegue identificar o mecanismo causal da história familiar positiva para câncer nesses casos.

Introdução

1. Introdução 1.1 Câncer Colorretal - Epidemiologia e Importância O câncer colorretal (CCR) é o terceiro tumor maligno mais comum no mundo em ambos os sexos, correspondendo a 9,4% de todos os tumores malignos. A sobrevida média cumulativa em cinco anos é de cerca de 40-50%, e a diferença não é grande entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento: 49% (variando entre 30-61%) e 44% (variando entre 33-45%), respectivamente. Esse relativo bom prognóstico faz com que o CCR seja o segundo tipo de câncer mais prevalente no mundo, com cerca de 2,4 milhões de pessoas vivas diagnosticadas com essa neoplasia (1, 2). A história familiar de CCR e a

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

predisposição genética ao desenvolvimento de doenças crônicas do intestino (como as poliposes adenomatosas) situam-se entre os fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento desse tipo de neoplasia. Estima-se que 5-10% do total de CCRs sejam hereditários e 20-30% correspondam a agrupamentos de tumores ocorridos em uma mesma família, os chamados tumores familiares (3). Levando em conta as estimativas brasileiras sobre a ocorrência de CCR no país para 2014, pode-se inferir que de 1.650 a 3.300 dos casos de CCR ocorridos no ano de 2015 possuíam caráter hereditário. Estes dados são alarmantes visto que a maior parte destes tumores não é reconhecida como tendo origem hereditária, principalmente devido a um desconhecimento por parte dos profissionais da saúde e ao fato de que existem poucos serviços especializados no diagnóstico e aconselhamento genético de síndromes de predisposição hereditária ao câncer no país (4-6). A identificação de indivíduos em risco para câncer hereditário é importante por várias razões. Primeiro, porque indivíduos afetados apresentam um Risco Cumulativo Vital (RCV) muito superior ao da população para vários tipos de câncer (7-9). Segundo, porque outros familiares de um indivíduo afetado podem estar em risco. Terceiro, porque medidas de rastreamento intensivo e intervenções preventivas se mostram eficazes em reduzir significativamente o risco de câncer em portadores de mutações (10-14). Além disso, a identificação precisa de um indivíduo não afetado em uma família de risco permite tranquilizar o mesmo e elimina os gastos e complicações de rastreamento e intervenções preventivas desnecessárias. Dentre as principais síndromes de predisposição hereditária ao CCR, a síndrome mais frequente é a Síndrome de Lynch. 1.2 Síndrome de Lynch 1.2.1 Aspectos Gerais A Síndrome de Lynch é uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer, com caráter autossômico dominante, causada principalmente por mutações germinativas nos genes do sistema MMR (mismatch repair system) de reparo de danos ao DNA (principalmente nos genes MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2). Indivíduos portadores da SL apresentam um RCV de desenvolvimento de CCR de 60-80% (versus 5% de risco para a população em geral) e, além disso, possuem risco aumentado de desenvolver tumores extracolônicos como o câncer de endométrio (RCV de 40-60%, versus risco populacional de 3%); câncer gástrico (RCV aproximado de 19%); câncer do trato biliar (RCV de 17,5%); trato urinário (RCV de 10%); e RCV de 10-12% para câncer de ovário, além de um risco aumentado para câncer de mama, pâncreas, intestino delgado, sistema linfático, sistema hematopoiético e cérebro (15). O risco de qualquer tumor metacrônico pode chegar a 90% após o tratamento do câncer colorretal, e 75% após o tratamento de câncer de endométrio (16-18). O aparecimento de tumores extracolônicos em outros membros da mesma família também pode indicar a presença da doença. 1.2.2 Fenótipo A síndrome de Lynch é a forma mais frequente de câncer colorretal hereditário. Em famílias típicas, observam-se múltiplas

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

gerações afetadas por câncer colorretal em idade precoce (por volta dos 45 anos) com localização proximal ao ângulo hepático (aproximadamente 70%). Os pacientes possuem um risco aumentado de desenvolver múltiplos tumores sincrônicos (18% dos casos) ou metacrônicos (50% dos casos), além de tumores extracolônicos. O câncer de endométrio é o segundo tipo de câncer mais frequente na síndrome de Lynch, depois do CCR (19, 20).

1.2.3 Critérios Clínicos Identificar pacientes em risco para câncer hereditário é fundamental para o direcionamento a condutas específicas de rastreamento de câncer, permitindo a detecção da doença em estádios menos avançados e, dessa forma, aumentando a possibilidade de cura. Para auxiliar na identificação e classificação das famílias em risco e promover uma padronização internacional no diagnóstico clínico da SL, foram estabelecidos alguns critérios clínicos, dentre os quais se destacam os critérios de Bethesda e de Amsterdam. Os critérios de Amsterdam, publicados em 1991 pelo Grupo Colaborativo Internacional em HNPCC, tiveram aceitação internacional e são extremamente importantes para o diagnóstico clínico, porém, foram criticados por serem muito restritivos e não considerarem os tumores extracolônicos. Por isso, em 1999, o mesmo grupo modificou os critérios de Amsterdam, chamados então de Amsterdam II, que passaram a incluir alguns tumores extracolônicos, tornando-se dessa forma, mais amplos do que os inicialmente propostos (21-23). Em 1998 foram publicados os critérios de Bethesda (24), criados com o intuito de oferecer uma ferramenta mais sensível e menos restritiva para a identificação de pessoas em risco para a Síndrome de Lynch que os critérios de Amsterdam. Apesar de serem menos estritos que os critérios de Amsterdam, ainda havia dificuldade no diagnóstico clínico em famílias pequenas. Dessa forma, em 2004, os critérios de Bethesda foram revisados, aumentando ainda mais sua sensibilidade (25).

1.2.4 Aspectos Moleculares Os genes MLH1, MSH2 e MSH6 respondem, por aproximadamente, 85-95% das mutações conhecidas, associadas à SL (26). Os genes PMS1, PMS2 e MSH3 são responsáveis pelo restante das alterações. Os genes do sistema MMR atuam na identificação e reparo de mau-pareamentos no DNA (27), de forma que defeitos nesses genes levam a um acúmulo de mutações em uma célula. Esse acúmulo de erros ocorre com maior frequência em regiões mais suscetíveis do genoma, como aquelas constituídas por sequências repetitivas de nucleotídeos, os microssatélites. Tumores que surgem em células com um dos genes de reparo defeituoso exibem um número variável de repetições de nucleotídeos (microssatélites) quando comparados ao tecido normal, um fenômeno conhecido como Instabilidade de Microssatélites (MSI), considerado um marcador da SL (28). Cerca de 90% dos indivíduos portadores de CCR e SL apresentam MSI no tecido tumoral (29). Os tumores com instabilidade de microssatélites possuem características histopatológicas distintas (ocorrem

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

preferencialmente no cólon proximal, apresentam diferenciação pobre e/ou histologia mucinosa e um número aumentado de linfócitos infiltrando o tumor) e têm sido consistentemente associados com um melhor prognóstico comparados com tumores com estabilidade de microssatélites (30). 1.3 Câncer Colorretal Familiar Tipo X - FCCTX A síndrome de câncer colorretal familiar do tipo X caracteriza-se, a exemplo da Síndrome de Lynch, pela presença de múltiplos casos de câncer colorretal na família e pelo preenchimento dos critérios clínicos de Amsterdam I. No entanto, diferentemente da Síndrome de Lynch, nesses casos não há evidência de defeitos no sistema MMR de reparo de danos ao DNA e nem da ocorrência de instabilidade de microssatélites. Estudo realizado por Lindor e colaboradores aponta para uma menor ocorrência de tumores extracolônicos no FCCTX e, o número de tumores colorretais diagnosticados em idades mais avançadas é muito superior no FCCTX quando comparado à Síndrome de Lynch (31). Adicionalmente, trabalho realizado por Mueller-Koch em 2005, demonstrou que dois terços dos tumores colorretais das famílias com FCCTX acometiam o lado esquerdo do cólon (contrário ao que ocorre na SL) e havia uma maior proporção de adenomas para carcinomas, apontando para uma progressão mais lenta adenoma-carcinoma do que a observada nos indivíduos com Lynch (32). Ainda em 2005, estudo de Llor e colaboradores mostrou que de 25 famílias com Critérios de Amsterdam investigadas, 40% apresentavam o sistema de reparo MMR sem alterações e, 89% destes possuíam tumores que acometiam o cólon esquerdo e não apresentavam linfócitos invadindo o tumor (outra característica típica dos CCRs da Síndrome de Lynch) (33). Trabalho publicado por Abdel-Rahman e colaboradores comparando características moleculares de tumores colorretais de indivíduos com Síndrome de Lynch, versus tumores colorretais esporádicos e aqueles caracterizados como tipo X, concluiu que os tumores sem comprometimento do sistema MMR (FCCTX) apresentavam um perfil molecular diferenciado dos demais, dando suporte à teoria da existência de outros genes de predisposição envolvidos na FCCTX que não os genes do sistema MMR (34). Trabalhos recentemente publicados apontam para alguns genes (que não os do sistema MMR) que poderiam estar envolvidos no FCCTX, tais como os genes BMPR1A, RPS20 e SEMA4A (35-37). No entanto, os autores sugerem que esses genes não explicam a totalidade dos casos de FCCTX e, dessa forma, o(s) mecanismo(s) causal(is) desta síndrome permanece(m) uma incógnita. 1.4 Resultados Preliminares O Centro de Diagnóstico Molecular do Hospital de Câncer de Barretos (HCB) está vinculado ao Departamento de Oncogenética da mesma instituição e, até o presente momento, mais de 200 famílias com suspeita de Síndrome de Lynch foram encaminhadas pelo Departamento de Oncogenética para realização do teste genético. Do total de famílias encaminhadas, cerca de 60 efetivamente realizaram o teste para um ou mais dos genes do sistema

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hccancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

MMR (dependendo dos resultados da imunohistoquímica). Os demais 150 casos realizaram apenas a fase inicial de screening (através de imunohistoquímica para as proteínas mlh1/msh2/msh6 e pms2, análise de instabilidade de microssatélites e investigação da presença da mutação p.V600E no oncogene BRAF). Cento e quarenta casos (dentre os 150 casos que não foram para teste) apresentavam imunohistoquímica normal e ausência de instabilidade de microssatélites. Destes, cerca de 30% preenchem os critérios de Amsterdam I (enquanto os demais preenchem apenas os critérios de Bethesda). Dessa forma, temos, junto ao Centro de Diagnóstico Molecular, cerca de 45 famílias atualmente classificadas como FCCTX.

Hipótese:

A partir de uma metodologia ampla, robusta e que permite uma análise em larga escala, como o sequenciamento do exoma, poderemos detectar mutações germinativas em genes possivelmente relacionados aos mecanismos moleculares causais e de desenvolvimento do Câncer Colorretal Familiar Tipo X. Como a proposta inicial será realizada em indivíduos aparentados em primeiro ou segundo grau, poderemos obter uma seleção mais acurada dessas variantes e sua associação ao fenótipo em questão (FCCTX).

Critério de Inclusão:

Análise em larga escala (Exoma): Serão incluídas cinco famílias distintas, cada uma composta por três indivíduos aparentados em primeiro ou segundo grau (15 indivíduos), com história pessoal e familiar de câncer colorretal, que preencham os critérios clínicos de Amsterdam I, identificados através da análise da história familiar e provenientes do Hospital de Câncer de Barretos. Os 15 indivíduos devem apresentar tumores colorretais diagnosticados em idade inferior a 50 anos, e um dos indivíduos de cada trio deve apresentar imunohistoquímica normal para mlh1, msh2, msh6 e pms2, além da ausência de instabilidade de microssatélites e da mutação p.V600E no oncogene BRAF. **Fase de Validação II - Análise de segregação:** Familiares dos 15 indivíduos nas quais as alterações em questão tenham sido identificadas, serão convidados a participar do estudo. Serão incluídos todos os familiares interessados, com idade maior que 50 anos, sem câncer, e familiares com câncer diagnosticado antes dos 50 anos de idade. **Fase de Validação III - Confirmação e validação dos resultados (coorte de validação):** Serão incluídos 45 pacientes pertencentes a famílias FCCTX e que não fizeram parte de nenhuma outra fase do presente estudo. Em todas as etapas serão incluídos apenas aqueles indivíduos que consentirem em participar do estudo através do preenchimento de termo de consentimento específico do estudo.

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

Critério de Exclusão:

Pacientes com idade inferior a 18 anos; Pacientes cuja utilização do material genético armazenado comprometa a disponibilidade de material para testes diagnósticos futuros (para aqueles pacientes da parte retrospectiva do estudo).

Amostras do estudo: 60

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Identificar fatores genéticos causais ou associados ao desenvolvimento do CCR no contexto do Câncer Colorretal Familiar Tipo X.

Objetivo Secundário:

1. Identificar alterações germinativas deletérias (pontuais e de ganhos ou perdas de DNA) em cinco trios de indivíduos com câncer colorretal, onde um seja classificado como FCCTX, através do sequenciamento do exoma; 2. Comparar as alterações identificadas entre os trios de irmãos (dentro do trio e entre os trios); 3. Determinar, através de ensaios funcionais, o impacto biológico das alterações germinativas possivelmente deletérias identificadas no sequenciamento do exoma e compartilhadas entre os trios de irmãos; 4. Avaliar, através de análise de segregação em membros com e sem câncer das cinco famílias incluídas na parte inicial do estudo, os genes candidatos selecionados pelo sequenciamento do exoma; 5. Investigar as mutações deletérias identificadas através da análise do exoma num grupo de 45 famílias em risco para CCR classificadas como FCCTX; 6. Associar os dados obtidos através de análise do exoma com a história familiar de câncer, idade ao diagnóstico dos tumores, assim como com características histopatológicas dos tumores e com dados clínicos dos pacientes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Há riscos mínimos envolvidos na coleta de uma amostra de sangue, que incluem dor local, sangramento, hematoma e infecção. Os riscos referentes à coleta de sangue estão relacionados à fase prospectiva do estudo. Outros riscos deste estudo são principalmente de origem psicológica para aqueles participantes que desejarem saber o resultado dos testes. Saber que há maior risco de desenvolver certos tipos de câncer por possuir uma alteração genética poderia causar depressão, ansiedade, raiva e medo do futuro. Para estes casos, o aconselhamento genético tem o

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331	
Bairro: Dr. Paulo Prata	CEP: 14.784-400
UF: SP	Município: BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347	Fax: (17)3321-6600
	E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

objetivo de ajudar o indivíduo a ajustar e lidar com a informação recebida.

Benefícios:

A realização do teste possibilita identificar pessoas em risco e encaminhá-las para programas mais intensivos de prevenção, diminuindo desta forma os danos causados pelo tumor, já que o diagnóstico e tratamento poderão ser feitos mais precocemente. Além disso, a descoberta de alterações nos genes de predisposição e a comparação com alterações previamente descritas, possibilitarão uma melhor compreensão dos mecanismos da doença

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações

Recomendações:

No documentos referentes aos TCLEs o pesquisador deve retirar os espaços entre as páginas, evitando longo trecho do TCLE sem qualquer informação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

PENDÊNCIA 1) Solicita-se inclusão de texto (no Projeto e TCLEs) garantindo que as amostras estocadas no Centro Diagnóstico não serão esgotadas para o desenvolvimento do projeto, permanecendo disponíveis para testes diagnósticos moleculares futuros.

RESPOSTA 1) Incluída informação como solicitado.

Projeto, vide página 11, item 4.2 Amostras de material biológico. Segue transcrição: "Não haverá comprometimento (esgotamento) das amostras que serão utilizadas nas fases retrospectivas do estudo e que já se encontram armazenadas no Centro de Diagnóstico Molecular do HCB, visto que as mesmas devem permanecer disponíveis para testes diagnósticos futuros".

TCLE - Análise em larga escala (coleta retrospectiva), vide página 3, item O QUE ACONTECERÁ COM O MATERIAL QUE FOR COLETADO DE MIM? Segue transcrição: "Para o presente estudo não haverá comprometimento (esgotamento) da amostra já armazenada no Centro de Diagnóstico Molecular, visto que a mesma deve permanecer disponível para testes diagnósticos futuros".

TCLE - Coorte de Validação, vide página 3, item O QUE ACONTECERÁ COM O MATERIAL QUE FOR COLETADO DE MIM? Segue transcrição: "Para o presente estudo não haverá comprometimento

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hccancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

(esgotamento) da amostra já armazenada no Centro de Diagnóstico Molecular, visto que a mesma deve permanecer disponível para testes diagnósticos futuros”.

ANÁLISE PENDÊNCIA 1) Pendência Atendida.

PENDÊNCIA 2) Em relação ao material biológico remanescente ao final do projeto, a pesquisadora descreve que: “As amostras serão coletadas para fim específico do presente estudo. No entanto CASO HOUVER SOBRA DE MATERIAL, OS PARTICIPANTES DO ESTUDO ESTÃO SENDO CONSULTADOS (ATRAVÉS DE TCLE ESPECÍFICO DO ESTUDO E ATRAVÉS DE TCLE DO BIOBANCO) SE CONSENTEM OU NÃO QUE O MATERIAL GENÉTICO REMANESCENTE SEJA ARMAZENADO NO BIOBANCO e fique disponível para projetos futuros, desde que esses sejam aprovados pelo Comitê de Ética e que tenham ou não novo consentimento do participante de pesquisa (dependendo da sua escolha em TCLE)” (destaque nosso). Solicita-se apresentação de TCLE que será aplicado para armazenamento das amostras remanescentes em Biobanco.

RESPOSTA 2) TCLE - Biobanco anexado ao Projeto e à Plataforma Brasil como solicitado.

Projeto, vide página 16, item 6. Aspectos Éticos. Segue transcrição: “Para a autorização de armazenamento das amostras em Biobanco, após sua utilização no estudo, será aplicado o TCLE específico do Biobanco (Anexo 5)”.

ANÁLISE PENDÊNCIA 2) Pendência Atendida.

PENDÊNCIA 3) Em relação aos modelos de TCLE que serão utilizados no estudo, segue a informação: No tópico “O QUE ACONTECERÁ COMIGO DURANTE O ESTUDO? - ...Como esse é um projeto de pesquisa e o exame não será realizado em um laboratório comercial, não há prazo exato NEM GARANTIA ABSOLUTA DE RESULTADO CONCLUSIVO.” (destaque nosso). Visto que em exames de rotina também podem ocorrer resultados inconclusivos, solicita-se alteração deste trecho. Por estar em um âmbito de pesquisa, os pesquisadores devem descrever que os resultados/alterações encontradas obtidos podem não estar associados a ocorrência do tumor nas famílias em estudos. De qualquer forma garantindo o acesso a estes resultados seja qual for a conclusão.

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331	CEP: 14.784-400
Bairro: Dr. Paulo Prata	
UF: SP	Município: BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347	Fax: (17)3321-6600
	E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

RESPOSTA 3) Alteração realizada em todos os TCLEs conforme solicitado.

Vide TCLEs do estudo, item O QUE ACONTECERÁ COMIGO DURANTE O ESTUDO? Segue transcrição: "Como esse é um projeto de pesquisa e o exame não será realizado em um laboratório comercial, não há prazo exato para entrega do resultado, porém, todo esforço será feito para que o resultado seja liberado o mais breve possível".

ANÁLISE PENDÊNCIA 3) Pendência Atendida.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital do Câncer de Barretos de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional Nº 001/2013 do CNS, e após a análise das respostas as pendências emitidas, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Solicitamos que sejam encaminhados ao CEP:

1. Relatórios semestrais, sendo o primeiro previsto para 14/10/2016.
2. Comunicar toda e qualquer alteração do Projeto e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de participantes deve ser temporariamente interrompida até a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.
3. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer Evento Adverso Grave ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
4. Para projetos que utilizam amostras criopreservadas, procurar o BIOBANCO para início do processamento.
5. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos, após conclusão da pesquisa, para possível auditoria dos órgãos competentes.
6. Este projeto está cadastrado no CEP-HCB sob o número 1107/2016.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_657674.pdf	30/03/2016 13:23:45		Aceito

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

Outros	Carta_Resposta.pdf	30/03/2016 13:23:19	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Carta_Resposta.docx	30/03/2016 13:22:16	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_FCCTX_v2.docx	29/03/2016 17:05:42	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Biobanco.pdf	29/03/2016 17:03:12	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_4_v2.doc	29/03/2016 17:02:57	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_3_v2.doc	29/03/2016 17:02:40	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2_v2.doc	29/03/2016 17:02:11	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_1_v2.doc	29/03/2016 17:01:45	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Final.docx	22/02/2016 11:36:40	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_4.doc	22/02/2016 11:35:31	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_3.doc	22/02/2016 11:35:11	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.doc	22/02/2016 11:34:28	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_1.doc	22/02/2016 11:34:10	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Disponibilidade_Amostras.pdf	19/02/2016	Murilo Queiroz de	Aceito

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hccancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.501.995

Outros	Disponibilidade_Amostras.pdf	10:42:15	Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	NAP.pdf	19/02/2016 10:40:15	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Mabin.pdf	19/02/2016 10:38:46	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Ficha_Coleta.pdf	19/02/2016 10:37:33	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Declaracao_Autorizacao.pdf	17/02/2016 17:27:23	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Declaração do Patrocinador	Declaracao_Financiamento.pdf	17/02/2016 17:25:14	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Infraestrutura.pdf	17/02/2016 17:24:38	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Responsabilidade.pdf	17/02/2016 17:24:02	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	17/02/2016 17:12:59	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

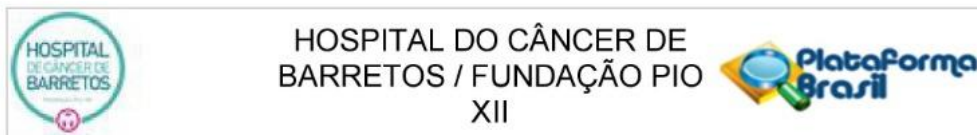
Não

BARRETOS, 15 de Abril de 2016

Assinado por:
Daniel Onofre Vidal
(Coordenador)

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hccancerbarretos.com.br

Anexo G: Parecer Consubstanciado Do Comitê de Ética em Pesquisa (PRONON)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo Epidemiológico e Molecular para Avaliação da Oncogenética no Contexto do Sistema Único de Saúde (SUS)

Pesquisador: Edenír Inêz Palmero

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 56164716.9.0000.5437

Instituição Proponente: Fundação Pio XII

Patrocinador Principal: Fundação Pio XII

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.700.965

Apresentação do Projeto:

Nos casos de síndromes de predisposição hereditária ao câncer definidas pela presença de mutações germinativas em genes de alta penetrância, protocolos já bem estabelecidos definem as condutas de rastreamento e redução de risco para os indivíduos acometidos.

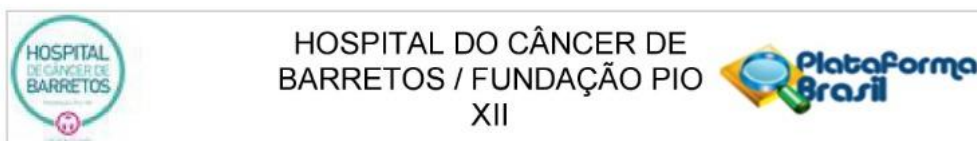
Todavia, dados sobre a implementação, custo-efetividade e adequação de tais procedimentos à realidade do sistema público de saúde brasileiro ainda são escassos.

O presente estudo, de caráter observacional, realizará coleta de dados retrospectiva e prospectiva.

O estudo apresentará dois braços:

1) Pacientes em risco para câncer hereditário (história familiar positiva), que após a realização do teste genético, não apresentem mutações nos genes classicamente associados às síndromes de predisposição hereditária ao câncer, serão convidados para a primeira fase do estudo, que consistirá no sequenciamento gênico em larga escala (sequenciamento do exoma), no intuito de identificar novos genes associados à sua

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO XII

Continuação do Parecer: 1.700.965

história familiar de câncer.

2) Para aquelas famílias com mutações identificadas em genes já classicamente associados ao câncer hereditário (como parte da rotina diagnóstica já estabelecida no Hospital de Câncer de Barretos), será realizada uma análise de custo-efetividade das diferentes estratégias de rastreamento e diagnóstico clínico e laboratorial das síndromes de predisposição hereditária, considerando para isso as diretrizes internacionais de rastreamento preconizadas pelo NCCN (National Comprehensive Cancer Network). Os protocolos de acompanhamento/rastreamento utilizados pelo Departamento de Oncogenética e específicos para cada síndrome de predisposição hereditária ao câncer encontram-se no Anexo 1.

Todos os pacientes do estudo serão identificados através do Departamento de Oncogenética do HCB, encaminhados para teste genético junto ao Centro de Diagnóstico Molecular do HCB e, somente após a liberação do resultado do teste genético é que serão incluídos no presente estudo (na análise de custoefetividade

caso forem positivos para alguma mutação patogênica ou, na análise molecular em larga escala caso não apresentem mutações nos genes já associados ao câncer hereditário).

Objetivo da Pesquisa:

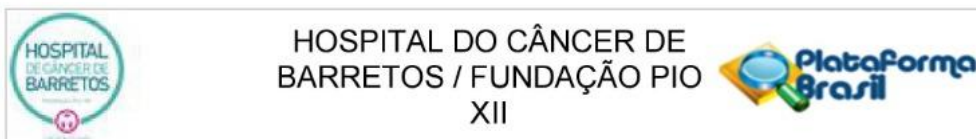
Objetivo Primário:

- Identificar fatores genéticos causais ou associados ao desenvolvimento do câncer hereditário em um grupo de pacientes com história pessoal e familiar de câncer, negativos para mutações nos genes já sabidamente associados ao desenvolvimento do câncer hereditário.

Objetivo Secundário:

- Identificar mutações deletérias nas amostras negativas para os genes já sabidamente associados ao desenvolvimento do câncer hereditário,

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.700.965

através do sequenciamento do exoma;

- Avaliar a prevalência das novas mutações em câncer hereditário;
- Realizar testes confirmatórios e análises in silico, de segregação e ensaios funcionais para validação das novas mutações encontradas;
- Descrever o perfil étnico (ancestralidade genética) de indivíduos com e sem mutações germinativas nos diferentes genes analisados e correlacionar com fatores prognósticos, características tumorais e sobrevida;
- Avaliar a custo-efetividade da implementação da rotina de testes genéticos e acompanhamento clínicocirúrgico em famílias SUS de alto risco para câncer hereditário.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

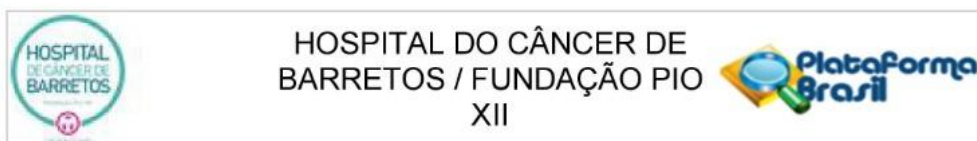
Riscos:

Há riscos mínimos envolvidos na coleta de uma amostra de sangue, que incluem dor local, sangramento, hematoma e infecção. Os riscos referentes à coleta de sangue estão relacionados à fase prospectiva do estudo (análise de segregação). Outros riscos deste estudo são principalmente de origem psicológica para aqueles participantes que desejarem saber o resultado dos testes. Saber que há maior risco de desenvolver certos tipos de câncer por possuir uma alteração genética poderia causar depressão, ansiedade, raiva e medo do futuro. Para estes casos, o aconselhamento genético tem o objetivo de ajudar o indivíduo a ajustar e lidar com a informação recebida.

Benefícios:

A realização do teste possibilita identificar pessoas em risco e encaminhá-las para programas mais intensivos de prevenção, diminuindo desta forma os danos causados pelo tumor, já que o diagnóstico e tratamento poderão ser feitos mais precocemente. Além disso, a descoberta de alterações nos

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hccancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.700.965

genes de predisposição e a comparação com alterações previamente descritas, possibilitarão uma melhor compreensão dos mecanismos da doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sem comentários e considerações adicionais.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados de forma adequada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

No TCLE 1 (do estudo) item O QUE ACONTECERÁ COM O MATERIAL QUE FOR COLETADO DE MIM? é dito que após o término do estudo o material residual será armazenado no biobanco e que se houver dúvidas deverá contactar o biobanco. no entanto. Na sequência é dito que "Não haverá comprometimento (esgotamento) da amostra já armazenada no Centro de Diagnóstico Molecular, visto que a mesma deve permanecer disponível para testes diagnósticos futuros. Definir se as amostras serão armazenadas no Biobanco de fato caso contrário altera o contato em caso de dúvidas para o setor de Diagnóstico molecular. RESPOSTA: Ambas as afirmações contidas no TCLE estão corretas. Ao solicitar-se as amostras ao Centro de Diagnóstico Molecular será solicitada uma quantidade máxima de 2 microgramas. Esse material somente será fornecido pelo Centro de Diagnóstico Molecular caso não prejudique a disponibilidade de material para testes diagnósticos futuros ou confirmações diagnósticas. Se, após a conclusão do estudo, sobrar material (desses 2ug solicitados), esse material será armazenado no Biobanco da Instituição. Essa informação estava correta no TCLE e foi clarificada no projeto (versão submetida juntamente com essa carta de resposta às pendências geradas pela avaliação do CEP).

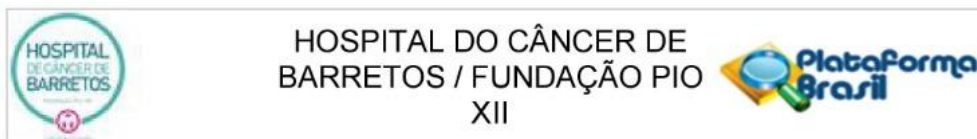
ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

TCLE para participação em pesquisa:

1. Esclarecer de maneira simples para o participante o que são Síndromes de predisposição hereditária;

RESPOSTA: Conforme solicitado, houve esclarecimento, em ambos os termos da pesquisa, do significado dessa expressão.

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.700.965

ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. Acrescentar a descrição de "genes" do TCLE Guarda e utilização de Material Biológico também neste TCLE;

RESPOSTA: Conforme solicitado, foi acrescentado, em ambos os termos da pesquisa, a definição de "gene" conforme consta no TCLE "Guarda e utilização de Material Biológico".

ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3. Esclarecer o que é o heredograma;

RESPOSTA: Houve a remoção da palavra "heredograma" em ambas as versões do TCLE do estudo, sem qualquer prejuízo à compreensão da informação sendo transmitida.

ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4. Descrever quais são os riscos e desconfortos associados a coleta de 10ml de sangue para o estudo (TCLE_2)

RESPOSTA: : Esse item não foi alterado, dado que essa informação já se encontrava descrita no respectivo item do TCLE2.

ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

NO ITEM: Quais são os meus direitos se eu quiser participar do estudo? 13) Acesso gratuito a aconselhamento genético, se houver necessidade; 5. Assegurar de forma mais clara, objetiva e detalhada os direitos que o participante de pesquisa e seus familiares terão no caso de descoberta de predisposição hereditária ao câncer (consultas, acompanhamento psicológico, realização de testes genéticos, rastreamento familiar, etc?).

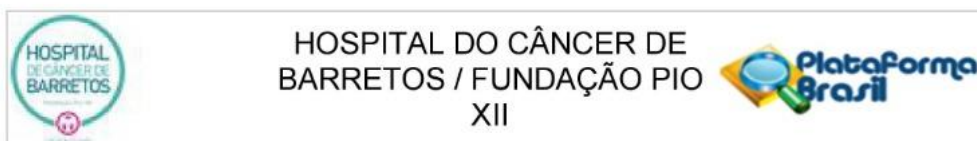
RESPOSTA: Esse item foi adequado conforme solicitado na pendência gerada pelo CEP.

ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital do Câncer de Barretos de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional Nº 001/2013 do CNS, e após a análise das respostas as pendências emitidas, manifesta-se pela APROVAÇÃO do

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331	CEP: 14.784-400
Bairro: Dr. Paulo Prata	
UF: SP	Município: BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347	Fax: (17)3321-6600
	E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 1.700.965

projeto de pesquisa proposto.

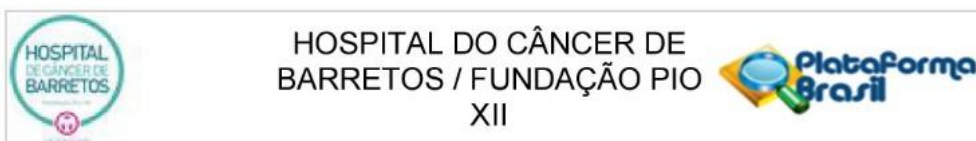
Solicitamos que sejam encaminhados ao CEP:

1. Relatórios semestrais, sendo o primeiro previsto para 28/02/2017.
2. Comunicar toda e qualquer alteração do Projeto e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de participantes deve ser temporariamente interrompida até a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.
3. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer Evento Adverso Grave ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
4. Para projetos que utilizam amostras criopreservadas, procurar o BIOBANCO para início do processamento.
5. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos, após conclusão da pesquisa, para possível auditoria dos órgãos competentes.
6. Este projeto está cadastrado no CEP-HCB sob o número 1147/2016.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_688131.pdf	19/08/2016 10:09:53		Aceito
Outros	resposta_pendencias_assinado.pdf	19/08/2016 10:09:19	Edenir Inêz Palmero	Aceito
Outros	Carta_Resposta_ao_CEP.docx	17/08/2016 13:10:53	Edenir Inêz Palmero	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE2_Pronon_CEP_versao_ressubmissao.doc	17/08/2016 13:10:27	Edenir Inêz Palmero	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE1_Pronon_CEP_versao_ressubmissao.doc	17/08/2016 13:09:47	Edenir Inêz Palmero	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pronon_CEP_versao_ressubmissao.docx	17/08/2016 13:07:59	Edenir Inêz Palmero	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Pronon_v1.docx	17/05/2016 10:00:56	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE
BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO
XII

Continuação do Parecer: 1.700.965

Outros	Declaracao_Financiamento.pdf	25/04/2016 10:27:34	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Cadastro_NAP.pdf	25/04/2016 10:26:15	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Ficha_Coleta.docx	14/04/2016 11:15:55	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.doc	14/04/2016 11:15:30	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_1.doc	14/04/2016 11:15:13	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	12/04/2016 20:17:18	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Infraestrutura.pdf	11/04/2016 16:50:23	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Responsabilidade_Pesquisador.pdf	07/04/2016 16:31:03	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Ciencia_Autorizacao.pdf	07/04/2016 16:29:37	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
Outros	Mabin.pdf	07/04/2016 16:27:46	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Biobanco.pdf	07/04/2016 16:25:44	Murilo Queiroz de Almeida Bonatelli	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BARRETOS, 29 de Agosto de 2016

Assinado por:
Thiago Buosi Silva
(Coordenador)

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hccancerbarretos.com.br