

**Rebeca Silveira Grasel**

**CÂNCER DE MAMA E OVÁRIO HEREDITÁRIOS: ANÁLISE DO PERFIL MUTACIONAL ATRAVÉS  
DE UM PAINEL DE 14 GENES DE ALTO E MODERADO RISCO**

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: Dra Edenir Inêz Palmero

BARRETOS, SP

2019

**Rebeca Silveira Grasel**

**CÂNCER DE MAMA E OVÁRIO HEREDITÁRIOS: ANÁLISE DO PERFIL MUTACIONAL ATRAVÉS  
DE UM PAINEL DE 14 GENES DE ALTO E MODERADO RISCO**

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: Dra Edenir Inêz Palmero

BARRETOS, SP

2019

## FICHA CATALOGRÁFICA

G767c Grasel, Rebeca Silveira.

Câncer de mama e ovário hereditários: análise do perfil mutacional através de um painel de 14 genes de alto e moderado risco. / Rebeca Silveira Grasel. - Barretos, SP -2019.  
207 f. : il.

Orientadora: Edénir Inêz Palmero.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2019.

1. Hereditariedade. 2. Genética. 3. Neoplasias da mama. 4. Neoplasias ovarianas. 5. Genes. 6. Genoma. 7. Genômica. 8. Risco. Autor. II. Palmero, Edénir Inêz. III. Título.

CDD 616.994

Preparada por Martins Fideles dos Santos Neto CRB8/9570

Biblioteca da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

**Rebeca Silveira Grasel**

### **CÂNCER DE MAMA E OVÁRIO HEREDITÁRIOS: ANÁLISE DO PERFIL MUTACIONAL ATRAVÉS DE UM PAINEL DE 14 GENES DE ALTO E MODERADO RISCO**

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

Data da aprovação: 15/03/2019

#### **Banca Examinadora:**

Dra. Dirce Maria Carraro

Instituição: Fundação Antônio Prudente - AC Camargo Cancer Center

Dr. Victor Evangelista de Faria Ferraz

Instituição: Universidade de São Paulo

Dra. Edenir Inêz Palmero

Orientador

Dra. Edenir Inêz Palmero

Presidente da Banca

## **SUPORTE À PESQUISA POR AGÊNCIA DE FOMENTO**

Este trabalho recebeu apoio do programa de suporte a Pós Graduação de Instituições de Ensino Particular através do sistema (SAC da CAPES), com início no período de março de 2018, inscrição regular, processo número 03384688899. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da CAPES.

“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. Embora o Núcleo de Apoio ao Pesquisador do Hospital de Câncer de Barretos tenha realizado as análises estatísticas e orientado sua interpretação, a descrição da metodologia estatística, a apresentação dos resultados e suas conclusões são de inteira responsabilidade dos pesquisadores envolvidos. Os pesquisadores declaram não ter qualquer conflito de interesse relacionado a este estudo”.

*Dedico este trabalho amorosamente ao meu marido Pedro De Marchi e a minha filha Alice Grasel De Marchi que tornaram este momento tão especial. E também a todos os “anjos” que me auxiliaram nesta jornada de mais de dois anos.*

*Dedico este trabalho profundamente a minha orientadora Dra Edenir Inêz Palmero pelo exemplo profissional e por proporcionar em meu coração o sentimento de orgulho, realização e felicidade, tal qual descrita abaixo pelo Padre Fábio de Melo. Que fique registrado o meu profundo agradecimento e admiração.*

## AGRADECIMENTOS

Não é a toa que a palavra Gratidão está na moda. Inclusive como um quadro famoso no fantástico. Agradecer por algo nos engrandece também. É reconhecendo que nada construímos sozinhos que podemos trilhar novos caminhos. Simplesmente falar um “muito obrigado” não transmite muitas vezes a imensidão do que sentimos. De maneira mais ampla, “gratidão é uma emoção que envolve um sentimento de dívida emotiva em direção à outra pessoa; frequentemente acompanhado por um desejo de agradecê-lo, ou reciprocidade por algo que fizeram por você”.

Hoje realizo um sonho. Um sonho que só foi possível por outras pessoas, também por mim é claro; mas os “outros” tornaram tudo possível e especial. Minha gratidão a todos que fizeram parte desta minha caminhada é imensa. Sinto como se eu descobrisse uma jóia rara a cada etapa que precisei de ajuda. Por isso, minha lista será grande, não posso me esquecer de ninguém. Afinal, aqui em Barretos formei uma família, “a família Barretão”. O Hospital de “Amor” (HCB) me trouxe “amor” de fato, e certamente guardarei em meu peito estas lembranças únicas de pessoas mais que especiais.

Inicialmente devo agradecer a Ele. Gratidão pela vida que Ele me concebeu; gratidão pela família que Ele me deu; gratidão pelo amor que Ele tem comigo e pelo conforto que Ele me dá; gratidão pelas pessoas que Ele coloca em minha vida; gratidão pelo zelo e cuidado que Ele tem por mim; gratidão por Ele estar comigo vivendo este sonho. Gratidão a Ele, meu Deus, por encher meu coração de coragem quando mais precisei e por ter colocado em cada degrau um anjo ao meu lado. És fortaleza, és guia, és conforto, és amor, és acima de tudo meu Salvador.

Gratidão aos meus pais Gerhard e Miria por serem meu porto seguro desde sempre, por amarem suas profissões me ensinando a gostar do que se faz e dar sentido a vida desta maneira também. Pelo incentivo ao estudo desde pequena e por não me deixarem desistir nem mesmo com a Alice na barriga. Mas principalmente pelo exemplo de pessoas que são: dignos, honestos, amorosos, ouvintes e companheiros. Ao meu pai especificamente pelas taças de vinho brindadas a cada conquista minha, pelo interesse nas ligações sobre “o que a tua chefe achou? ou como está o teu trabalho?, tu estás feliz?... e assim por inúmeras e inúmeras vezes durante mais de dois anos. E é claro, pelo dom que herdei de ti de discursar....kkkkk. A minha mãe que repetiu diversas vezes: “tu consegue!” ou “Alice não



pode ser motivo pra ti desistir!”, “treina o inglês!”, “Tu é boa eu sei!” “Eu vou te ajudar ai em Barretos e tu vai pro Hospital!”...obrigada. Foram medos compartilhados ao telefone ao som de um bebê chorando, e só posso dizer que tu és minha melhor amiga. Ver tu gerenciar tua rotina com tanta sabedoria e amor só me dava ainda mais vontade de continuar na batalha mesmo com as minhas limitações. Amo e respeito vocês mais do que possam imaginar, até pela passagem de avião no meio da semana de trabalho já comprada para vir me prestigiar. Deus foi muito generoso comigo, me fez junto a vocês.

Gratidão ao meu marido Pedro pelo seu otimismo sem fim. Frases ditas por ele diversas vezes me deram ânimo e conforto: Tudo dará certo... calma que vai dar...calma você consegue...ou... sempre da certo não dá?...eu tô aqui...não tô?. Benzinho obviamente já te perdoei por ter dado muitas gargalhadas do meu inglês quando me treinava para a apresentação do temível “JOURNAL”, (posso afirmar que foi um dos meus maiores desafios profissionais, e que quando soube que as apresentações seriam em inglês quis desistir do mestrado após a licença à maternidade) mas, graças a você este enorme desafio aconteceu de maneira incrível. Tua ajuda, teu treino, teu amor foram decisivos. Portanto, gratidão ao meu bem pelas correções de texto; pelos artigos em que me ajudou a entender e ler o inglês; pelos abraços nas horas de choro; pelas cervejas pós stresse; pelas perguntas sobre câncer hereditário demonstrando interesse no meu trabalho; pelo sorriso de orgulho que meu deu vendo meu esforço; por cuidar da BOLOTA nos últimos 5 finais de semana; pelo pai maravilhoso que és; mas, principalmente pelo “BEIJO DE FAMÍLIAAAAA”. Admiro-te também pelo profissional dedicado que és e obrigada pelo exemplo em querer buscar sempre mais e em ser melhor, isso só me motiva a crescer. Tu és meu parceiro, meu companheiro, meu benzinho... A vida é leve ao teu lado. Te amo.

Como não agradecer quem mudou o rumo de tudo? Como não falar de quem me ensinou mais que o mestrado? Mais que uma vida inteira em apenas um ano e nove meses. Ela não sabe ler, nem falar direito, mas tem tanto poder. Conhecendo ela, encontrei o amor mais puro, aquele que é incondicional; é o amor bandido. Minha paixão é uma ladra. Sim ela é. Roubou tudo. Tudo. Muitas vezes queria que este roubo não etivesse acontecendo junto ao mestrado, pela ânsia de ser uma grande aluna, uma brilhante estudante....mas ela chegou. E quem disse que eu não fui brilhante? Nossa como fui, só Deus sabe como fui. Com certeza não a melhor aluna; mas fui brilhante ao organizar pensamentos de estoque de leite materno junto a prazos de seminários, disciplinas; fui brilhante perante choros na

madrugada e febre no dia da banca de qualificação ou do afastamento da babá na semana de experimentos, e é claro fui brilhante no gerenciamento dos medos que a maternidade trás sozinha associado ao desespero dos experimentos que não davam certo. Filha, minha doce ladra Alice, gratidão a você por me fazer gerenciar melhor meu tempo, minha vaidade e minha alegria. Gratidão a você por me ensinar o melhor da vida, gratidão por ter roubado tudo. Mas saiba que a cada sorriso teu, me devolves em dobro o sentimento mais genuíno que possa existir. Amo além do amor.

Agora chegou a vez de agradecer a ela. A mulher maravilha. Dizer que te admiro pela profissional que és é muito fácil. Quem não te admira? Tu és F...; tuas aulas, tuas explições, teu conhecimento são admiráveis e já te disse que isso é um dom. PS: favor continuar! Tu és exemplo de luta, de muito trabalho, de determinação, de honestidade (muito), de noites em claro, mas, principalmente exemplo de paixão pelo que se faz. Talvez seja este o segredo do teu sucesso. Puxou minha orelha? Sim. Uma vez só? Não. Eu chorei? Óbvio eu sempre choro. Mas me fez crescer? Muito. Me deu sorrisos quando precisei? Sim. Vibrou comigo nos meus sequenciamentos? Sim. Leu minha discussão antes do prazo porque eu estava nervosa? Sim. Me proporcionou um mega curso em São Paulo? Sim. Tu fizeste tudo. Tudo aquilo que eu precisava para chegar até aqui. Tu me proporcionaste um sentimento de plenitude que jamais esquecerei. A frase dita por mim: *“Edenir não consegui lidar com tamanha alegria, satisfação, orgulho do meu primeiro sequenciamento sanger completo”* ficará guardada para sempre. Além da profissional exemplar, és também a amiga Edenir. Aliás, uma mistura de orientadora mãe com amiga que é difícil explicar. Muitas vezes fiquei pensando como ela consegue fazer tanta coisa bem feita com dois filhos? E hoje sei a resposta. Quando de fato queremos e depositamos amor no trabalho desejado dá certo. Gratidão a você Edenir, por ser a atriz principal da maior curva de aprendizado que já tive na vida. Curva esta que me enche de orgulho e satisfação. Gratidão por ter encontrado você na oncogética e por ter me aceito mesmo cheia de limitações no grupo de Câncer Hereditário. Obrigada!

Gratidão ao grupo de Câncer hereditário. Todos. Aqueles que entraram à pouco tempo e aqueles que já saíram. Certamente falar de amigos é fácil; meu coração transborda de felicidade por ter tido vocês comigo em mais de dois anos. Poderia iniciar pelo Vitor que não está mais no grupo, mas que teve um papel especial e fundamental. Júpter querido gratidão pela parceria e amizade, e não esquece da Alice “daminha” quando você casar.

Gratidão a minha amiga Nátalia C., que foi a primeira do grupo que conheci, o ser humano mais doce, meigo e cheio de purpurinas e cores que existe. Pronta para se doar a qualquer ser vivo em meio a qualquer furacão. Uma amiga para toda a vida. Gratidão a você Nati pelos abraços nos meus choros, por todas as palavras de conforto, por me entender em todos os sentimentos (afinal nos parecemos um pouco neh amiga!), pelos incentivos para eu me tornar melhor como estudante e como pessoa, pela ajuda imensa com fichas de coleta, cartas, heredogramas (muitos fizemos juntas e de fato somos uma ótima equipe), cafés, discussões sobre casos etc. Pelas jantãs e pelas delícias preparadas para acalantar nossos corações. E, principalmente, por me encher de alegria ao saber que iria vê-la no hospital.

Igualmente a minha eterna amiga Paulinha, que desde o primeiro dia que a conheci os santos bateram,..kkkk. Como a gente se deu bem neh? E como sempre dizemos uma à outra: *“ainda bem que sou casada e tenho uma filha porque senão o Barretão estaria perdido”*. Gratidão a você Paulinha também pelo conforto nos meus choros, por me ouvir e partilhar angústias comigo. Gratidão a você pela inteligência compartilhada (que convenhamos é fora da curva), pelos ensinamentos de técnicas moleculares, pelas figuras de alto nível que me ajudaste, pelas dicas (inúmeras de sites..etc), pelos artigos...por tudo. Tu foste muito, mais muito, muito além de uma colega. Tua alegria modificou meus dias e me trouxe felicidade em te encontrar a cada manhã. Agradeço a tua mãe também por todo carinho comigo e com a Alice mesmo com tão pouco contato. Você sabe que mora no meu coração para sempre.

Gratidão a uma amiga que chegou de mansinho, pouco tempo depois e se tornou tão gigante como as outras. Ariane você foi essencial neste tempo de mestrado. Não posso deixar de mencionar teu dom de ensinar; és pacienzosa, didática, amorosa e inteligente. Fez com que minhas técnicas parecessem bem mais “fáceis” do que realmente eram. Gratidão a você por todas as ajudas quando voltei de licença (no excel com as variantes; e no ensembl), mas principalmente, gratidão a você pela amizade que se iniciou de maneira tão natural e espontânea. Obrigada pelos abraços, pelo conforto e também pelas risadas. Tu és uma pessoa incrível e quem te conhece sabe o coração grandioso que tens! Gratidão por tudooooo!

Gratidão mais do que especial aos meus amigos do Diagnóstico Molecular: Cristina, André, Gabriela e Sâmia. Além do Painel gênico, das técnicas ensinadas e familiares testados, há muito ainda o que agradecer. Realmente acho que em poucas palavras não conseguirei

expressar todo o imenso sentimento de agradecimento que sinto. Vocês me abraçaram desde o primeiro dia, praticamente me senti adotada por terem me dado tanto carinho e atenção em um assunto muito abstrato e difícil pra mim. Em meio a uma rotina puxada de trabalho, vocês me incluíram me orientaram, me ensinaram, responderam sempre todos os meus duzentos mil e-mails, e ainda por cima com um sorriso no rosto e bom humor. Vocês de fato merecem mais do que uma lembrança, vocês são parte fundamental desta conquista. Gratidão imensurável!

Gratidão ao meu amigo “Senhorito Tonhão” por não ter medido esforços para me ajudar sempre em qualquer momento. Pelos áudios à noite para debater os programas de predição *in silico* e pelo conforto em momentos de desespero pessoal e profissional. Sou tua fã. Da mesma forma, agradeço a minha linda amiga Rafaela pela paciência em me ensinar “a extrair DNA” mesmo não fazendo parte do meu grupo e em meio a mil tarefas pessoais. Gratidão também ao Bilogista André pela imensa ajuda na programação das “padronizações de PCR” comigo semana a semana, você foi fera!

Gratidão a minha amiga Edilene que teve papel fundamental em meu mestrado, fazendo análise e mais análises de bioinformática para mim. Obrigada por ler e corrigir também minha dissertação dando sugestões pertinentes. Obrigada pelas risadas e momentos de alegria, você é especial! Não posso deixar de agradecer a Bioinformata Dra Adriane Feijó (Dri) que foi uma grande professora no curso e que também salvou minha vida algumas vezes. Dri obrigada pela planilha mágica e por tudo que fizeste para mim! Agradeço também ao Bioinformata Leandro pela ajuda com as variantes germinativas rodadas no programa QCI. Valeu mesmo!

Gratidão aos meus amigos Cíntia, Murilo, Aline, Marcela, Carol Rogeri, Isa, Elisa, Aninha, Dani, Paula, Carolzinha, Letícia Ferro, Ângela, Viviane, Renato, Carol laus, Fernanda Curry, Lê e Karina pelos sorrisos, abraços, cervejas, alegrias e choros. Agradeço a Deus por ter tido vocês junto comigo, certamente fizeram e fazem a diferença em minha vida. Amigos queridos muito obrigado!

Gratidão ao meu sogro Márcio, minha sogra Marta, aos meus cunhados Lucas, Talita, Maria Àurea e Guilherme. Vocês preenchem com tanto amor a minha vida que não tenho palavras para agradecer. Obrigada pelo incentivo, pelas folgas com a Alice, pelas risadas e momentos inesquecíveis em família. Amo muito vocês. Em especial, agradeço a minha cunhada Maria que me proporcionou a realização de um curso sensacional em São Paulo, deixando de

trabalhar para cuidar da Alice aqui em Barretos durante uma semana. Sem você nada disso seria possível. Gratidão, gratidão, gratidão!!!

Gratidão a melhor Babá do mundo! Fabi você fez com que meu coração ficasse em paz toda vez que sai e deixei o meu bem mais precioso em teus braços, desde os seis meses de vida. Tua paciência, teu amor e dedicação com a Alice me fazem agradecer todo dia a Deus por ter te colocado em nossas vidas. Obrigada por entender minhas correrias, por até fazer o mercado pra mim algumas vezes, por trazer bolos deliciosos, pelos almoços maravilhosos, pelas papinhas da Alice, pelas dicas na criação dela e pelo conforto e segurança que me deste durante este tempo. Tudo isso foi essencial e a Alice agradece muito também!

Gratidão aos meus melhores amigos, Kerlen, André, Vinícius e Thaís, por serem meus pilares em todos os sentidos, os irmãos que a vida me permitiu escolher. Obrigada por me ouvirem e me encherem de alegria e de orgulho quando mais precisei. Vocês são meu Quinteto Fantástico, e quem sabe um dia a pesquisadora da NASA entra para a história de fato...kkkk. Amo.

Gratidão à banca de acompanhamento Dra. Dirce Carraro e Dra Rozany Dufloth pelas pertinentes sugestões, discussões, pela dedicação a mim e ao meu crescimento profissional. Em especial a Dra Dirce que abrilhantou de uma maneira formidável toda a estrutura do trabalho, me fazendo enxergar os resultados do estudo com outro enfoque e contribuindo de maneira imensurável nas discussões de pontos relevantes e não relevantes.

Gratidão ao Departamento de Oncogenética pela imensa ajuda nesta jornada que estivemos juntos por inúmeras vezes. Ao Dr Henrique, Dr Otávio, Dra Laura, Andressa, Elaine, Enfermeira Creuza, Nayara e Jaqueline. Em especial a Carol (administrativo) que além de amiga foi peça chave nos atendimentos. Muito obrigada!

Gratidão ao CPOM pela oportunidade de fazer parte deste grupo de excelência em ensino e crescimento profissional.

Gratidão ao NAP (Núcleo de Apoio ao Pesquisador) e ao NEB por todo suporte prestado.

Gratidão ao departamento de Pós Graduação (Brenda, Silvana, Mariana e Dely) pela paciência e esclarecimento de dúvidas.

Gratidão aos funcionários da Biblioteca Martins e Milene por toda ajuda, explicações e auxílios em todos os momentos.

Gratidão ao Same do HCB, em especial ao Júlio e ao Cleber pela ajuda na busca dos prontuários quando mais precisei.

Gratidão aos mestres das disciplinas que foram magníficos no meu processo de aprendizagem.

Gratidão ao apoio do programa de suporte a Pós Graduação de Instituições de Ensino Particular através do sistema (SAC da CAPES) e do Hospital de Câncer de Barretos.

Gratidão, enfim, à aqueles que são o motivo da inquietude e do desejo de se buscar novas pesquisas: aos pacientes. Gratidão pela participação voluntária neste estudo, tornando possível este momento.

*“A felicidade que mais repercute em nós é a que foi alcançada pelo esforço, pelo empenho que não nos dispensou da dor, do caminho árduo e da decepção. A felicidade que mais derrama alegrias sobre nós é a que sabemos ter merecido. A consciência não se engana. Troca grandes feitos herdados por pequenos feitos conquistados. Ela sabe tudo. Felicidade sem esforço é desprovida de valor. Pode até provocar encanto nos outros, mas não provoca em quem hospeda.”*

**Pe Fábio de Melo**

## SUMÁRIO

<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Câncer Hereditário</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Câncer de Mama e/ou ovário Hereditários (CMOH)</b>	<b>1</b>
<b>1.3 Genes de alto risco associados ao CMOH</b>	<b>2</b>
1.3.1 BRCA1 e BRCA2	2
1.3.2 TP53	6
1.3.3 PTEN	10
1.3.4 CDH1	10
1.3.5 PALB2	11
1.3.6 STK11	12
<b>1.4 Genes de Moderado Risco</b>	<b>13</b>
1.4.1 CHEK2	13
1.4.2 ATM	14
1.4.3 MRE11-RAD50-NBN1- (MRN)	15
1.4.4 FAMÍLIA FANC	16
1.4.5 FAMÍLIA RAD51	17
1.4.6 BARD1	18
1.4.7 MUTYH	19
<b>1.5 Genes de Baixo Risco e/ou Polimorfismos</b>	<b>20</b>
<b>1.6 Análises em Larga Escala do DNA</b>	<b>21</b>
<b>1.7 Painéis Gênicos em CMOH</b>	<b>23</b>
1.7.1 Variantes de Significado Clínico Desconhecido no CMOH	25
<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>27</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>28</b>
<b>1.8 Objetivo Geral</b>	<b>28</b>
<b>1.9 Objetivos Específicos</b>	<b>28</b>
<b>METODOLOGIA</b>	<b>29</b>
<b>1.10 Delineamento do estudo</b>	<b>29</b>



1.10.1	Tipo de estudo/amostra	29
1.10.2	Critérios de Inclusão:	29
1.10.3	Critérios de Exclusão:	29
1.10.4	Casuística e Delineamento do Estudo	29
1.10.5	Caracterização dos subtipos moleculares dos tumores de mama	31
1.10.6	Análise estatística	31
<b>1.11</b>	<b>Análises Laboratoriais</b>	<b>31</b>
1.11.1	Extração de DNA genômico a partir de sangue periférico e controle de qualidade das amostras	31
1.11.2	Sequenciamento Painel gênico	32
<b>1.12</b>	<b>Análise da frequência das variantes em bancos populacionais</b>	<b>33</b>
<b>1.13</b>	<b>Análise da patogenicidade das variantes</b>	<b>34</b>
<b>1.14</b>	<b>Validação dos resultados – Sequenciamento convencional</b>	<b>34</b>
<b>1.15</b>	<b>Validação dos resultados - Análise de segregação</b>	<b>34</b>
<b>ASPECTOS ÉTICOS</b>		<b>36</b>
<b>RESULTADOS</b>		<b>37</b>
<b>1.16</b>	<b>Caracterização da Amostra</b>	<b>37</b>
<b>1.17</b>	<b>Caracterização Molecular</b>	<b>48</b>
<b>1.18</b>	<b>Confirmação das variantes selecionadas pelo Método de Sanger</b>	<b>50</b>
<b>1.19</b>	<b>Variantes germinativas patogênicas e do tipo VUS do painel gênico</b>	<b>51</b>
<b>1.20</b>	<b>Caracterização das pacientes com as 16 variantes germinativas selecionadas</b>	<b>55</b>
<b>1.21</b>	<b>Variantes selecionadas para realização da segregação Familiar pela classificação ACMG 56</b>	
<b>DISCUSSÃO</b>		<b>71</b>
<b>CONCLUSÃO</b>		<b>87</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>		<b>89</b>
<b>ANEXOS</b>		<b>105</b>

<b>ANEXO 1. Ficha de coleta do estudo</b>	<b>105</b>
<b>ANEXO 2. CRITÉRIOS DE BENIGNIDADE E PATOGENICIDADE DA ACMG<sup>141</sup></b>	<b>140</b>
<b>ANEXO 3. HISTÓRIA FAMILIAR DAS PARTICIPANTES (PACIENTES-FC)</b>	<b>144</b>
<b>ANEXO 4: COBERTURA HORIZONTAL DO PAINEL GÊNICO DAS REGIÕES ONDE MAIS DE 50% DOS AMPLICONS FORAM COBERTOS MENOS DE 50X EM MAIS DE 50% DAS PACIENTES</b>	<b>150</b>
<b>ANEXO 5. VARIANTES POR PACIENTE (ID-FC)</b>	<b>153</b>
<b>ANEXO 6. DESCRIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS 55 VARIANTES GERMINATIVAS DE ACORDO COM OS BANCOS DE DADOS CLINVAR E HGMD E CLASSIFICAÇÃO ACMG</b>	<b>169</b>
<b>ANEXO 7. CLASSIFICAÇÃO DAS 55 VARIANTES GERMINATIVAS DE ACORDO COM PROGRAMAS DE PREDIÇÃO <i>IN SILICO</i></b>	<b>173</b>
<b>ANEXO 8. CLASSIFICAÇÃO DAS 55 VARIANTES GERMINATIVAS DE ACORDO COM OS BANCOS POPULACIONAIS GNOMAD E ABRAOM</b>	<b>179</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Critérios Chompret revisados (2015)	8
<b>Figura 2.</b> Gene <i>PALB2</i> associado ao alto risco para câncer de mama	12
<b>Figura 3.</b> <i>Timeline</i> dos eventos importantes relacionados aos tumores de mama e ovário hereditários	22
<b>Figura 4.</b> Fluxograma do delineamento do estudo	30
<b>Figura 5.</b> Quadro de Evidências para a classificação de variantes da ACMG	35
<b>Figura 6.</b> Resultado do painel de 14 genes relacionados ao CMOH	48
<b>Figura 7.</b> Resultados Painel – Fluxograma dos filtros para exclusão das variantes germinativas identificadas	51
<b>Figura 8.</b> Caracterização das pacientes com as 16 variantes germinativas selecionadas	55
<b>Figura 9.</b> Localização da variante c.1009G>T do gene <i>RAD51c</i>	57
<b>Figura 10.</b> Heredograma FC 640	61
<b>Figura 11.</b> Localização da variante c.9086G>A do gene <i>ATM</i>	62
<b>Figura 12.</b> Heredograma nº2 - FC 1046	63
<b>Figura 13.</b> Localização da variante c.1036C>T do gene <i>CHEK2</i>	64
<b>Figura 14.</b> Heredograma nº3 - FC 1095	65
<b>Figura 15.</b> Localização da variante c.316C>T do gene <i>BRIP1</i>	66
<b>Figura 16.</b> Heredograma nº4 - FC 306	67
<b>Figura 17.</b> Localização da variante c.482A>G do gene <i>MRE11A</i>	68
<b>Figura 18.</b> Localização da variante c.4709T>C do gene <i>ATM</i>	68
<b>Figura 19.</b> Heredograma nº5 - FC 133	70

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Classificação de subtipos moleculares para o Câncer de Mama	31
<b>Tabela 2.</b> Painel gênico	32
<b>Tabela 3.</b> Dados sociodemográficos das 52 mulheres incluídas no estudo	37
<b>Tabela 4.</b> Variáveis relacionadas a risco para desenvolvimento de câncer de mama e/ou ovário (n=52)	39
<b>Tabela 5.</b> Características clínico-patológicas das 52 pacientes incluídas no estudo	39
<b>Tabela 6.</b> Características clínicopatológicas dos 53 cânceres de mama	40
<b>Tabela 7.</b> Subtipo molecular dos 53 cânceres de mama	42
<b>Tabela 8.</b> Características clínicopatológicas dos 5 casos de câncer de ovário	42
<b>Tabela 9.</b> História Familiar das probandas incluídas no estudo	43
<b>Tabela 10.</b> Detalhamento da História familiar das probandas incluídas no estudo	46
<b>Tabela 11.</b> Descrição das 16 variantes- resultado painel Gênico ION Torrent-PMG	53
<b>Tabela 12.</b> Variantes selecionadas para segregação familiar	56
<b>Tabela 13.</b> Critérios ACMG- Descrição dos códigos das evidências das 6 variantes selecionadas para segregação	57
<b>Tabela 14.</b> Familiares inseridos no estudo de segregação Familiar	59

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ACMG</b>	Colégio Americano de Genética Médica ( <i>American College of Medical Genetics</i> )
<b>AG</b>	Aconselhamento Genético
<b>AMP</b>	Associação de Patologia Molecular ( <i>Association for Molecular Pathology</i> ) Sociedade Americana de Oncologia Clínica ( <i>American Society of Clinical</i>
<b>ASCO</b>	<i>Oncology</i> )
<b>BER</b>	<b>ou</b>
<b>REB</b>	Reparo por excisão de base ( <i>Base excision repair</i> )
<b>CA</b>	Câncer
<b>CAP</b>	Colégio Americano de Patologia
<b>CDI</b>	Carcinoma ductal invasor
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa
<b>CI</b>	Intervalo de Confiança ( <i>Confidence Interval</i> )
<b>CK</b>	Citoqueratina
<b>CM</b>	Câncer de mama
<b>CMH</b>	Câncer de mama hereditário
<b>CMOH</b>	Câncer de mama e ovário hereditários
<b>COH</b>	Câncer de ovário hereditário
<b>DBS</b>	Quebra de dupla fita ( <i>Double strand breaks</i> )
<b>DEB-teste</b>	Diepoxibutano-teste
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico ( <i>Deoxyribonucleic acid</i> )
<b>ExAC</b>	Consórcio de agregação de Exomas ( <i>Exome Aggregation Consortium</i> )
<b>FA</b>	Anemia de Fanconi
<b>FC</b>	Câncer Familiar ( <i>Familial Cancer</i> )
<b>GWAs</b>	Estudos da associação do genoma amplo ( <i>Genome Wide Association studies</i> )
<b>HA</b>	Hospital de Amor
<b>HBOC</b>	Câncer de mama e ovário hereditários (Hereditary breast and ovarian cancer) Receptor de fator de crescimento epidérmico ( <i>Human epidermal growth factor</i>
<b>HER2</b>	<i>receptor 2</i> )
<b>HF</b>	História familiar

	Banco de Dados de Mutações de Genes Humanos ( <i>Human Gene Mutation Database</i> )
<b>HGMD</b>	<i>Database</i> )
<b>HRR</b>	Reparo por recombinação homóloga ( <i>Homologous recombination repair</i> )
<b>INC</b>	Inconclusivo
<b>INDEL</b>	Inserções /Deleções
<b>LFL</b>	<i>Li-Fraumeni Like</i>
<b>LOF</b>	Perda de função ( <i>Loss of function</i> )
<b>MAF</b>	Menor frequência alélica ( <i>Minor allele frequency</i> )
	Amplificação da sonda dependente de ligação multiplex ( <i>Multiplex Ligation-</i>
<b>MLPA</b>	<i>dependent Probe Amplification</i> )
<b>MRN</b>	<i>MRE11-RAD50-NBN1</i>
<b>NCCN</b>	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
<b>NER</b>	Reparo por excisão de nucleotídeo ( <i>Nucleotide excision repair</i> )
<b>NGS</b>	Sequenciamento de nova Geração ( <i>Next Generation sequencing</i> )
<b>NR</b>	Não relatadas
<b>NSABP</b>	Ensaio de Prevenção do Câncer de Mama ( <i>Breast Cancer Prevention Trial</i> )
<b>OR</b>	Razão de Probabilidades ( <i>odds ratio</i> )
<b>PAM</b>	Polipose Associada ao gene <i>MUTYH</i>
<b>PCR</b>	Reação em cadeia da Polimerase ( <i>Polymerase chain reaction</i> )
<b>RCV</b>	Risco Cumulativo Vital
<b>RE</b>	Receptor de Estrógeno
<b>RH</b>	Recombinação Homóloga
<b>RP</b>	Receptor de Progesterona
<b>RR</b>	Risco Relativo
<b>SLF</b>	Síndrome de Li-Fraumeni
<b>SNP</b>	Polimorfismo de nucleotídeo simples ( <i>Single nucleotide polymorphism</i> )
<b>SNV</b>	Variante de nucleotídeo simples ( <i>Single nucleotide variant</i> )
<b>SPJ</b>	Síndrome Peutz-Jeghers
<b>TCGA</b>	O Atlas do Genoma do Câncer ( <i>The Cancer Genome Atlas</i> )
<b>TCLE</b>	Termo de consentimento livre e esclarecido
<b>TN ou TPN</b>	Tripla Negativo

<b>TRH</b>	Terapia de reposição hormonal
<b>UTR</b>	Região não traduzida ( <i>Untranslated region</i> )
<b>VUS</b>	Variante de Significado Clínico Incerto
<b>WT</b>	Tipo selvagem ( <i>wild-type</i> )

## RESUMO

Grasel RS. Câncer de mama e ovário hereditários: análise do perfil mutacional através de um painel de 14 genes de alto e moderado risco. **Dissertação (mestrado)**. Barretos: Hospital de Câncer de Barretos; 2019.

**Introdução:** O câncer de mama (CM) é hoje um problema de saúde pública e cerca de 5% a 10% dos casos são de origem hereditária. A identificação de indivíduos em risco para câncer hereditário se faz necessária, uma vez que: 1) indivíduos afetados apresentam risco cumulativo vital elevado para o desenvolvimento de câncer; 2) familiares de um indivíduo afetado podem estar em risco; e 3) existem medidas de rastreamento intensivo e intervenção preventiva que podem diminuir, significativamente, o risco de câncer em portadores de variantes germinativas patogênicas. Os genes *BRCA1* e *BRCA2* ainda lideram como sendo os principais genes relacionados ao câncer de mama e/ou ovário hereditários (CMOH), embora respondam por apenas cerca de 15% a 20% dos casos. Dessa forma, considerando o fato de que muitas famílias de alto risco ainda não possuem uma causa atribuída para o fenótipo de câncer, torna-se necessário que outros genes (de alto e moderado risco já associados ao CMOH) sejam testados. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é avaliar o perfil mutacional de pacientes com história pessoal e/ou familiar sugestiva de CMOH (câncer de mama e ovário hereditários) através de um painel com 14 genes de alto e moderado risco para câncer de mama/ovário hereditários. **Métodos:** Foram incluídas no presente estudo 52 pacientes do sexo feminino, não aparentadas entre si, com história pessoal e/ou familiar sugestiva de câncer de mama e ovário hereditários e negativas para variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Estudo retrospectivo que utilizou um painel gênico composto por 14 genes de alto e moderado risco. A análise molecular foi feita por sequenciamento de nova geração (*Ion Torrent PGM*). Os dados obtidos foram avaliados através de consultas em bancos de dados doença-específicos e populacionais, bem como através de programas de predição *in silico*. Os critérios preconizados pela ACMG (*American College of Medical Genetics*) foram utilizados para a classificação das variantes conforme seu risco de patogenicidade. Posteriormente, as variantes classificadas como classes 3, 4 e 5 foram confirmadas por sequenciamento Sanger. As variantes classificadas como classe 3 pelo ACMG foram selecionadas para realização de



análises de segregação. **Resultados:** Foi identificado, nas 52 pacientes, um total de 458 variantes germinativas. Após aplicações de filtros, 16 variantes nos genes *ATM*, *BRIP1*, *CHEK2*, *MRE11A*, *MUTYH*, *PALB2*, *RAD50* E *RAD51C* foram selecionadas e confirmadas. Destas, duas variantes germinativas foram classificadas como patogênicas (3,8%): uma do tipo “frameshift”: **c.1138delC** no gene ***MUTYH*** (em heterozigose), e uma SNV (*Single Nucleotide Variant*), localizada em um sítio de *splicing*: **c.315-2A>G** no gene ***MRE11A***. Já a frequência de VUS foi de **25%**. Na análise de segregação, foram avaliadas 6 variantes germinativas (*ATM* c.4709T>C e c.9086G>A; *BRIP1* c.316C>T; *MRE11A* c.482A>G; *RAD51C* 1009G>T e c.1036C>T em *CHEK2*) e apenas uma demonstrou estar segregando com a doença (*BRIP1* c.316C>T). **Discussão:** A associação entre variantes patogênicas germinativas nos genes *MRE11A* e *MUTYH* e o CMOH ainda é questionada. Novos estudos são necessários para que esta relação seja estabelecida. A VUS c.316C>T que segregou junto à doença, demonstrou novos fenótipos além de ovário relacionados ao gene *BRIP1*, tais como mama, melanoma e tireóide. Além disso, o fenótipo câncer de bexiga, presente no familiar que não pode ser testado (falecido) foi relatado na literatura em duas outras famílias. A variante c.1036C>T em *CHEK2*, não segregou com a doença na família estudada, sugerindo não estar sendo a causa de câncer relacionada, entretanto, a literatura demonstra em grandes estudos caso-controle haver associação de risco elevado com esta variante *missense* específica. Adicionalmente a não segregação da VUS c.1009G>T no gene *RAD51C*, reforçou a forte associação de risco do gene com tumores de ovário, e que foram ausentes na família estudada. **Conclusão:** Estes achados fornecem evidências a respeito da presença de alterações germinativas em genes de moderado risco, atribuindo importância na inclusão de outros genes de alto e moderado risco em painéis gênicos (além dos genes *BRCA1* e *BRCA2*) para se investigar famílias de alto risco para HBOC e, desta forma, contribuir no gerenciamento de risco na prática clínica destas famílias.

**Palavras-Chave:** 1. Hereditariedade, 2. Genética, 3. Neoplasias da mama, 4. Neoplasias ovarianas, 5. Genes, 6. Genoma, 7. Genômica, 8. Risco, 9. Mutação, 10. Genes Supressores.

## ABSTRACT

Grasel RS. Hereditary Breast and ovarian cancer: analysis of the mutational profile through a panel of 14 high and moderate risk genes. **Dissertation (Mester's degree)**. Barretos: Hospital de Câncer de Barretos; 2019.

**Introduction:** Breast cancer (BC) is a public health problem and about 5% to 10% of the cases are hereditary. The identification of individuals at risk for hereditary cancer is necessary, since: 1) affected individuals present a high cumulative risk for the development of cancer; 2) family members of an affected individual may be at risk; and, 3) there are measures of intensive screening and preventive intervention that can significantly reduce the risk of cancer in patients with pathogenic germline variants. The *BRCA1* and *BRCA2* genes (high-risk genes) are considered the major genes related to hereditary breast and/or ovary cancer, although they account for only 15% to 20% of cases. Considering that many high-risk families do not have a cause attributed to the cancer phenotype, it is necessary that other genes (high and moderate risk already associated with HBOC) be tested. **Objective:** The objective of this study is to evaluate the mutational profile of patients with a personal and/or familial history suggestive of HBOC through a panel of 14 high and moderate risk genes for hereditary breast / ovarian cancer. **Methods:** We included 52 female patients, not related to each other, with a personal and / or family history suggestive of hereditary and negative hereditary breast and ovarian cancers for pathogenic germ variants in the *BRCA1* and *BRCA2* genes. A retrospective study using a gene panel composed of 14 high and moderate risk genes. Molecular analysis was performed by new generation sequencing (Ion Torrent PGM). The data obtained were evaluated through consultations in disease-specific and population databases, as well as through in silico prediction programs. The criteria recommended by ACMG (American College of Medical Genetics) were used to classify the variants according to their risk of pathogenicity. Subsequently, variants classified as classes 3, 4 and 5 were confirmed by Sanger sequencing. Variants classified as class 3 by ACMG were selected for segregation analysis. **Results:** A total of 458 germinative variants were identified in the 52 patients. After filter applications, 16 variants in the *ATM*, *BRIP1*, *CHEK2*, *MRE11A*, *MUTYH*, *PALB2*, *RAD50* and *RAD51C* genes were selected and confirmed. Of these, two germ variants were classified as pathogenic (mutation rate of 3,8%), being one of the frameshift type

c.1138delC in the *MUTYH* gene (in heterozygosity), and one SNV (Single Nucleotide Variant), located at a splice site: c.315-2A> G in the *MRE11A* gene. The frequency of VUS was 25%. In the analysis of segregation, 6 germ variants (*ATM* c.4709T> C and c.9086G> A; *BRIP1* c.316C> T; *MRE11A* c.482A> G; *RAD51C* 1009G> T and c.1036C> T in *CHEK2* ) and only one has been shown to be segregating with the disease (*BRIP1* c.316C> T). We did not find any germ variant in the already established genes of high risk. **Discussion:** The risk association of *MRE11A* and *MUTYH* genes with HBOC is still questioned even in class 5 (pathogenic) variants. New studies are needed for this relationship to be established. The VUS c.316C> T that segregated along the disease, showed new phenotypes besides ovary related to the *BRIP1* gene, such as breast, melanoma, and thyroid. In addition, the bladder cancer present in the family that can not be tested (deceased) has been reported in the literature in two other families. The variant c.1036C> T in *CHEK2* did not segregate with the disease in the studied family, suggesting that it is not being the cause of related cancer, however, the literature shows, in large case-control studies, that this is a high risk missense variant. In addition to the non-segregation of VUS c.1009G> T in the *RAD51C* gene, it reinforced the strong risk association of the gene with ovarian tumors, which were absent in the study family. **Conclusions:** These findings provide evidence for moderate risk genes, attaching importance to the inclusion of other high and moderate risk genes (in addition to the *BRCA1* and *BRCA2* genes) to investigate high-risk families for HBOC and thus contribute to the management of risk in the clinical practice of these families.

**Key words:** 1. Heredity, 2. Genetics, 3. Breast neoplasms, 4. Ovarian neoplasms, 5. Genes, 6. Genome, 7. Genomic, 8. Risk, 9. Mutation, 10. Genes Suppressors.

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 1.1 Câncer Hereditário

O câncer é responsável por mais de 12% de todas as causas de óbito no mundo: mais de sete milhões de pessoas morrem anualmente da doença. Para a maior parte dos tumores malignos conhecidos estima-se que 5% a 10% sejam hereditários e 20% a 30% correspondam a agrupamentos de tumores ocorridos em uma mesma família, ou tumores familiares<sup>1</sup>.

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. Segundo, porque familiares de um indivíduo afetado podem se encontrar em risco<sup>2, 3</sup>. Terceiro, porque medidas de rastreamento intensivo e intervenções preventivas (cirurgias profiláticas e quimioprevenção) se mostram eficazes em reduzir significativamente o risco de câncer em portadores de variante germinativa patogênica<sup>2, 4-13</sup>. Além disso, a identificação precisa de um indivíduo não-afetado em uma família de risco permite tranquilizar o indivíduo e elimina os gastos e complicações de rastreamento e intervenções preventivas desnecessárias<sup>2, 12, 14, 15</sup>.

### 1.2 Câncer de Mama e/ou ovário Hereditários (CMOH)

Dentre todos os casos de câncer de mama e ovário aproximadamente 7% são tumores hereditários<sup>16</sup>. A primeira descrição na literatura de que o câncer de mama poderia ter um componente familiar ou hereditário foi feita por Le Dran em 1757, quando descreveu o caso de uma jovem de 19 anos com câncer de mama, cuja avó e tio maternos tinham falecido por câncer de mama<sup>17</sup>. No século XIX um cirurgião Francês chamado Paulo Broca descreveu quatro gerações de uma mesma família que apresentava 10 mulheres afetadas por câncer de mama, e que estes tumores se desenvolviam, em geral, antes da menopausa, poderiam ser bilaterais e estavam associados aos tumores de ovário. Constatou-se então claramente a natureza hereditária dentro de famílias com câncer de mama<sup>17</sup>.

A história familiar de câncer em familiares de primeiro grau e a presença de fatores específicos de risco (como câncer bilateral, indivíduos com múltiplos tumores primários, casos de câncer em idade jovem, presença de várias gerações afetadas por câncer, ocorrência de tumores de histologia rara) são indicadores importantes de risco para o câncer hereditário<sup>18, 19</sup>. Trabalho publicado por Carraro e colaboradores<sup>20</sup>, analisou 54 mulheres

com câncer de mama (CM) jovem (idade inferior a 35 anos) e detectou a presença de variantes germinativas patogênicas em 22% delas. Quando consideradas apenas as com história familiar positiva para câncer o percentual de mutadas aumentou para 43,7%. Em estudo publicado por Crispo e colaboradores, o Risco Relativo (RR) para desenvolvimento de CM foi de 1,25 (0,83-1,87) para quem tem 1 familiar de primeiro grau com câncer e 4,79 (0,77-29,78) para quem tem 2 ou mais familiares de primeiro grau afetados. Para aquelas pessoas com familiares de primeiro e segundo graus com câncer, o risco variou de 4,44 (1,49-13,17) para quem tem 2 familiares a 6,14 (1,75-21,56) para quem tem 4 familiares de primeiro ou segundo graus com CM<sup>21</sup>.

A descoberta dos genes de alto risco por sequenciamento convencional (método de Sanger) possibilitou a identificação de portadores de variantes germinativas patogênicas, proporcionando de uma maneira geral um avanço no câncer hereditário<sup>22</sup>. Novas metodologias de sequenciamento com avanços nas técnicas moleculares (sequenciamento de terceira ou nova geração) foram desenvolvidas e começaram a ser utilizadas. Estes avanços deram início a uma nova era de descobertas, e, conseqüentemente, a uma melhor compreensão em relação aos mecanismos de carcinogênese com novos grupos de genes sendo envolvidos na arquitetura das neoplasias malignas de mama e ovário<sup>23</sup>. Além disto, verificou-se que o risco de predisposição ao câncer era diferente gene a gene<sup>24</sup>.

Estes riscos de predisposição podem ser diferentes para cada gene. Existe uma classificação para os níveis de predisposição/susceptibilidade: são chamados de “alelos raros de alto risco”, que conferem um risco entre 5 e 20 vezes maior que o risco entre a população em geral; “alelos de risco moderado”, que conferem um risco relativo entre 1,5 e 5, e os “alelos de baixo risco”, muito mais comuns, e que conferem riscos entre 1,01 e 1,5 vezes maior que o risco dentro a população em geral<sup>25</sup>.

### **1.3 Genes de alto risco associados ao CMOH**

#### **1.3.1 BRCA1 e BRCA2**

A descoberta e identificação dos genes *BRCA1* (no cromossomo 17q21 em 1994)<sup>26</sup> e *BRCA2* (cromossomo 13q12-13 em 1995)<sup>27</sup>, bem como o estudo e entendimento de suas funções moleculares, proporcionou o conhecimento da atuação deles como vigilantes e reparadores de danos no DNA. Ambos codificam proteínas extensas e possuem um papel

similar na regulação do ciclo celular, realizam o reparo ao dano do DNA por meio da Recombinação Homóloga (RH), atuam no metabolismo da célula e também na regulação de expressão gênica<sup>28</sup>. Tornou-se evidente sua importância na manutenção da integridade do genoma e comprovou-se que variantes germinativas nestes genes poderiam ser herdadas de forma autossômica dominante e que na maioria das vezes o fenótipo apresentado pelos pacientes eram tumores de mama e ovário<sup>29, 30</sup>. A explicação mais aceita do porque variantes germinativas nos genes *BRCA1* e *BRCA2* estariam mais relacionados com estes tumores, seria pelo fato de possuírem uma especificidade tecidual por órgãos hormônio-dependentes, do que por outros órgãos<sup>31, 32</sup>.

No entanto, apesar de os genes *BRCA1* e *BRCA2* possuírem, aparentemente, funções semelhantes, sabe-se hoje que esses dois genes são diferentes em termos de biologia molecular, interações de proteínas e dos riscos relacionados ao câncer que conferem<sup>20, 30, 33, 34</sup>. O nome dado à síndrome relacionada a estes genes é síndrome de Predisposição Hereditária ao Câncer de Mama e Ovário (HBOC -*Hereditary Breast and Ovarian Cancer Predisposition syndrome*), e as variantes podem ser herdadas tanto do lado materno quanto paterno, têm caráter autossômico dominante e têm como característica principal um aumento da predisposição para desenvolvimento principalmente de câncer de mama (Lobular e Ductal) e adenocarcinoma de ovário (seroso de alto grau). Entretanto outros fenótipos podem estar relacionados com a síndrome, como por exemplo: câncer de próstata, câncer de pâncreas, bexiga, esôfago, sistema hematopoiético, cavidade oral e faringe, câncer gástrico, melanomas, tumores de vias biliares e cólon<sup>29, 30</sup>.

O gene *BRCA1* é composto por 22 éxons e codifica uma proteína de 1863 aminoácidos (NM\_000059.3). Ele se estende por 100kb de DNA genômico e apresenta em sua estrutura uma região amino-terminal conhecida como “*zinc-finger*”. Tal região é caracterizada por uma sequência de aminoácidos: três cisteínas, uma histidina e quatro cisteínas<sup>35</sup>, o que fornece variabilidade no processamento decorrente da heterogeneidade das junções íntron-éxon da região 5' do gene. A proteína BRCA1 apresenta também uma região de interação com RAD51 e, na região carboxi-terminal da proteína, ocorre uma concentração de aminoácidos de carga negativa que formam dois domínios BRCT, envolvidos na manutenção da estabilidade da proteína BRCA1<sup>34, 36</sup>.

O gene *BRCA2* é composto por 26 exons, que codificam a proteína BRCA2, com 3418 aminoácidos ao longo de sua extensão (NM\_000059.3). Essa proteína possui oito repetições

de 30-80 aminoácidos (domínio BRC) no éxon 11 como característica marcante, repetições essas que estão relacionadas com a interação com a proteína RAD51, a qual atua nos processos de reparo por recombinação homóloga. A proteína BRCA2 apresenta, além desses domínios, uma região de ativação transcricional e uma região adicional de interação com RAD51 e se constitui numa das maiores moléculas do proteoma humano<sup>37</sup>. Homens com variantes germinativas patogênicas em *BRCA2* têm um RCV significativamente maior que o da população geral de desenvolver câncer de mama, de cerca de 6% até os 70 anos de idade, o que representa um aumento de 80-100 vezes o risco em relação à população em geral<sup>38</sup>.

Para os centros de diagnóstico molecular a identificação de variantes germinativas patogênicas ao longo destes genes não é considerada uma tarefa simples, e sim complexa e cara. Primeiramente devido ao tamanho dos genes e também pelo fato dos genes *BRCA1* e *BRCA2* não possuírem *hotspots*, o que torna necessário a análise de toda extensão dos dois genes. Para complementar a procura por alterações nestes genes, realiza-se a busca por grandes rearranjos gênicos (deleções e/ou duplicações). Para isso, uma das principais técnicas utilizadas é o MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), que detecta ganhos e perdas gênicas utilizando sondas gene-específicas.

Com relação às estratégias de redução de risco, sabe-se que a mastectomia bilateral profilática é a intervenção sugerida para mulheres com variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*<sup>37, 39-42</sup>. Uma recente metanálise avaliou quatro estudos prospectivos com 2635 pacientes mutadas em *BRCA1* ou *BRCA2*<sup>43</sup>. Nesse estudo Felice e colaboradores demonstraram grande benefício em relação à incidência de câncer de mama para aquelas mulheres que realizaram cirurgia profilática (mastectomia bilateral), conferindo uma redução de risco de até 93% ( $p=0,04$ )<sup>43</sup>. Jakub *et al*<sup>40</sup> em 2018, demonstrou que a mastectomia profilática resultou em uma redução significativa em eventos de câncer de mama (teste de eventos observados vs eventos esperados,  $P < 0,001$ ), sendo assim recomendada em pacientes portadores de mutação nestes genes.

Embora o risco para câncer de ovário e tubas uterinas seja menor que o risco para câncer de mama, a salpingoforectomia bilateral profilática também tem um valor significativo para a redução do risco de câncer em mulheres mutadas, podendo reduzir em até 90% o risco de câncer de ovário e em 50% o risco para câncer de mama<sup>40, 42, 44</sup>. Uma metanálise realizada em 2009 analisou 10 estudos e observou uma redução de risco nas mulheres mutadas de 80% para a incidência de câncer de ovário e tubas uterinas<sup>45</sup>. Foi

relatada também uma redução de 1% a 4,3% no risco para o desenvolvimento de tumores primários de peritônio<sup>6, 45</sup>. No estudo de Ludwig *et al* em 2016<sup>42</sup> a redução nos riscos de câncer de ovário e de mama usando a salpingo-ooforectomia bilateral preventiva traduziu-se em melhora na sobrevida das pacientes do estudo.

As cirurgias profiláticas são de livre escolha da paciente e a avaliação da indicação ou não de procedimentos cirúrgicos é individualizada dado que o manejo destas pacientes pode ser feito de outras formas, fornecendo um seguimento clínico personalizado. Uma destas maneiras, além de exames de rastreamento rotineiros, seria a quimioprevenção ou hormônio profilaxia, (também utilizada em pacientes não mutadas) que se baseia no uso de medicamentos bloqueadores de hormônios para reduzir risco do surgimento de tumores em mulheres com mais de 35 anos. Em análise de subgrupo (portadoras de variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1-2*) do estudo NSABP *Breast Cancer Prevention Trial* (também conhecido como estudo P-1), King e colaboradores<sup>46</sup> em 2001, avaliaram a redução do risco de desenvolvimento de câncer de mama. Foi demonstrada redução de risco de 62% dentre aquelas com mutação no gene *BRCA2* e nenhuma redução de risco dentre as mutadas no gene *BRCA1*. Esse achado pode ser explicado pela alta probabilidade das portadoras de mutações em *BRCA2* desenvolverem câncer de mama estrogênio positivo em relação àquelas mutadas em *BRCA1*, que são mais propensas a desenvolverem tumores de mama triplo negativos<sup>47-49</sup>. Não há ensaios clínicos randomizados de tamoxifeno como um agente de quimioprevenção específicos em mulheres com variantes patogênicas nos genes de *BRCA1* e *BRCA2*<sup>49</sup>.

Há décadas o tratamento sistêmico padrão para câncer de mama é baseado em poliquimioterapia baseado em antraciclina (por exemplo, combinação de adriamicina, ciclofosfamida e taxano).<sup>50</sup> No entanto, mais recentemente, constatou-se que mulheres com variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1* e gene *BRCA2* respondiam melhor a esquemas de quimioterapia baseados em platina<sup>51</sup>. Uma possível explicação para isso é o fato dos sais de platina produzirem ligações cruzadas interfilamentares e intrafilamentares no DNA, lesões que, em situação de normalidade, seriam reconhecidas pelo sistema de reparo do DNA e reparadas por uma combinação de NER e HRR<sup>52, 53</sup>. Esses quimioterápicos mostram-se eficientes em pacientes com câncer de ovário e mama, porque estes tumores geralmente possuem defeitos no reparo por recombinação homóloga levando assim a uma grande instabilidade genômica e conseqüentemente à morte celular. As platinas (cisplatina



ou carboplatina) frequentemente são utilizadas em combinação com o paclitaxel em pacientes com câncer de ovário.

Em relação ao tratamento paliativo da doença metastática outra linha de medicamentos que vem sendo utilizada em pacientes mutadas nos genes *BRCA1* e *BRCA2* são os inibidores de *PARP* (adenosina difosfato-ribose polimerase). Eles foram amplamente testados em ensaios clínicos, especialmente para o tratamento de câncer de mama e câncer de ovário, e demonstraram ser bem sucedidos<sup>54-56</sup>. Quinze por cento das mulheres com câncer de ovário epitelial possuem variantes patogênicas herdadas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, e esta classe de medicamentos (inibidores de *PARP*) fornece uma nova opção terapêutica para estas mulheres<sup>57</sup>. Funciona primariamente na detecção e reparo de quebras na cadeia de DNA, acredita-se que o efeito terapêutico seja atribuído a uma deterioração do reparo, ocasionando uma “letalidade sintética” em pacientes mutadas em *BRCA1* ou *BRCA2*<sup>54, 57</sup>. O olaparibe, o primeiro e mais utilizado inibidor *PARP*, é um medicamento administrado via oral que tem atividade antitumoral já comprovada em pacientes com câncer de mama e ovário metastático<sup>55, 56</sup>. Em se tratando de câncer de mama, foi realizado um estudo (Robson e colaboradores) randomizado com 302 pacientes no qual a olaparibe foi comparado à terapia padrão em pacientes mutadas metastáticas e com HER2 negativo<sup>55</sup>. Um grupo (205 pacientes) recebeu de forma aleatória comprimidos de olaparib e o outro grupo (97 pacientes) recebeu terapia padrão com quimioterapia de agente único. A sobrevida livre de progressão foi significativamente maior no grupo que recebeu olaparibe do que no grupo de terapia padrão (7,0 meses vs. 4,2 meses; HR 0,58; IC 95%, 0,43-0,80; P <0,001). A taxa de resposta foi de 59,9% no grupo de olaparib e 28,8% no grupo de terapia padrão, demonstrando o benefício da monoterapia com olaparibe em relação à terapia padrão, sendo assim uma alternativa promissora para mulheres com variante germinativa patogênica nos genes *BRCA1* e *BRCA2*<sup>55</sup>.

### 1.3.2 TP53

O gene *TP53* está localizado no braço curto do cromossomo 17, é composto por 11 exons, sendo o primeiro não-codificante (NM\_000546.5). Codifica para uma proteína de 393 aminoácidos. É considerado o “guardião do genoma” pelo seu papel central no processo de reparo de danos ao DNA, na regulação do ciclo celular e na apoptose<sup>58, 59</sup>. A proteína p53 apresenta cinco domínios estruturais e funcionais: a) um domínio de transativação N-

terminal b) um domínio regulatório, rico em prolinas c) um domínio central, de ligação sequência-específica ao DNA onde se localizam mais de 90% das variantes somáticas e germinativas “clássicas” já descritas no gene *TP53*; d) um domínio de oligomerização e, e) um domínio C terminal envolvido na regulação da ligação ao DNA<sup>60, 61</sup>.

A presença de variantes germinativas patogênicas no gene *TP53* está associada ao desenvolvimento da síndrome de Li-Fraumeni (SLF) e de sua variante, a Síndrome de Li Fraumeni *like* (LFL), que são doenças autossômicas dominantes, com alta penetrância que predis põem a vários tipos de câncer<sup>62</sup>. A SLF/LFL destaca-se pelo fenótipo de tumores em idade jovem e tipos histológicos bem variados, como sarcomas, tumores do sistema nervoso central, tumores adrenocorticais e tumores de Wilms (normalmente em crianças), além de apresentar uma elevada frequência de câncer de mama, estômago, colorretal, melanoma, pâncreas, pulmão, laringe, próstata, linfomas e tumores de células germinativas<sup>59, 63</sup>. O estudo recente de Wang *et al* 2018<sup>64</sup> demonstrou forte associação no fenótipo de osteossarcoma, um dos principais cânceres da adolescência e adulto jovem. O mesmo autor em 2017<sup>65</sup> já havia também associado o gene aos tumores de pulmão ao analisar meta-análises disponíveis na literatura sobre o assunto.

Em 1992, Lustbader *et al*<sup>66</sup> já haviam estudado famílias portadores de mutação neste gene (*TP53*), e relataram que o risco de um indivíduo portador de uma variante germinativa patogênica de desenvolver algum tipo de câncer até os 40 anos de idade é de 50% e, até os 60 anos chega a 90%<sup>66</sup>. Já segundo Kate *et al*<sup>62</sup> em 2014 cerca de 50% dos indivíduos portadores de mutações no gene *TP53* desenvolverão câncer até os 30 anos de idade, com risco vital de até 70% para homens e quase 100% em mulheres. Estes dados demonstram que, mesmo sendo uma síndrome rara, se considerarmos o risco de desenvolvimento de câncer por ela conferido quando comparado com a população em geral (1% de risco de desenvolvimento de câncer até os 40 anos), é incontestável sua importância<sup>58, 62, 63</sup>.

A importância dessa síndrome em mulheres se dá pelo fato do câncer de mama ser um dos seus principais fenótipos<sup>62, 66, 67</sup>. Os critérios clínicos atualmente utilizados para diagnóstico da síndrome visam abranger famílias com espectro tumoral similar, propondo critérios adicionais e menos restritivos do que os originalmente propostos por Li e Fraumeni. Dentre esses critérios cabe destacar os propostos por Birch<sup>68</sup> e, mais recentemente os critérios revisados de Chompret<sup>69</sup> (Figura 1).

Familial presentation	Proband with tumor belonging to LFS tumor spectrum (eg, premenopausal breast cancer, soft tissue sarcoma, osteosarcoma, CNS tumor, adrenocortical carcinoma) before age 46 yr, AND at least one first- or second-degree relative with LFS tumor (except breast cancer if proband has breast cancer) before age 56 yr or with multiple tumors
Multiple primitive tumors	Proband with multiple tumors (except multiple breast tumors), two of which belong to LFS tumor spectrum and first of which occurred before age 46 yr
Rare tumors	Patient with adrenocortical carcinoma, choroid plexus tumor, or rhabdomyosarcoma of embryonal anaplastic subtype, irrespective of family history
Early-onset breast cancer	Breast cancer before age 31 yr
Abbreviation: LFS, Li-Fraumeni syndrome.	

Fonte: Bougeard et al<sup>69</sup>

Figura 1- Critérios Chompret revisados (2015).

Em relação ao diagnóstico molecular para o gene *TP53*, o sequenciamento do mesmo é indicado para pacientes que preenchem critério para SLF/LFL<sup>70</sup>; podendo ser realizado por técnicas de sequenciamento bidirecional sanger, como também sequenciamento de nova geração. A análise por *MLPA* é indispensável em qualquer uma delas. Segundo Malkin e colaboradores<sup>71</sup>, a síndrome é bastante complexa no sentido de manejo clínico, sendo assim, os testes genéticos deveriam ser solicitados por um médico geneticista ou um aconselhador genético plenamente capaz de interpretar estes resultados. Em 2011 Malkin *et al*<sup>71</sup> publicaram os resultados de uma abordagem para a triagem de crianças com alto risco de câncer. Essa abordagem ficou conhecida como o Protocolo de Toronto. Nesse estudo um grupo de crianças foi acompanhado por 5 anos. Algumas participaram do programa de rastreamento e outras não. A sobrevivência em 5 anos foi de 21% *versus* 100% a favor do grupo que seguiu o Protocolo de Toronto. O acompanhamento, assim, deve ser periódico, rigoroso, abrangente e personalizado. A investigação de recidivas e também do surgimento de novos tumores primários torna-se necessária. Ainda segundo o autor, o estudo desta doença rara pode informar questões semelhantes em outras síndromes familiares<sup>71</sup>.

No Brasil, uma variante germinativa patogênica particular no exon 10 do gene *TP53* (situado na região correspondente ao domínio de oligomerização da proteína), mais

precisamente no códon 337 (c.1010G>A, p.Arg337His) foi descrita em várias famílias aparentemente não relacionadas, inicialmente em crianças da região de Curitiba. Conforme relatado por Ribeiro<sup>72</sup> e colaboradores, as 35 crianças (todas com tumores adrenocorticais) com a variante germinativa patogênica p.Arg337His, não teriam parentes com outros tipos de câncer, sugerindo dessa forma que essa variante germinativa patogênica fosse tumor-específica. Posteriormente, em estudo realizado por Achatz e colaboradores<sup>73</sup>, 45 famílias brasileiras (das regiões sul e sudeste do Brasil) com critérios clínicos para LFL foram testadas para a presença de variantes germinativas patogênicas no gene *TP53* e, destas, 6 (13,3%) apresentavam a variante p.Arg337His. No entanto, diferentemente das crianças de Curitiba, as famílias descritas por Achatz apresentavam tumores variados, com e sem a presença de tumores adrenocorticais<sup>73</sup>.

Posteriormente, estudo realizado por Palmero e colaboradores<sup>74</sup> analisaram a frequência da variante germinativa patogênica em um grupo de 750 mulheres assintomáticas, com idade entre 40 e 69 anos, que realizavam rastreamento mamográfico e a mesma foi detectada em 2 das 750 participantes (frequência alélica de 0,0015), corroborando estudos preliminares que apontaram para a elevada frequência dessa variante germinativa patogênica nas regiões sul e sudeste do Brasil<sup>74</sup>.

No estudo de Kelvin Andrade *et al*<sup>75</sup> em 2016 foi realizada, através de um banco de dados do Departamento de Oncogenética do hospital A.C. Camargo Câncer Center, a busca de características comuns associadas às famílias p.R337H. Entre 42 famílias p.R337H, três não atenderam aos critérios LFS / LFL. Adicionalmente as pacientes eram jovens, do sexo feminino, com câncer de mama diagnosticados antes dos 45 anos e sem história familiar vinculadas à síndrome. Estes resultados sugerem que o rastreamento para a mutação germinativa no gene *TP53* (p.R337H) deve ser indicado mesmo com fenótipos diversos e também nas famílias sugestivas para HBOC<sup>75</sup>.

Em 2017, no estudo de Formiga *et al*<sup>76</sup> um novo fenótipo foi relacionado a síndrome: tireóide. Estes tumores demonstraram ser um componente também da LFS. Portanto, a triagem precoce e exames regulares de imagem também da tireóide em indivíduos com a mutação p.R337H, torna-se indispensável.

### 1.3.3 PTEN

O gene *PTEN* é um supressor tumoral constituído por nove éxons, está localizado no braço longo do cromossomo 10, codifica para uma proteína de 403 aminoácidos e tem como principal atividade a manutenção do controle de proliferação celular (NM\_000314.4)<sup>38,77</sup>.

A grande maioria das variantes germinativas neste gene são pontuais, porém estudos demonstraram grandes rearranjos em *PTEN* que poderiam explicar casos de fenótipos diferentes<sup>78</sup>. O diagnóstico molecular, portanto, é feito por sequenciamento (convencional ou NGS), e seguido, nos pacientes negativos, pelo rastreamento de rearranjos por técnicas como *MLPA* já descrita anteriormente. A presença de variantes germinativas patogênicas no gene *PTEN* está associada ao desenvolvimento da síndrome de Cowden, a qual é uma doença genética de herança autossômica dominante relacionada a predisposição ao câncer de mama, tireóide e adercarcinomas de endométrio. Aproximadamente 30% das mulheres portadoras de variante germinativa patogênica no gene *PTEN* desenvolvem câncer de mama (risco cumulativo vital de 25 a 50% na segunda década de vida<sup>78</sup>). Além disso, há uma maior predisposição para lesões cutâneas tais como triquilemonas, fibromas, papilomas e queratoses. Cerca de 99% dos indivíduos portadores de variantes germinativas patogênicas no gene *PTEN* apresentam alguma manifestação até a terceira década de vida<sup>77,78</sup>.

### 1.3.4 CDH1

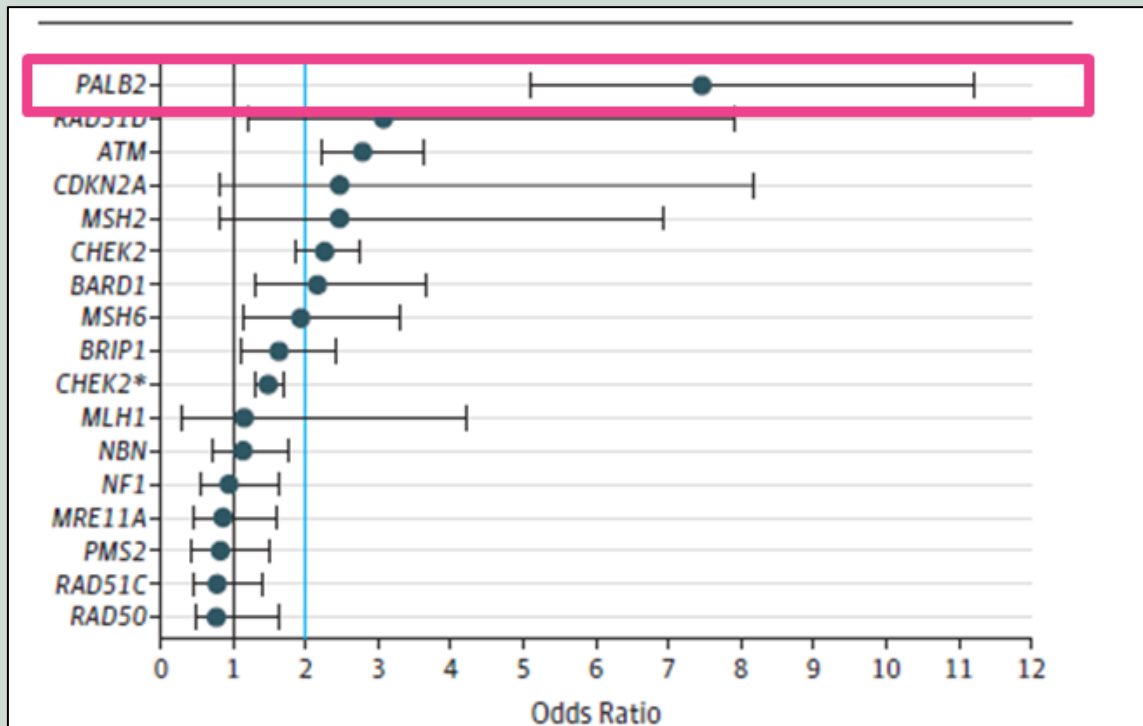
O gene *CDH1* é um gene supressor tumoral localizado no braço longo do cromossomo 16 e apresenta 16 exons e codifica para uma proteína de 882 aminoácidos (NM\_004360.3). Produz uma proteína chamada E-caderina (glicoproteína de adesão célula-célula), composta de cinco repetições caderina extracelulares, uma região transmembrana e uma cauda citoplasmática altamente conservada. A perda de função desse gene desencadeia um aumento na proliferação e invasão celular<sup>79</sup>. Variantes germinativas patogênicas neste gene estão relacionadas com a síndrome de câncer gástrico difuso hereditário (30 a 40% das famílias), doença autossômica dominante que confere um risco alto para o desenvolvimento de tumores malignos, tais como: tumores gástricos do tipo difuso e tumores lobulares de mama<sup>80</sup>. O diagnóstico molecular é realizado por sequenciamento de todos os éxons do gene, complementado pela busca por rearranjos gênicos por *MLPA*; já o diagnóstico clínico foi difundido e implementado pelo *International Gastric Cancer Consortium*<sup>81</sup>. Este gene é

classificado como de alto risco para o câncer, pois tanto o diagnóstico de câncer gástrico é precoce (40 anos) quanto o RCV conferido pela presença de variantes germinativas patogênicas é bastante elevado: cerca de 67% de risco de desenvolvimento de câncer gástrico difuso para homens e 83% para mulheres, bem como um RCV que chega a 40% para o desenvolvimento de carcinoma lobular de mama<sup>82</sup>.

### 1.3.5 PALB2

O gene *PALB2* é chamado “parceiro do gene *BRCA2*” pois fornece instruções para síntese de uma proteína que funciona junto com a proteína *BRCA2* no reparo do DNA danificado e na estabilização do crescimento celular, portanto também age como um supressor tumoral (NM\_024675.3). Localiza-se no cromossomo 16p12.2, contém 15 éxons e codifica para uma proteína com 1186 aminoácidos<sup>83</sup>. Quando mutado, ele aumenta o risco de câncer de mama em 5 a 9 vezes em comparação à média da população e também está associado a outros fenótipos como o câncer de pâncreas<sup>84,85</sup> e melanoma<sup>86</sup>. No estudo de Antoniou e colaboradores<sup>84</sup> em 2014, comparou-se o risco de desenvolvimento de câncer entre mulheres mutadas em *BRCA1* e *BRCA2* com o risco de mulheres mutadas em *PALB2*. Mulheres com o gene *PALB2* mutado tiveram um risco de 14% de desenvolver câncer de mama aos 50 anos de idade e um risco de 35% de desenvolver câncer de mama até os 70 anos, conferindo um risco de câncer de mama 9,47 vezes maior que a média da população. Em comparação ao estudo recente publicado por Kuchenbaecker *et al*<sup>87</sup>, indivíduos com a presença de variantes patogênicas nos genes *BRCA1/BRCA2* possui um risco cumulativo de câncer de mama aos 80 anos de 72% (95% CI 65% -79%) para *BRCA1* e 69% (95% CI, 61% - 77%) para portadores de mutação em *BRCA2*. De maneira adicional, estudo publicado por Couch e colaboradores<sup>88</sup>, publicado em 2017 avaliou 54,585 mil mulheres com câncer de mama em grupos caso-controle. Nesse trabalho, o gene *PALB2* foi associado ao alto risco para desenvolvimento de câncer de mama com OR de 7,46 (CI 5,12-11,19)<sup>88</sup>. Também, no estudo de Slavin *et al*<sup>89</sup> publicado no mesmo ano, os resultados foram compatíveis com os de Couch *et al*; mutações no gene *PALB2* foram associadas ao alto risco para câncer de mama (OR = 6,95, IC95% 3,71-12,70). Estes resultados recentes em grupos amostrais significativos confirmam que variantes germinativas patogênicas no gene *PALB2* possuem alta associação de risco (OR > 5) justificando sua inclusão nos testes genéticos e de alguma

forma o aproximando do risco e importância dos genes *BRCA1* e *BRCA2* no desenvolvimento do câncer de mama hereditário (Figura 2).



Fonte: adaptada de Couch *et al*<sup>88</sup>.

Figura 2 - Gene *PALB2* associado ao alto risco para câncer de mama.

Cabe salientar, que para diagnósticos moleculares deste gene, o método de sequenciamento sanger ainda é utilizado em alguns centros, porém este gene já está inserido na maioria dos painéis comerciais desenvolvidos para avaliação de câncer hereditário. Adicionalmente, a análises de rearranjos deve ser realizada para complementar o teste molecular.

### 1.3.6 STK11

O gene supressor tumoral *STK11* localiza-se no braço curto do cromossomo 19, é constituído por 10 éxons (NM\_000455.4), produz uma proteína de 433 aminoácidos<sup>90</sup>. Sua função está relacionada ao metabolismo celular, apoptose e resposta a danos no DNA. Controla uma série de proteínas da família das tirosinas quinases, desempenhando assim um papel em vários processos metabólicos, principalmente em relação à polaridade da célula<sup>91</sup>,<sup>92</sup>. Portadores de variantes germinativas patogênicas no gene *STK11* têm risco cumulativo

vital aumentado para o desenvolvimento de diversos tipos de câncer: colorretal, gástrico, pancreático, mamário e de ovário. A expressão fenotípica apresenta-se como a síndrome genética autossômica dominante chamada síndrome de Peutz-Jeghers (SPJ), cujo diagnóstico é baseado nos achados clínicos como pólipos gastrointestinais e hiperpigmentação mucocutânea (máculas escuras ao redor da boca, olhos, dedos e região perianal)<sup>92,93</sup>. Na SPJ, o resultado molecular é positivo para variantes germinativas patogênicas no gene *STK11* em 100% dos casos. Nos casos sem história familiar, são encontradas variantes patogênicas em até 90% dos casos<sup>94</sup>. No entanto, aproximadamente 45% dos indivíduos afetados não têm história familiar e a proporção exata de casos provocados por variantes germinativas patogênicas novas é desconhecida<sup>83</sup>.

Tratando-se do risco relacionado ao câncer de mama, sabemos que mulheres com variantes germinativas patogênicas possuem um risco maior que a população em geral, conferindo a este gene uma importância na investigação de CMH semelhante aos genes *BRCA1* e *BRCA2* (alto risco). No estudo de Hearle e colaboradores em 2006, o risco para o câncer de mama foi de 15% na idade de 50 anos, 33% aos 60 anos, e 57% aos 70 anos<sup>93</sup>.

O diagnóstico molecular desta síndrome é através das análises genéticas moleculares por sequenciamento de sanger ou NGS, e a avaliação dos parentes em risco é importante de modo que a morbidade e mortalidade possam ser reduzidas através de diagnóstico precoce e de vigilância adequada<sup>83</sup>.

## **1.4 Genes de Moderado Risco**

### **1.4.1 CHEK2**

O gene *CHEK2* é um gene supressor de tumor composto de 15 éxons localizado no braço longo do cromossomo 22 (NM\_007194.3). Faz parte da família das proteínas quinases e codifica uma proteína envolvida no controle dos pontos de checagem do ciclo celular<sup>95</sup>. Embora não haja consenso sobre a existência de uma síndrome de predisposição hereditária relacionada ao risco moderado-baixo neste gene, alguns autores associam variantes germinativas patogênicas neste gene com a síndrome de “mama e cólon hereditários”<sup>96</sup>. Em particular, a deleção da citosina na posição 1100 no éxon 10 do gene *CHEK2* (que resulta na introdução de um códon de parada no aminoácido 380 e consequente perda da atividade quinase da proteína) é a principal variante germinativa patogênica associada ao



desenvolvimento de câncer descrita nesse gene. O risco relacionado com variantes patogênicas neste gene em relação ao fenótipo mama é de três a cinco vezes maior em relação à população em geral<sup>96, 97</sup>. Entretanto outras variantes neste gene já estão sendo investigadas, e o sequenciamento do gene inteiro já é realizado. Um estudo realizado por Gronwald e colaboradores<sup>95</sup> sugeriu que o risco de um portador de variante germinativa patogênica em *CHEK2* é dependente da história familiar de câncer. Nesse estudo, o risco de câncer de cólon foi maior entre parentes de probandos com câncer de cólon do que entre parentes de pacientes com câncer de próstata ou de mama<sup>98</sup>. Apesar da variante germinativa patogênica c.1100delC (deleção da citosina na posição 1100 no éxon 10) ser a mais incidente e estudada neste gene, outras alterações podem configurar risco moderado aos seus portadores, e de acordo com estudo recente de Couch e colaboradores, o OR (*odds ratio*) para este gene (excluindo a variante germinativa patogênica citada acima) é de 2,31 (CI 1,88-2,85)<sup>88</sup>, conferindo risco moderado para o desenvolvimento de câncer.

#### 1.4.2 ATM

O gene *ATM* está localizado no braço longo do cromossomo 11 (NM\_000051.3), possui 63 éxons e está envolvido principalmente na resposta celular a danos ao DNA<sup>99</sup>. Sua atividade é composta por uma diversidade de funções, pois é uma proteína quinase (com 3056 aminoácidos) envolvida na resposta à quebra de dupla fita de DNA (DBS - *double strand breaks*) em vias que incluem outros genes como *TP53*, *BRCA1* e *CHEK2*<sup>83</sup>. A quebra da dupla fita ativa o gene *ATM* que por sua vez ativa os outros genes. Portanto, uma variante germinativa patogênica neste gene (em homozigose e/ou heterozigose) altera as diversas vias de resposta celular de reparo ao DNA<sup>100</sup>. Quando falamos na síndrome envolvida com este gene, trata-se de uma doença com padrão de herança autossômica recessiva (variante em homozigose) caracterizada por ataxia cerebelar na infância associada à coreoatetose, disartria, anormalidades no movimento ocular, deterioração neurológica progressiva, telangiectasias faciais e conjuntivais, imunodeficiência e hiperpigmentação da mácula. É a chamada Ataxia-Telangiectasia<sup>101</sup>. Porém, alterações heterozigóticas neste gene já estão sendo relacionadas ao risco moderado ao CMOH<sup>88</sup>. Indivíduos com variantes germinativas patogênicas neste gene (variantes heterozigóticas) possuem um risco de desenvolvimento de múltiplos tumores: leucemias e linfomas, câncer de mama, melanoma, meduloblastoma, glioma, meningioma, carcinoma basocelular, hepatocarcinoma, disgerminoma de ovário e

leiomioma uterino<sup>99</sup>. Stoppa-Lyonnet (2010) relatou a associação entre o câncer de mama e variantes germinativas (patogênicas) no gene *ATM*, mostrando que até 13% dos casos de câncer de mama podem ser devido à variantes heterozigóticas no *ATM*<sup>101</sup>.

Van Os e colaboradores em 2015, através de uma metanálise, observaram que os portadores de variantes germinativas patogênicas em *ATM* têm uma expectativa de vida reduzida devido à mortalidade por câncer e doenças isquêmicas do coração (RR 1,7, IC 95% 1,2-2,4) e um risco aumentado de desenvolver câncer (RR 1,5, IC 95% 0,9-2,4), em particular câncer da mama (RR 3,0, IC 95% 2,1-4,5) e cânceres do trato digestivo<sup>102</sup>.

### 1.4.3 MRE11-RAD50-NBN1- (MRN)

O complexo *MRN* é composto por três genes *MRE11*, *RAD50* e *NBN1*. Este complexo tem por principal função manter a vigilância da instabilidade dos locais de *checkpoint* do genoma. Para realizar esta atividade, o complexo se liga ao DNA danificado e sofre alterações em sua estrutura que ativam substratos do gene *ATM* e mantém a proteína ATM ativa nos locais de quebra da fita dupla<sup>103</sup>. A instabilidade dos cromossomos e os defeitos no *checkpoint* do ciclo celular são comuns a todos os pacientes com perda completa de qualquer um desses componentes<sup>104, 105</sup>.

O gene *NBN* localizado no cromossomo 8, possui 16 éxons e produz um transcrito com 754 aminoácidos (NM\_002485.4). O gene *RAD50* possui 25 éxons, está localizado no cromossomo 5 e seu transcrito é composto 1312 aminoácidos (NM\_005732.3). Já o gene *MRE11A* (NM\_005591.3) possui 20 éxons e está localizado no cromossomo 11, seu produto principal (transcrito) é composto por 680 aminoácidos<sup>90</sup>.

A presença de variantes germinativas patogênicas em genes do complexo *MRN* vem mostrando relação também com o fenótipo de câncer de mama. Em 2015, estudo publicado por Aloiraifi e colaboradores relatou que a frequência de variantes germinativas patogênicas no gene *RAD50* em 104 pacientes negativas para *BRCA1* e *BRCA2* foi de aproximadamente 3% e, em *MRE11* foi de 1%. O autor ainda associou a presença de variantes germinativas patogênicas no gene *RAD50* a um aumento de 4,3 vezes na predisposição ao câncer de mama em uma população específica na Finlândia, não sendo encontrado em outras regiões, dificultando a confirmação dessa associação ao câncer de mama<sup>106</sup>.

No estudo de Damiola e colaboradores<sup>107</sup> foram encontradas evidências de que os genes MRN são de fato genes de suscetibilidade ao câncer de mama de risco intermediário

(OR: 2,88,  $p = 0,0090$ ). Esses dados sugerem que *MRE11A*, *RAD50* e *NBN* são genes de suscetibilidade ao câncer de mama de risco intermediário. No entanto, estudos mais recentes questionam a relação de risco de variantes germinativas patogênicas nestes genes com o CMOH<sup>108</sup>.

#### 1.4.4 FAMÍLIA FANC

Os genes pertencentes a este grupo são agrupados devido à interação de suas atividades. Há pelo menos 13 genes envolvidos na apresentação do fenótipo da anemia de Fanconi (FA) e que correspondem a grupos de complementação que vão de A até N (*FANCA-N*). A Anemia de Fanconi (FA) é uma doença genética caracterizada por anemia aplástica progressiva, vários defeitos congênitos e suscetibilidade à tumores sólidos (alteração em homozigose). Estima-se que 1/3 dos pacientes homozigotos para variantes germinativas patogênicas em *BRCA2 (FANCD1)*; *FANCN (PALB2)* e *FANCI (BRIP1)* irão desenvolver câncer até os 40 anos (incluindo câncer de cabeça e pescoço, meduloblastomas, esôfago, pele, fígado e rim)<sup>83</sup>. Um defeito em qualquer uma das proteínas da via FA impede o reparo celular realizado por elas e leva ao aumento da quebra cromossômica, e reparo do DNA defeituoso<sup>79</sup>. Os membros do grupo da Anemia de Fanconi não partilham semelhança de sequência, eles estão relacionados pela sua montagem em um complexo de proteína comum nuclear. Todos os genes localizam-se em regiões bastante distintas, envolvendo tanto cromossomos autossômicos como sexuais, caracterizando ainda mais a heterogeneidade da doença.

O gene *FANCI (BRIP1 NM NM\_032043)* localizado no cromossomo 17, tem uma função importante no reparo pois sua proteína interage com a proteína BRCA1. A presença de variantes germinativas patogênicas em heterozigose vem sendo relacionada, especificamente, à tumores ovarianos. O estudo de Thorunn Rafnar de 2011 encontrou uma variante germinativa patogênica *frameshift* rara (frequência alélica: 0,41%), a variante c.2040\_2041insTT, que confere um aumento no risco de câncer ovário de 8,13 (OR), indicando que o *BRIP1* se comporta como um gene supressor de tumor clássico em tumores ovarianos<sup>109</sup>. Em 2018, um estudo caso-controle pareou mulheres para verificar a relação de risco do gene *BRIP1* com tumores de mama e ovário. As mutações no gene *BRIP1* revelaram alto risco em mulheres com câncer de ovário com um OR de 29,91 (IC 95% = 14,99-59,66,  $P < 0,0001$ ). Para tumores de mama o OR máximo foi de 1,81 (IC 95% = 1,00-3,30,  $P = 0,0623$ ).

Novamente os tumores de ovário mostraram um risco alto (OR), enquanto que os tumores de mama um OR baixo<sup>110</sup>.

Os genes *BRCA1* e *BRCA2* também se associam, direta ou indiretamente, à via FA de reparo do DNA, sendo o gene *BRCA2* também conhecido como *FANCD1*. Já o gene *BRCA1* não pertence à família *FANC*, mas é um componente-chave nas vias de reparo relacionadas<sup>111</sup>.

Outro gene relacionado à FA chama-se *SLX4* e codifica uma proteína que atua como ligante de *FANCD2* e está envolvida em várias endonucleases de montagem<sup>112</sup>. Estudos recentes, analisando *SLX4/FANCP* não foram significativos na identificação de risco associado ao desenvolvimento do câncer de mama<sup>113</sup>. Mais estudos sobre *SLX4/FANCP* são necessários a fim de possibilitar computar risco.

O diagnóstico de FA é realizado pelo teste citogenético que investiga a quebra cromossômica ou rearranjo na presença de diepoxibutano (DEB-teste). Ou, também, por sequenciamento destes genes para identificação de qual seria a alteração<sup>79</sup>. A técnica de *MLPA* para complementação molecular se faz necessária.

#### 1.4.5 FAMÍLIA RAD51

Constituída por vários genes, a família *RAD51* participa das vias de resposta aos danos no DNA formando complexos uns com os outros. O *RAD51* é capaz de formar pelo menos dois complexos diferentes: o primeiro envolve *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D* e *XRCC2*, e o segundo envolve *RAD51C* e *XRCC3*. Estes complexos interagem com a proteína *RAD51* durante a recombinação homóloga, atuando no desenrolar da fita dupla de DNA, formando filamentos helicoidais, conferindo desta maneira estabilidade ao genoma. O filamento helicoidal de nucleoproteína invade e pareia com o DNA homólogo duplo, iniciando assim a troca entre as moléculas do DNA pareado<sup>114</sup>. Pellegrini e colaboradores, propuseram que a proteína *BRCA1* interage com a *RAD51*, portanto elas atuam juntas no reparo<sup>115</sup>. O gene *RAD51* desempenha também papel na regulação do número de cópias do DNA mitocondrial, em condições de estresse oxidativo na presença de *RAD51C* e *XRCC3*<sup>116</sup>.

Meindl e colaboradores<sup>116</sup>, em 2010, encontraram seis variantes gênicas claramente patogênicas do gene *RAD51* entre 1.100 famílias com câncer de mama e ovário. As variantes foram encontradas exclusivamente dentro de 480 famílias com a ocorrência de ambos os tumores, mama e ovário, e não entre as 620 famílias que apresentavam apenas câncer de

mama <sup>116</sup>. Esses resultados fornecem a primeira evidência inequívoca de mutações altamente penetrantes no *RAD51* associadas ao câncer de ovário e apoiam a hipótese da "alelo raro".

Outro estudo realizou um rastreio de variantes germinativas patogênicas do gene *RAD51C* em uma população de 785 famílias espanholas com câncer de mama e ovário, verificou uma frequência 1,3% de variantes germinativa patogênica em mulheres com câncer de mama e ovário <sup>117</sup>. De maneira adicional, trabalho realizado por Loveday e colaboradores que sequenciou o gene *RAD51* em 911 famílias sem variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1* e *BRCA2* e com câncer de mama e ovário, e em 1060 famílias controle sem câncer, identificou oito variantes patogênicas germinativas em 911 famílias de mama e câncer de ovário (0,9%), nenhuma variante germinativa patogênica nas 737 famílias que tinham apenas câncer de mama, e uma variante germinativa patogênica nas 1.060 famílias controle (0,09%)<sup>118</sup>.

Mais recentemente, estudo caso-controle, específico em pacientes com câncer de ovário, avaliou a frequência de variantes germinativa patogênicas em três genes *RAD51* (B, C e D). Mais de 3400 casos foram incluídos no estudo sendo observado 0,41% de *variantes germinativas patogênicas* no gene *RAD51C*, 0,35% no gene *RAD51D* e 0,06% no gene *RAD51B*. O *odds ratio* para os genes *RAD51C* e *RAD51D* foi 5,2 (95% IC, 1,1-24; p=0,035) e 12 (95% IC, 1,5-90; p=0,019) respectivamente<sup>119</sup>. Todos os trabalhos sugerem a necessidade da inclusão do teste genético destes genes pela prevalência de variantes germinativas patogênicas em tumores de ovário.

#### 1.4.6 BARD1

Este gene está localizado no cromossomo 2, possui 13 éxons e codifica uma proteína com 777 aminoácidos (NM\_000465.3). Tem por função interagir com a região N-Terminal da proteína BRCA1. Adicionalmente, a proteína codificada por este gene compartilha homologia com as duas regiões da proteína BRCA1: RING N-terminal e o domínio BRCT C-terminal. O RING N-Terminal é uma sequência rica em cisteína encontrada em várias proteínas que regulam o crescimento celular, incluindo produtos de genes supressores tumorais e protooncogenes. Quando a interação BARD1 e BRCA1 é rompida por substituições de aminoácidos no gene *BRCA1*, sugere-se uma perda de complexos estáveis entre estas proteínas essenciais na função de supressão tumoral do gene *BRCA1*. Portanto, o gene

*BARD1* pode ser alvo de patogenicidade pela sua intensa ligação com o supressor tumoral *BRCA1*<sup>79</sup>. Estudo recente de Couch et al em 2017<sup>88</sup> demonstrou a relevante relação deste gene com o câncer de mama, com um OR de 2,16 (CI 1,31-3,63), isso significa um risco moderado de desenvolver câncer de mama em relação à população em geral<sup>88</sup>. BUYS e colaboradores<sup>120</sup> relacionam uma associação entre variantes germinativas patogênicas nesse gene especificamente com o desenvolvimento de tumores de mama triplo negativo, mais uma vez correlacionando-o com as características clínicas observadas nos portadores de variantes germinativas patogênicas no gene *BRCA1* e demonstrando o porque de sua inclusão em painéis de CMOH. No estudo, a prevalência de variantes patogênicas em *RAD51* parólogo C (*RAD51C*) foi estatisticamente maior entre as mulheres com TNBC.

#### 1.4.7 MUTYH

Localizado no cromossomo 1, possui 16 éxons e codifica para proteína com 546 aminoácidos (NM\_001128425.1). Este gene codifica uma DNA glicosilase envolvida no reparo ao dano do DNA. A enzima corrige adeninas inadequadamente pareadas com guaninas, citosinas ou 8-oxo-7,8-diidroguanina (reparo por excisão de bases-BER)<sup>121, 122</sup>. A Polipose Associada ao gene *MUTYH* (PAM) ou polipose atenuada é uma síndrome de predisposição hereditária, com herança autossômica recessiva (homozigose) que confere um risco elevado de desenvolver câncer colorretal em idade precoce<sup>121</sup>. O diagnóstico é feito pela presença de 3-10 pólipos colônicos associados ou não à presença de câncer colorretal; porém normalmente estes pacientes apresentam entre 10 e 100 pólipos adenomatosos. Os pacientes portadores da síndrome podem realizar controle endoscópico dos pólipos e optar por medidas específicas de acordo com a localização e número de pólipos<sup>122</sup>. Já variantes em heterozigose vem sendo descritas relacionadas ao CMOH. No estudo de Rennerg e colaboradores de 2012, que avaliou 930 mulheres judias originárias do Norte da África quanto ao risco de câncer de mama, verificou-se que portadores de variantes germinativas patogênicas heterozigóticas neste gene possuem risco moderado para o câncer de mama (OR 1,86: 95% IC, 1,02- 3,89; p=0,039)<sup>123</sup>. Por este motivo, o gene está sendo incluído na maioria dos painéis para câncer de mama e ovário, além de ser pesquisado nos casos clássicos de tumores colorretais.

O sequenciamento deste gene é feito de maneira convencional (sanger) ou sequenciamento de nova geração seguido da análise de rearranjos.

### 1.5 Genes de Baixo Risco e/ou Polimorfismos

A susceptibilidade para o câncer de mama deve-se também à presença de genes de baixo risco. Em tese, eles poderiam ser a explicação dada ao risco de predisposição por um modelo poligênico, envolvendo uma combinação de muitas variantes individuais, isto é, pequenas diferenças no genoma, entre os indivíduos, que determinam um risco maior que a média da população para a predisposição ao câncer de mama, aumento esse de até 1,5% em alguns casos<sup>124</sup>.

Através dos estudos GWAS (*Genome Wide Association studies*) que avaliaram o genoma com milhares de marcadores, foi possível identificar a relação com o aumento do risco para o câncer de mama hereditário, descobrindo os genes de baixo risco, ou seja, genes de baixa penetrância e frequência relativamente alta na população (de 5 a 50%)<sup>125</sup>, tais como *TNRC9*, *FGFR2*, *MAP3K1*, *H19* e *LSP1*<sup>124</sup>. Além disso, o aprofundamento de estudos de larga escala permitiu a identificação de diversos polimorfismos ou SNPs (*single Nucleotide Polymorphism*)<sup>126</sup> que podem ser responsáveis coletivamente por um grande componente de herdabilidade no CMOH, sendo considerados modificadores genéticos.

Essa categoria de variantes, de maneira isolada, confere um risco menor (inferior a 1,5%), mas podem ter um efeito somatório no desenvolvimento do câncer de mama, bem como influenciar em fatores prognósticos da doença, tais como a idade ao diagnóstico. Portanto, os genes de baixo risco e um subconjunto destes SNPs podem ser úteis no estudo do CMOH, no entanto ainda necessita-se de um aperfeiçoamento no manejo clínico<sup>127</sup>. Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) demonstraram uma associação com a susceptibilidade ao câncer de mama, mas há evidências limitadas sobre como incorporá-los aos modelos atuais de previsão de risco de câncer de mama.

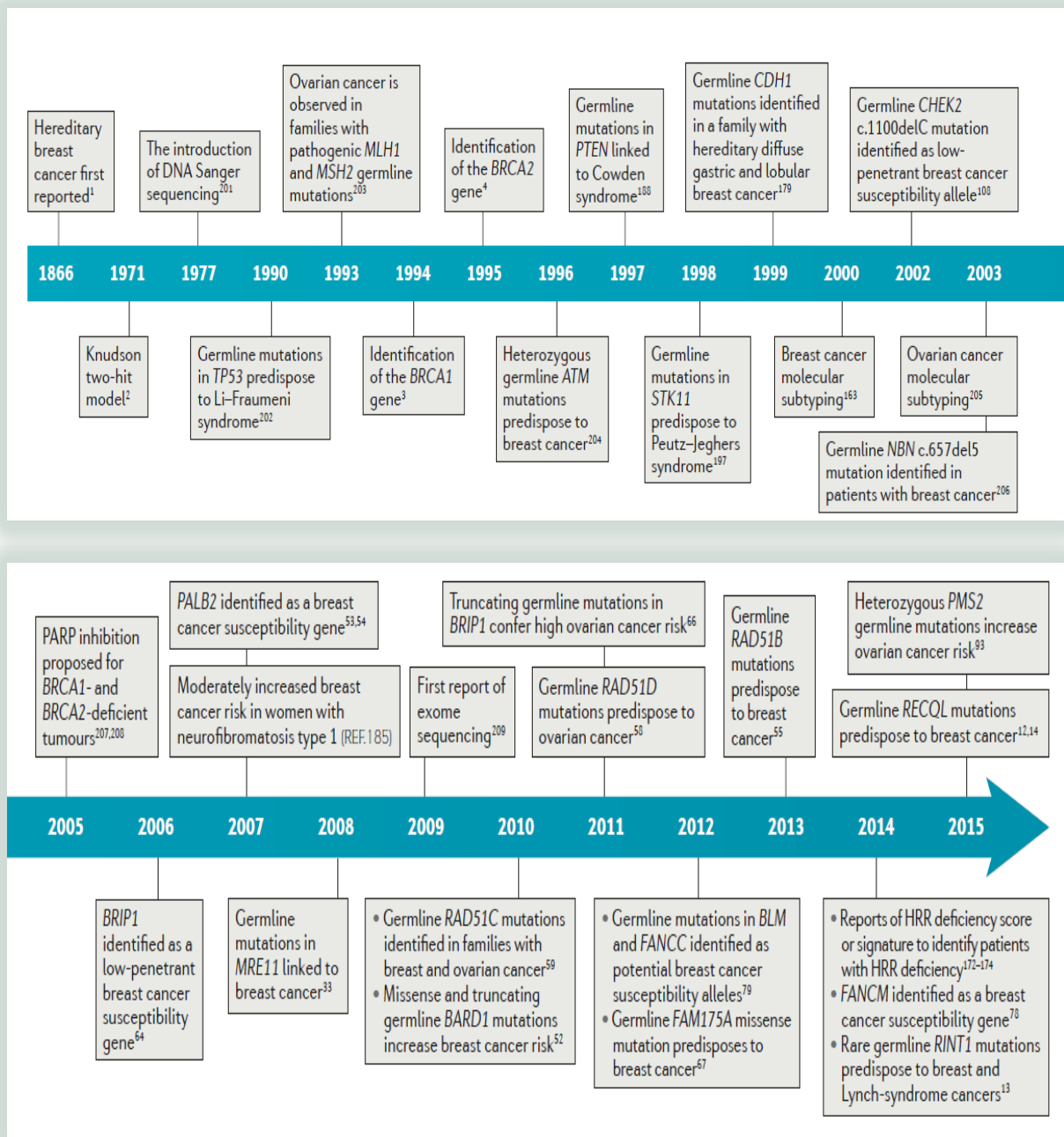
No estudo de Elke e colaboradores<sup>128</sup> (2018) foi analisado através de um painel o SNP18 (rs10931936) que poderia ser usado para prever o câncer de mama em combinação com fatores de risco clássicos e densidade mamográfica. Os resultados demonstraram que o SNP18 foi similarmente preditivo quando não ajustado ou ajustado para densidade mamográfica e fatores clássicos (odds ratios por intervalo interquartilico, respectivamente, 1,56; IC 95%, 1,38-1,77 e 1,53; IC95%, 1,35-1,74, sendo os riscos observados muito próximos para o esperado (odds ratio ajustado observado a esperado, 0,98; IC 95%, 0,69-1,28. O SNP18 acrescentou informações substanciais à avaliação de risco e na densidade

mamográfica. É provável que um risco combinado exista e estratégias de rastreio e prevenção estratificadas pelo risco são pertinentes em alguns casos<sup>128</sup>.

### **1.6 Análises em Larga Escala do DNA**

Observa-se que décadas de estudo revelaram inúmeras descobertas no CMOH. As práticas se modernizaram e o aumento no conhecimento relacionado aos tumores de mama e ovário hereditários gerou uma gama de resultados novos. No artigo de Nielsen e colaboradores em 2016<sup>129</sup> observamos o “*timeline*” dos principais eventos que aconteceram ao longo de décadas e o quanto as pesquisas contribuíram para este cenário amplo nos dias atuais (Figura 3).





Fonte: Nielsen *et al*<sup>129</sup>

Figura 3 - Timeline dos eventos importantes relacionados aos tumores de mama e ovário hereditários.

Análises moleculares em larga escala (sequenciamento de nova geração) estão contribuindo de forma expressiva para a identificação de genes relacionados à doenças monogênicas e também à doenças com alta heterogeneidade molecular. Estas plataformas são capazes de gerar informação (com a mesma sensibilidade e especificidade) sobre milhões de pares de bases em uma única corrida, num curto espaço de tempo (uma semana

a 10 dias) e, ainda, possuem a capacidade de testar vários pacientes em um único experimento. Desta forma, diminui o custo (pois se assemelha ou muitas vezes torna-se inferior ao sequenciamento convencional de cada um desses genes), agiliza (otimiza tempo tanto dos profissionais como dos usuários) e aperfeiçoa (possibilita novas alternativas na busca pelas possíveis causas do câncer) a realização do teste genético<sup>22, 130</sup>.

### 1.7 Painéis Gênicos em CMOH

Esta tecnologia pode e vêm sendo empregada na forma de painéis abrangentes (poligênicos) relacionados ao CMOH, com objetivo de se descobrir outros genes de penetrâncias variadas, além do *BRCA1* e *BRCA2*<sup>127</sup>.

Um dos primeiros trabalhos utilizando painéis poligênicos foi publicado por Walsh e colaboradores em 2011. Nesse estudo foram incluídas 360 mulheres com tumores de ovário (281, sendo oito delas com tumores sincrônicos de endométrio), peritônio (48) ou tuba uterina (31), submetidas à cirurgia primária na Universidade de Washington. Painel poligênico com 21 genes foi realizado. Do total, 24% eram portadoras de variantes germinativas patogênicas associadas à perda de função proteica, 18% nos genes *BRCA1* e *BRCA2* e 6% em outros genes: *BARD1*, *BRIP1*, *CHEK2*, *MRE11A*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *RAD50*, *RAD51* ou *TP53*<sup>22</sup>.

Em 1996, a empresa norte-americana de biotecnologia *Myriad Genetics* começou a oferecer testes de diagnóstico genético para mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*<sup>131</sup>. Desde então, a *Myriad* passou a ser a precursora no campo da medicina personalizada através do uso de estratégias de comercialização eficazes que foram imitadas por outras empresas comerciais de biotecnologia. Em junho de 2013 expirou a patente de sequenciamento dos genes *BRCA1* e *BRCA2*, pertencente à empresa americana<sup>131</sup>. Desta forma, aumentou ainda mais a difusão dos testes genéticos para câncer hereditário. Este fato deu início a uma crescente utilização de painéis gênicos na prática médica.

Estas análises em larga escala do DNA têm ajudado a identificar a frequência/prevalência de alterações germinativas patogênicas em genes de moderado e baixo risco, bem como em genes de alto risco, mas que não são classicamente associados à HBOC. Adicionalmente, propicia descobertas de fenótipos e sobreposição de fenótipos inesperados, nos direcionando a uma prática clínica mais ampla.

Estudos mais recentes vêm sendo realizados para aprimorar a prática cada vez mais crescente da utilização de painéis. Em 2014, Kurian e colaboradores, coletaram dados de 198 mulheres (174 tinham câncer de mama e 57 eram portadoras de variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1/2*) referidas para testagem de *BRCA1* e *BRCA2*, durante o período de 2002 a 2012. Quarenta e dois genes sabidamente associados com risco de câncer foram sequenciados (regiões codificadoras, regiões de transição éxon-íntron e variantes patogênicas conhecidas em outras regiões)<sup>132</sup>. Dentre as 141 pacientes sem variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1/BRCA2*, 17 variantes patogênicas foram identificadas nos genes *ATM, BLM, CDH1, CDKN2A, MUTYH, MLH1, NBN, PRSS1 e SLX4*. Quatorze participantes eram portadoras de 15 variantes patogênicas que mereciam possível mudança no manejo clínico. Essas pacientes foram convidadas a participar de uma estratégia de rastreamento, possibilitando detecção precoce de lesões iniciais e remoção de adenomas tubulares por colonoscopia. Apesar do estudo não quantificar a penetrância das variantes germinativas patogênicas identificadas e não determinar sua utilidade clínica, demonstrou que o sequenciamento de múltiplos genes pode beneficiar alguns pacientes selecionados<sup>132</sup>.

Em 2015 um estudo realizado por Schroeder *et al*<sup>133</sup> analisou 620 mulheres através da utilização de um painel gênico contendo 10 genes de alto e moderado risco. As mulheres foram selecionadas de acordo com critérios padrões para testagem de *BRCA1* e *BRCA2*. Foram identificadas variantes germinativas patogênicas em 12,1% (75/620) das pacientes: 4,84% em *BRCA1*, 4,35% em *BRCA2*, 0,97% em *CHEK2*, 0,65% em *ATM*, 0,48% em *CDH1*, 0,32% em *PALB2*, 0,32% em *NBN* e 0,16% em *TP53*. Os resultados também demonstraram que os sequenciadores de nova geração geram dados robustos, são custo-efetivos e devem se constituir no método de escolha para testagem em grandes *coortes*. A adição de oito genes à testagem do *BRCA1* e *BRCA2* aumentou em 1/3 a taxa de detecção de variantes germinativas patogênicas<sup>133</sup>.

Em 2017, Couch e colaboradores realizaram um estudo com 54.585 pacientes com câncer de mama e utilizaram um painel com 21 genes relacionados ao risco para o desenvolvimento do CMH. Os resultados foram comparados aos dados depositados no ExAC<sup>134</sup> (excluindo pacientes do TCGA). Foram identificadas variações em 5 dos 16 genes que apresentaram riscos significativos: *PALB2, ATM, CHEK2, BARD1* e *RAD51D* (após exclusão dos 5 genes de alto risco e já conhecidos por serem genes relacionados à síndromes- *BRCA1, BRCA2, CDH1, PTEN, TP53*). Os resultados também foram inesperados por excluírem genes

que estariam inicialmente relacionados ao câncer de mama como, por exemplo, *NBN*, *MRE11A* e *RAD50*. O estudo fornece estimativas de riscos e seleciona genes candidatos a painéis já mais fundamentados (levando em conta o número amostral do estudo), demonstrando a associação destas variantes germinativas patogênicas (nos genes *PALB2*, *ATM*, *CHEK2*, *BARD1* e *RAD51D*) e seu risco conferido. Em suma, o estudo reafirma que os painéis gênicos associados ao CMOH possuem um único objetivo, o de identificar riscos para uma determinada doença e poder contribuir para a prática clínica<sup>88</sup>.

### 1.7.1 Variantes de Significado Clínico Desconhecido no CMOH

Uma crescente preocupação entre os geneticistas (clínicos e moleculares), assim como entre os clínicos em geral refere-se à presença de variantes de significado clínico desconhecido (VUS). A definição das condutas clínicas a serem adotadas no seguimento de indivíduos com presença de variantes de significado clínico desconhecido (VUS) estariam entre as principais considerações para decisão sobre inclusão ou não de determinados genes em painéis e poderiam de certa maneira reduzir o benefício proporcionado pela realização do teste genético, bem como criar um nível de ansiedade e estresse nas famílias com as VUS em questão<sup>135</sup>. No artigo de Ellis e colaboradores em 2015<sup>127</sup>, foi demonstrada a grande porcentagem de VUS encontradas em diversos estudos envolvendo a utilização de painéis gênicos. Destaca-se o gene *ATM* com o maior número de VUS (9,6%) de todos os genes analisados. A interpretação destas variantes ainda é considerada um desafio para os profissionais especializados na área e deverão ser consideradas para inclusão em estudos funcionais e de segregação<sup>127</sup>. Reforçando esta necessidade de melhores práticas em relação à utilização de painéis gênicos e manejo de seus resultados, Anna Coppa e colaboradores<sup>136</sup> sugerem no seu estudo publicado em 2018, que a integração de vários genes em um painel requer organização e caracterização destas novas variantes genéticas encontradas (estudos de segregação familiar, análise de predição *in silico* e ensaios funcionais), e que somente desta forma estaríamos melhorando a utilidade clínica dos dados gerados pelos painéis no futuro<sup>136</sup>.

Apesar da existência de aspectos controversos em relação à utilização de painéis gênicos, (como quais os genes que compõem os painéis, VUS e SNPs) os mesmos vêm se mostrando extremamente úteis na prática clínica e na identificação e acompanhamento de famílias de alto risco para câncer de mama hereditário, visto que os genes *BRCA1* e *BRCA2*

não correspondem à totalidade dos casos como já mencionado. Estratégias de adequação através de dados suplementares e aperfeiçoamento devem se expandir e modelos padrões de painéis deverão ser estabelecidos, visto que, conforme mencionado anteriormente, a utilização de abordagens tradicionais demonstra dificuldade na determinação do fator causal associado ao CMOH em mais de 50% das famílias de alto risco<sup>137</sup>.

## JUSTIFICATIVA

A sobreposição de fenótipos associada às síndromes hereditárias é um evento relativamente frequente, tornando questionável a busca por apenas genes candidatos já relacionados com tais características. Assim, a utilização de painéis gênicos, de maneira criteriosa, aumenta a probabilidade de identificação de alterações em genes associados a maior risco de CMOH, com otimização do tempo e custo. Cabe salientar que determinar o risco de câncer de uma forma mais acurada para a grande proporção das mulheres com história pessoal e familiar de CMOH e que não possuem variante germinativa patogênica germinativa nos genes *BRCA1* e *BRCA2* é fundamental. De maneira adicional o conhecimento de qual gene está alterado e qual o risco associado a essa alteração possibilita uma melhora significativa nas decisões acerca do manejo do risco, bem como pode aumentar a gama de estratégias preventivas e de redução de risco no futuro.

## OBJETIVOS

### 1.8 Objetivo Geral

Avaliar o perfil mutacional de genes de alto e moderado risco em pacientes com história pessoal e/ou familiar sugestiva de CMOH.

### 1.9 Objetivos Específicos

1. Identificar variantes germinativas patogênicas/possivelmente patogênicas e ou VUS nos genes *TP53*, *ATM*, *BARD1*, *MRE11A*, *NBN*, *RAD50*, *CHEK2*, *PALB2*, *BRIP1*, *CDH1*, *PTEN*, *STK11*, *RAD51C* e *MUTYH* em um grupo de mulheres não relacionadas, com história pessoal e familiar sugestiva de câncer de mama e/ou ovário hereditários.
2. Classificar as variantes identificadas de acordo com a sua patogenicidade utilizando consulta em bancos de dados doença-específicos (**HGMD e ClinVar**).
3. Classificar as variantes identificadas de acordo com a sua patogenicidade através do programa Varsome que utiliza as evidências da **ACMG** para sua classificação.
4. Classificar as variantes identificadas de acordo com a sua patogenicidade realizando análise de frequência em bases de dados populacionais internacionais (**gnomAD**) e em uma base populacional brasileira (**ABraOM**).
5. Classificar as variantes identificadas de acordo com a sua patogenicidade utilizando programas de predição *in silico* **PolyPhen-2; MutationTaster; Align GVGD; SIFT; Panther; Human splice Finder; CADD, Revel e PROVEAN**.
6. Realizar análise de segregação para as variantes cuja classificação **ACMG** indicarem um significado clínico desconhecido de patogenicidade, ou seja, variantes consideradas classe 3 (VUS).
7. Avaliar a associação entre as variantes patogênicas/possivelmente patogênicas identificadas e história familiar, dados clínicos e histopatológicos.

## **METODOLOGIA**

### **1.10 Delineamento do estudo**

#### **1.10.1 Tipo de estudo/amostra**

Estudo tipo *coorte* retrospectivo com 52 mulheres não aparentadas entre si (tamanho amostral definido por conveniência), com história pessoal de CM e/ou ovário e alto risco para câncer de mama e ovário hereditário. Estas mulheres foram encaminhadas para o Departamento de Oncogenética do Hospital de Câncer de Barretos (HCB) e testadas negativas para variantes germinativas patogênicas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*.

#### **1.10.2 Critérios de Inclusão:**

1. Sexo feminino;
2. Idade superior a 18 anos;
3. Diagnóstico de câncer de mama (CM) em idade jovem e/ou câncer de ovário (CO), com no mínimo dois familiares com CM ou CO em idade <55 anos;
4. Pacientes testadas previamente para os genes *BRCA1/BRCA2* com resultado do teste negativo (WT- *Wild Type*);
5. Assinar termos de consentimento de participação no estudo.

#### **1.10.3 Critérios de Exclusão:**

1. Pacientes com material armazenado insuficiente no Centro de Diagnóstico Molecular do HCB.

#### **1.10.4 Casuística e Delineamento do Estudo**

A seleção da amostra baseou-se nos critérios de inclusão acima especificados, aplicação dos termos de consentimento livre e esclarecido, coleta dos dados clínico-patológicos retrospectivamente por meio de uma ficha de coleta, com 796 variáveis, utilizada tanto para coleta nos prontuários médicos, quanto nas pastas das famílias no setor da Oncogenética do HCB (Anexo 1). Em seguida, foi realizado o sequenciamento de 14 genes



(utilizando-se um painel gênico customizado) a partir das amostras de cada paciente (DNA genômico constitutivo).

Na segunda fase do estudo, as variantes germinativas identificadas foram avaliadas quanto a sua patogenicidade de diferentes maneiras: *i*) a partir de consulta em bancos de dados doença-específicos (ClinVar<sup>138</sup> e HGMD<sup>139</sup>); *ii*) análise (usando-se a plataforma web Varsome<sup>140</sup>) das evidências geradas pela classificação da ACMG -Colégio Americano de Genética Médica e Genômica<sup>141</sup> (em benignas, provavelmente benignas, VUS, provavelmente patogênicas e patogênicas) (Anexo 2); *iii*) avaliação em programas de predição *in silico* (nove ferramentas) e *iv*) em bases de dados populacionais (gnomAD<sup>142</sup> e ABraOM<sup>143</sup>). Todas as variantes germinativas classificadas como patogênicas, provavelmente patogênicas e/ou VUS, com uma frequência menor que 5% nos bancos de dados populacionais, foram confirmadas por sequenciamento convencional Sanger.

Na terceira fase do estudo as variantes confirmadas pelo sequenciamento convencional e consideradas VUS pelos critérios preconizados pela ACMG<sup>141</sup> (Anexo 2), foram validadas por meio de estudos de segregação nas famílias disponíveis. Nessa fase foram incluídos todos os familiares interessados, com e sem história pessoal de câncer.

Um fluxograma com o delineamento do estudo está apresentado na Figura 4.

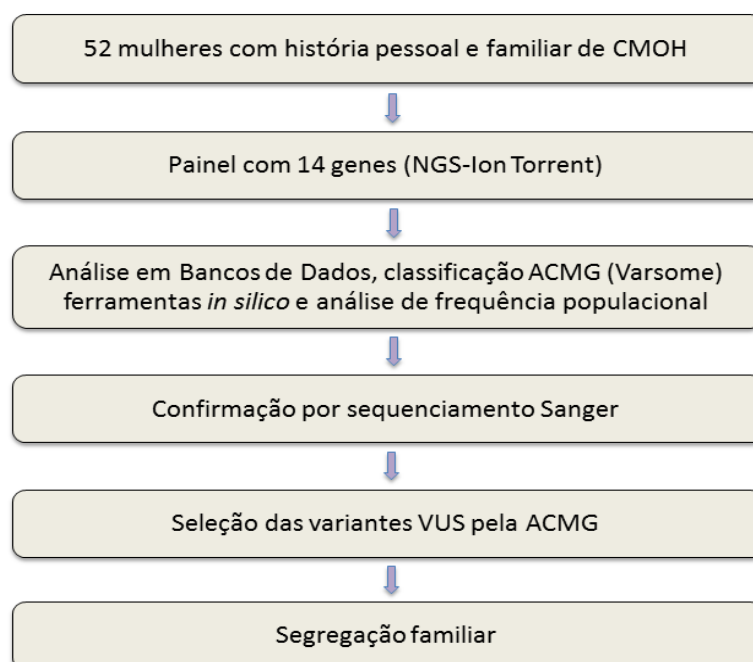


Figura 4 - Fluxograma do delineamento do estudo

### 1.10.5 Caracterização dos subtipos moleculares dos tumores de mama

A avaliação das características clínicas das pacientes referente aos subtipos moleculares para o câncer de mama foi realizada de acordo com o artigo de Goldhirsch<sup>144</sup>, que descreve os grupos conforme a Tabela 1.

**Tabela 1 - Classificação de subtipos moleculares para o Câncer de Mama**

Luminal A	ER e/ou PR positivos, HER2 negativo e ki-67 <14%
Luminal B1 - HER2 negativo	ER e/ou PR positivos, HER2 negativo ki-67 >14%
Luminal B2 - HER2 positivo	ER e/ou PR positivos, HER2 positivo, independente do resultado de ki-67
HER2 super expresso	ER e PR negativos e HER2 positivo
Basal-like/ TPN	ER/PR/HER2 negativos e uma das citoqueratinas CK5/6 e CK14 positiva

ER: receptor de estrogênio /EP: receptor de progesterona/ Ki67: índice de proliferação celular/HER Fator de Crescimento Epidermal/ CK Citoqueratina<sup>144</sup>.

### 1.10.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada de maneira descritiva. Para armazenamento dos dados e análise estatística foi utilizado o programa SPSS v.21.0. As variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas e frequências relativas percentuais.

## 1.11 Análises Laboratoriais

### 1.11.1 Extração de DNA genômico a partir de sangue periférico e controle de qualidade das amostras

O DNA genômico a partir de sangue periférico foi extraído utilizando o kit *QIAamp Blood DNA Mini Kit (Qiagen)* seguindo especificações do fabricante (foi usado unicamente DNA proveniente de sangue periférico, por ser rotina do Centro de Diagnóstico Molecular). A quantificação e pureza das extrações foram obtidas por meio do espectrofotômetro

NanoDrop ND-1000 (*Thermo scientific*). Somente foram utilizadas as amostras cujas razões 260/230 fossem superiores a 2,0 e as razões 260/280 dentro do intervalo de 1,8 e 2,0.

### 1.11.2 Sequenciamento Painel gênico

O painel gênico utilizado neste estudo foi customizado, sendo constituído por 14 genes relacionados com o risco aumentado (moderado a alto) para câncer de mama e/ou ovário hereditários. A escolha dos genes baseou-se na literatura científica internacional e nas evidências consideradas acuradas no momento da confecção do painel. Os genes *BRCA1* e *BRCA2* não foram considerados para o presente estudo pelo fato de que todas as pacientes já haviam sido testadas negativas para os mesmos. A região codificadora, junto com as regiões intrônicas imediatamente adjacentes (5-10 bases no início e final de cada éxon) de cada gene foram analisadas utilizando-se o sequenciador de nova geração Ion Torrent PGM (Applied Biosystems).

**Tabela 2 - Painel gênico.**

<b>Gene</b>	<b>seq ref Painel</b>	<b>Gene</b>	<b>seq ref Painel</b>
<i>ATM</i>	NM_000051.3	<i>PALB2</i>	NM_024675.3
<i>BARD1</i>	NM_000465.3	<i>RAD50</i>	NM_005732.3
<i>BRIP1</i>	NM_032043.2	<i>RAD51C</i>	NM_058216.2
<i>CHEK2</i>	NM_001005735.1	<i>TP53</i>	NM_000546.5
<i>MRE11A</i>	NM_005591.3	<i>CDH1</i>	NM_004360.3
<i>MUTYH</i>	NM_001128425.1	<i>PTEN</i>	NM_000314.4
<i>NBN</i>	NM_002485.4	<i>STK11</i>	NM_000455.4

NM\_referência: National Center for Biotechnology Information<sup>138</sup>

O preparo da biblioteca foi realizado utilizando o kit Ion Ampliseq Library 2.0 (Applied Biosystems) de acordo com o protocolo do fabricante. As regiões codificantes dos genes amplificadas por 788 pares de primers foram distribuídas em 3 *pools*. Cada biblioteca foi ligada a adaptadores utilizando o *Ion Xpress™ Barcode Adapters kit* (Ion Torrent; Thermo Fisher scientific, Inc.). O kit *Ion Library TaqMan™ Quantitation Kit* (Ion Torrent; Thermo Fisher scientific, Inc.) foi utilizado para determinar a qualidade e concentração das

bibliotecas. Após a normalização, o *pool* de bibliotecas foi diluído para a concentração final de 25pM. A preparação dos *templates* por Reação em Cadeia da Polimerase e o carregamento do chip foi realizado no Ion Chef (Thermo Fisher scientific, Inc.) conforme protocolo do fabricante. O sequenciamento foi realizado na plataforma Ion PGM system no Ion 316 Chip v2 (Thermo Fisher scientific, Inc). Foram utilizados 6 chips, utilizando uma cobertura superior a 50 vezes (conforme previamente calculado e considerando o tamanho em pares de bases das regiões a ser analisadas).

A análise primária (processamento do sinal, chamada de bases, filtro das sequências e mapeamento) dos dados gerados foi feita utilizando-se o *software* Torrent suite v2.2. As sequências geradas foram mapeadas ao genoma de referência hg19 (*Homo sapiens*). A chamada e anotação das variantes foram realizadas utilizando-se o *software* Ion Reporter v5.6, aplicando-se parâmetros padrão. Os primeiros filtros para seleção de variantes do painel gênico foram: exclusão das variantes com cobertura abaixo de 50 X; variantes intrônicas mais distantes do que cinco pares de bases *upstream* e *downstream* dos éxons; variantes localizadas em regiões UTR não codificantes e variantes do tipo sinônimas localizadas em regiões não associadas ao *splicing*.

### 1.12 Análise da frequência das variantes em bancos populacionais

A avaliação da frequência de uma variante germinativa em um controle ou na população em geral é útil na avaliação de sua verdadeira patogenicidade. Em geral, uma frequência alélica em uma população controle maior que a esperada para a doença em avaliação é considerada um forte apoio para uma interpretação benigna se estivermos avaliando uma doença rara com padrão de herança mendeliano. Todas as variantes foram avaliadas quanto à sua frequência em bancos de dados populacionais internacionais (**gnomAD**<sup>142</sup>) e em um banco brasileiro (**AbraOM**<sup>143</sup>). Dada a grande diversidade étnica da população Brasileira e sua sub-representação em bancos de dados populacionais internacionais, a comparação com dados nacionais é de fundamental importância. O banco AbraOM contém variantes genômicas identificadas em uma *coorte* de 609 idosos brasileiros (SABE609) de uma amostra censitária da cidade de São Paulo<sup>145</sup>. O ponto de corte utilizado no presente estudo foi de 5% de frequência populacional, fundamentado pelo artigo de Richards<sup>141</sup> de 2015 (ACMG) que descreve que variantes germinativas com uma frequência acima de 5% podem, apenas por esta evidência, serem consideradas benignas.

### 1.13 Análise da patogenicidade das variantes

As variantes genéticas identificadas foram comparadas com as bases de dados: ClinVar<sup>146</sup> e *Human Gene Mutation Database*<sup>139</sup> (HGMD). De maneira complementar, para a classificação das variantes conforme sua patogenicidade e seguindo as diretrizes preconizadas pela ACMG<sup>141</sup>, foi utilizada a plataforma web Varsome. Cabe ressaltar que este grupo de pesquisadores (ACMG) fornece um guia de orientação para direcionar os profissionais para uma melhor interpretação das variantes. O guia baseia-se em evidências (Figura 5) que sugerem benignidade ou patogenicidade, dependendo do tipo e da força de cada evidência (no anexo 1 encontram-se as descrições dos códigos dados as evidências). Por fim, para adicionar maiores informações acerca da patogenicidade das variantes germinativas, utilizamos as seguintes ferramentas de predição *in silico*: **PolyPhen-2**<sup>147</sup>; **MutationTaster**<sup>148</sup>; **Align GVD**<sup>149</sup>; **SIFT**<sup>150</sup>; **Panther**<sup>151</sup>, **Human Splice Finder**<sup>152</sup>, **Revel**<sup>153</sup>, **CADD**<sup>154</sup> e **PROVEAN**<sup>155</sup>.

### 1.14 Validação dos resultados – Sequenciamento convencional

Todas as variantes classificadas tanto pelo ClinVar quanto pela ACMG como VUS (classe 3), provavelmente patogênicas (classe 4) e patogênicas (classe 5) foram confirmadas por sequenciamento convencional (*sanger*). Para esta validação, os DNAs genômicos em questão foram amplificados por PCR, purificados com a enzima Exosap-IT (*USB*) e kit Big Dye X terminator (*Applied Biosystems*) e sequenciados bi-direcionalmente utilizando o Kit BigDye terminator v3.1 (*Applied Biosystems*). A eletroforese foi realizada no sequenciador automatizado modelo 3500XL (*Applied Biosystems*).

### 1.15 Validação dos resultados - Análise de segregação

Para a análise de segregação, foram convidadas todas as famílias com variantes germinativas classe 3 (VUS) pela classificação ACMG e pelo banco de dados ClinVar e confirmadas por sequenciamento convencional. Para análise de segregação foram convidados todos os familiares do paciente index (caso índice ou probando, nome dado ao paciente que deu início à investigação na família). Dentre esses familiares, o cenário ideal seria ter no mínimo 3 familiares com câncer (de preferência em idade precoce) e 3 familiares sem câncer (de preferência em idade mais avançada). Esta situação ideal não foi possível em

nosso estudo, mas nós testamos todos os familiares que se propuseram a vir ao hospital e consentiram em participar do estudo. Os testes moleculares foram feitos por PCR e sequenciamento bidirecional Sanger como descrito anteriormente.

	Benign		Pathogenic			
	Strong	Supporting	Supporting	Moderate	Strong	Very Strong
<b>Population Data</b>	MAF is too high for disorder <i>BA1/BS1</i> OR observation in controls inconsistent with disease penetrance <i>BS2</i>			Absent in population databases <i>PM2</i>	Prevalence in affecteds statistically increased over controls <i>PS4</i>	
<b>Computational And Predictive Data</b>		Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene /gene product <i>BP4</i> Missense in gene where only truncating cause disease <i>BP1</i> Silent variant with non predicted splice impact <i>BP7</i>	Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene /gene product <i>PP3</i>	Novel missense change at an amino acid residue where a different pathogenic missense change has been seen before <i>PM5</i> Protein length changing variant <i>PM4</i>	Same amino acid change as an established pathogenic variant <i>PS1</i>	Predicted null variant in a gene where LOF is a known mechanism of disease <i>PVS1</i>
<b>Functional Data</b>	Well-established functional studies show no deleterious effect <i>BS3</i>		Missense in gene with low rate of benign missense variants and path. missenses common <i>PP2</i>	Mutational hot spot or well-studied functional domain without benign variation <i>PM1</i>	Well-established functional studies show a deleterious effect <i>PS3</i>	
<b>Segregation Data</b>	Non-segregation with disease <i>BS4</i>		Co-segregation with disease in multiple affected family members <i>PP1</i>	Increased segregation data →		
<b>De novo Data</b>				<i>De novo</i> (without paternity & maternity confirmed) <i>PM6</i>	<i>De novo</i> (paternity & maternity confirmed) <i>PS2</i>	
<b>Allelic Data</b>		Observed in <i>trans</i> with a dominant variant <i>BP2</i> Observed in <i>cis</i> with a pathogenic variant <i>BP2</i>		For recessive disorders, detected in <i>trans</i> with a pathogenic variant <i>PM3</i>		
<b>Other Database</b>		Reputable source w/out shared data = benign <i>BP6</i>	Reputable source = pathogenic <i>PP5</i>			
<b>Other Data</b>		Found in case with an alternate cause <i>BP5</i>	Patient's phenotype or FH highly specific for gene <i>PP4</i>			

Fonte: Richards *et al*<sup>141</sup>

Figura 5 - Quadro de Evidências para a classificação de variantes da ACMG.

## **ASPECTOS ÉTICOS**

Todas as pacientes incluídas no estudo assinaram o termo de consentimento (TCLE) específico do estudo. Os resultados foram fornecidos às pacientes após validação em uma segunda metodologia. No caso de variantes germinativas patogênicas, as mesmas foram divulgadas aos pacientes em consulta de Aconselhamento Genético realizado por médico geneticista ou com preparo para tal junto ao Departamento de Oncogenética do HCB. Aprovação do CEP do HCB: 916/2015.

## RESULTADOS

### 1.16 Caracterização da Amostra

Foram incluídas 52 mulheres com história pessoal e familiar de câncer de mama e/ou ovário e com resultado negativo para os genes *BRCA1* e *BRCA2*. A média de idade ao primeiro diagnóstico de câncer foi de 41,9 anos (variando de 21 a 61 anos). A maioria era procedente do estado de São Paulo (64,2%), branca (86,3%), casada (66,7%) e tinha ensino médio completo (35,3%) - Tabela 3.

**Tabela 3 - Dados sociodemográficos das 52 mulheres incluídas no estudo**

		N	%
<b>Cor</b>	Branco	44	86,3
	Pardo	6	11,8
	Negro	1	2,0
	Ignorado	1	-
<b>Escolaridade</b>	Analfabeto/ensino fundamental incompleto	8	15,7
	Ensino fundamental completo	9	17,6
	Ensino médio completo	18	35,3
	Ensino superior completo	16	31,4
	Ignorado	1	-
<b>Estado civil</b>	Solteiro	11	21,6
	Casado(a)/União estável	34	66,7
	Viúvo	2	3,9
	Divorciado	4	7,8
	Ignorado	1	-
<b>Profissão</b>	Não trabalha	11	22,0
	Trabalha sem carteira assinada	34	68,0
	Trabalha com carteira assinada	2	4,0
	Do lar	3	6,0



	Ignorado	2	-
<b>Procedência</b>	DF	1	1,9
	ES	1	1,9
	GO	2	3,8
	MG	7	13,2
	PE	1	1,9
	PR	3	5,7
	RO	1	1,9
	RR	1	1,9
	SP	34	64,2
	TO	1	1,9
<b>Naturalidade (Estado)</b>	BA	2	3,8
	DF	1	1,9
	GO	2	3,8
	MG	8	15,4
	MS	1	1,9
	MT	1	1,9
	PR	4	7,7
	SP	32	61,5
	Ignorado	1	-

DF: Distrito Federal; GO: Goiás; MG: Minas Gerais; MS: Mato Grosso do Sul; PE: Pernambuco; PR: Paraná; RO: Rondônia; RR: Roraima; SP: São Paulo; TO: Tocantins; BA: Bahia; MT: Mato Grosso.

Quanto às variáveis relacionadas a risco para desenvolvimento do câncer de mama e/ou ovário, a idade média da menarca foi 13 anos (10 a 15 anos), a média de idade da primeira gestação foi 22 anos (15 a 34 anos) e a média de meses de amamentação foi 23 meses (0 a 120 meses). De maneira adicional, a maioria era pré-menopáusica (76,7%), tinha familiar de primeiro grau com câncer de mama (56,9%) e dentre aquelas na pós/peri menopausa nenhuma fazia terapia de reposição hormonal (Tabela 4).

**Tabela 4 - Variáveis relacionadas a risco para desenvolvimento de câncer de mama e/ou ovário (n=52)**

		<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Tabagismo</b>	Não	38	79,2
	Sim	10	20,8
	Ignorado	4	-
<b>Estado Menopausal:</b>	Pré	33	76,7
	Peri	1	2,3
	Pós	9	20,9
	Ignorado	9	-
<b>TRH</b>	Não	9	100,0
	Sim	0	0,0
	Ignorado	43	-
<b>Familiar primeiro grau com CA de mama</b>	Não	22	43,1
	Sim	29	56,9
	Ignorado	1	-

TRH: terapia de reposição hormonal; CA: câncer

Em relação aos dados clínico-patológicos, 49 pacientes apresentaram câncer de mama (94,2%) e 5 pacientes câncer de ovário (9,6%), sendo que duas (já incluídas também nas porcentagens acima) apresentaram câncer de mama e ovário (3,8%). Dentre as pacientes com câncer de mama, quatro pacientes apresentaram câncer de mama contralateral, totalizando 53 tumores de mama dentre as 52 pacientes. Em relação ao número de tumores, 17% das pacientes foram diagnosticadas com mais de um tumor e uma paciente apresentou três tumores primários (câncer de rim, mama e tireóide) sendo o primeiro tumor aos 31 anos (Tabela 5).

**Tabela 5 - Características clínico-patológicas das 52 pacientes incluídas no estudo**

		<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Sítios tumores primários</b>	Mama	44	84,6

	Ovário	3	5,7
	Mama e ovário	2	3,8
	Mama e Sarcoma	1	1,9
	Rim, Mama e Tireóide	1	1,9
	Melanoma e Mama	1	1,9
<b>Câncer de mama e ovário</b>	Não	50	96,1
	Sim	2	3,8
<b>Câncer de mama bilateral</b>	Não	48	92,3
	Sim	4	7,6
<b>Múltiplos tumores</b>	Não	43	82,6
	Sim	9	17,3
<b>Mais de dois tumores primários</b>	Não	51	98,0
	Sim	1	1,9

Dentre os 53 tumores de mama, a histologia predominante foi carcinoma ductal invasor (86,0%), seguido por carcinoma *in situ* (8,0%). Quanto ao estadiamento, houve predomínio dos tumores com estadiamento IIIA tanto clínico quanto patológico com 33,3% para ambos. A maioria dos tumores era receptor hormonal positivo e Her2 negativo (Tabela 6).

**Tabela 6 - Características clinicopatológicas dos 53 cânceres de mama**

		<b>Nº tumores</b>	<b>%</b>	
	Intraductal/ <i>in situ</i>	4	8,0	
<b>Tipo histológico</b>	Carcinoma ductal invasor	43	86,0	
	Carcinoma lobular invasor	2	4,0	
	Carcinoma metaplásico	1	2,0	
	Ignorado	3	-	
	<b>Estadiamento clínico</b>	Intraductal	4	8,3
		IA	7	14,5

	IIA	9	18,7
	IIB	7	14,5
	IIIA	16	33,3
	IIIB	5	10,4
	Ignorado	5	-
	In situ	4	8,3
	IA	6	12,5
	IB	2	4,1
<b>Estadiamento patológico</b>	IIA	6	12,5
	IIB	5	10,4
	IIIA	16	33,3
	IIIB	9	18,7
	Ignorado	5	-
<b>Grau Histológico de Nottingham</b>	G1	9	30,0
	G2	12	40,0
	G3	9	30,0
	Ignorado	23	-
<b>Grau Nuclear</b>	G1	0	0,0
	G2	19	54,3
	G3	16	45,7
	Ignorado	18	-
<b>Receptor de estrogênio</b>	Negativo	12	24,0
	Positivo	38	76,0
	Ignorado	3	-
<b>Receptor de progesterona</b>	Negativo	12	24,0
	Positivo	38	76,0
	Ignorado	3	-
<b>Her-2</b>	Negativo	37	75,5
	Positivo	12	24,4
	Ignorado	3	-
<b>Ki-67</b>	<14%	8	16,3

>14%	41	83,7
Ignorado	3	-

---

Her-2: human epidermal growth factor receptor 2

Quanto aos subtipos moleculares, houve prodomínio de tumores luminais B1 (58%), enquanto que tumores triplo negativos e tumores Her2 super expressos representaram em conjunto cerca de 24% dos casos (Tabela 7).

**Tabela 7 - Subtipo molecular dos 53 cânceres de mama**

Subtipo Molecular	n	%
Luminal A	3	6
Luminal B1 - HER2 negativo	29	58
Luminal B2 - HER2 positivo	6	12
HER2 super expresso	6	12
Basal-like ou TPN*	6	12
Ignorados	3	-

\*Considerados TPN mesmo aqueles que não encontramos valores das citokeratinas/ Her-2: *human epidermal growth factor receptor 2*; / TPN: triplo negativo

Dentre as 5 mulheres com história pessoal de câncer de ovário, duas também apresentaram câncer de mama, sendo que em uma delas o câncer de ovário foi o primeiro tumor primário e, na outra, o segundo tumor primário. A idade média ao diagnóstico do câncer de ovário foi 43,4 anos, sendo a mais jovem diagnosticada aos 21 anos e a mais velha aos 60 anos. A histologia predominante foi adecarcinoma seroso, e quanto ao estadiamento patológico houve predomínio do estadio IIIC (Tabela 8).

**Tabela 8 - Características clínico patológicas dos 5 casos de câncer de ovário**

	Nº Tumores	%	
Tipo histológico	Adenocarcinoma		
	seroso	4,0	100,0
	Ignorado	1,0	-

<b>Estadiamento patológico</b>	IIIA	1,0	33,3
	IIIC	2,0	66,7
	Ignorado	2,0	-
<b>Estadiamento patológico T</b>	T3a	1,0	33,3
	T3b	1,0	33,3
	T3c	1,0	33,3
	Ignorado	2,0	-
<b>Estadiamento patológico N</b>	N0	3,0	100,0
	Ignorado	2,0	-
<b>Estadiamento patológico M</b>	M0	3,0	100,0
	Ignorado	2,0	-

Das 52 participantes, seis foram diagnosticadas com idade menor ou igual a 30 anos. Destas, três são de famílias com casamentos consanguíneos e uma não possui histórico familiar de câncer, com diagnóstico aos 27 anos (porém foi inserida no estudo em razão do diagnóstico precoce e pela pouca informação da história familiar - Tabela 9). O fenótipo predominante encontrado nos familiares de primeiro grau foi câncer de mama, porém outros tumores também fizeram parte do espectro tumoral: câncer de ovário, estômago, útero, pele, próstata, bexiga, tireóide, pâncreas, duodeno, cabeça e pescoço, pulmão, além de leucemia e linfoma. A média de idade ao diagnóstico dos familiares foi 48, 53 e 45 anos, nos familiares de primeiro, segundo e terceiro grau, respectivamente (Anexo 3 - história familiar).

**Tabela 9 - História Familiar das probandas incluídas no estudo**

ID-FC	Câncer Probando	Idade ao Diagnóstico	Lado da História Familiar	Familiar de 1º grau
FC3	Mama, Rim e tireóide	31; 39; 52	Materno	Mama (F,44), Pele (M,22)
FC8	Mama Bilateral	51; 52	Materno	Mama (F,<69)

FC19	Mama	27	Materno	Mama (F,<45; F,<45)
FC29	Ovário; Mama	42; 53	Paterno	Gástrico (M,42), Ovário (F,<60), Útero (F,57), Mama (F,?)
FC1024	Mama	48	Paterno	NR
FC1046	Mama	37	Paterno	Mama (F,47; F,49)
FC1095	Mama	43	Paterno	Mama (F,27; F,42)
FC133	Mama	46	Materno	NR
FC179	Mama	47	Paterno	Mama (F,37; F,49; F,61)
FC233	Mama	51	Materno	NR
FC241	Mama	45	Paterno	Mama (F,49)
FC256	Mama	47	Materno	NR
FC274	Mama	27	NR	NR
FC275	Ovário	60	Paterno	Próstata (M,80)
FC289	Mama	48	Materno	Mama (65)
FC306	Melanoma; Mama	26; 36	Materno	Mama (F,42), Tireóide (F,43)
FC320	Ovário	53	Materno	Ovário (F,71), Tireóide (F,29)
FC361	Mama	56	Paterno	Mama Bilateral (F,46), Mama (F,42; F,37), Bexiga (M,54)
FC426	Mama	38	Materno	Mama (F,?)
FC558	Mama	37	Materno	NR
FC563	Mama	39	Materno	Mama (F,40), Pâncreas (F,44)
FC581	Mama	46	Paterno	Mama (F,46; F,54), Cabeça e Pescoço (M,83)
FC593	Sarcoma e Mama	25; 38	Paterno	NR

FC598	Mama	25	Materno	Mama (F,39)
FC626	Mama	46	Materno	Mama (F,74)
FC633	Mama Bilateral	38; 38	Consanguíneo	Gástrico (F,29), Duodeno (M,57), Tireóide (F,49), Próstata (M,56)
FC638	Mama	42	Materno	Mama (F,49; F,50), Gástrico (F,55)
FC640	Mama	49	Materno	Mama (F,51; F,33; F,43; F,45)
FC649	Mama	38	Materno	Mama (F,64)
FC689	Mama Bilateral	47; 47	Paterno	Leucemia (F,47)
FC695	Ovário	21	Paterno	NR
FC734	Mama	37	Materno	NR
FC65	Mama	36	Materno	Mama (F,31; F,47)
FC775	Mama	34	Materno	NR
FC779	Mama	36	Materno	NR
FC80	Mama	43	Materno	Mama (F,?; F,44), skin (F,?)
FC825	Mama	44	Paterno	Mama (F,24; F,44; F,39)
FC960	Mama Bilateral	59; 70	Materno	Útero (F,45), Mama (F,34), Pulmão (M,70)
FC85	Mama	51	Materno	Mama (F,45; F,43; F,48), Leucemia (M,?)
FC981	Mama	37	Materno	NR
FC1014	Mama	42	Materno	Linfoma (M,19)
FC869	Mama, Ovário	33, 43	Materno	Mama (F,55; F,48)
FC950	Mama	59	Materno	NR
FC974	Mama	46	Materno	Mama (F,56)



FC1096	Mama	46	Consanguíneo	Pele (F,90), sítio Desconhecido (F,64)
FC1109	Mama	21	Consanguíneo	NR
FC1122	Mama	43	Materno	Mama (F,45)
FC 1140	Mama	44	Materno	Mama (F,44)
FC1151	Mama	38	Materno	Mama (F,60)
FC1176	Mama	44	Materno	Mama (F,44)
FC 1209	Mama	58	Materno	Ovário (F,59);
FC1325	Mama	55	Materno	Mama e Ovário (F,48 e 54)

NR: Não relatado (câncer). F: feminino. M: masculino.

A Tabela 10 apresenta um resumo dos principais achados da história familiar de câncer das 52 pacientes do estudo. Observa-se a presença de câncer de mama entre mãe e filha em 41,2% dos casos (câncer em qualquer idade). Quando se avalia o câncer de mama em familiares de primeiro grau antes dos 50 anos (tanto a presença de câncer de mama entre mãe e filha quanto entre irmãs), foi observado que 51% das pacientes tiveram pelo menos um caso na família. Em relação a outros fenótipos presentes nas famílias, cânceres de próstata (31,4%) e colorretal (35,3%) foram os mais incidentes. Além disso, 23,5% das pacientes possuíam pelo menos um familiar com múltiplos tumores.

**Tabela 10 - Detalhamento da História familiar das probandas incluídas no estudo**

		n (%)
Mãe com câncer de mama	Não	30 (58,8%)
	Sim	21 (41,2%)
	Ignorados	1
Presença de câncer de ovário em qualquer idade	Não	37 (72,5%)
	Sim	14 (27,5%)

	Ignorados	1
Presença de Mãe e Filha/Pares de irmãs com Câncer de mama <50anos	Não	25 (49,0%)
	Sim	26 (50,9%)*
	Ignorados	1
Presença de Mãe e Filha/Pares de irmãs com Câncer de ovário	Não	48 (94,1%)
	Sim	3 (5,8%)
	Ignorados	1
Presença de Mãe e Filha/Pares de irmãs com Câncer de mama e/ou de ovário	Não	45 (88,2%)
	Sim	6 (11,8%)
	Ignorados	1
Presença de câncer de próstata	Não	35 (68,6%)
	Sim	16 (31,4%)
	Ignorados	1
Presença de câncer de pâncreas	Não	49 (96,1%)
	Sim	2 (3,9%)
	Ignorados	1
Presença de câncer colorretal	Não	33 (64,7%)
	Sim	18 (35,3%)
	Ignorados	1
Presença de câncer de tireóide	Não	47 (92,1%)
	Sim	4 (7,8%)
	Ignorados	1
Presença de câncer gástrico	Não	44 (86,3%)
	Sim	7 (13,7%)
	Ignorados	1
Presença de câncer de endométrio	Não	49(96,0%)
	Sim	2 (3,9%)
	Ignorados	1
Presença de sarcoma	Não	46 (90,2%)
	Sim	5 (9,8%)
	Ignorados	1

Presença de câncer adrenocortical	Não	50 (98,0%)
	Sim	1 (2%)
	Ignorados	1
Presença de Câncer SNC	Não	50 (98%)
	Sim	1 (2%)
	Ignorados	1
Presença de indivíduos com múltiplos tumores	Não	39 (76,5%)
	Sim	12 (23,5%)
	Ignorados	1

SNC: sistema Nervoso Central. Negrito\*: Porcentagem da resposta sim maior que a resposta não.

### 1.17 Caracterização Molecular

O sequenciamento dos 14 genes identificou 458 variantes (Figura 6). Destas foram excluídas inicialmente: **1)** variantes com cobertura abaixo de 50X (163 variantes - por se tratarem, provavelmente, de artefatos/erros da técnica, dado que essa análise foi realizada em amostras obtidas a partir de sangue periférico e, conseqüentemente de boa qualidade com raras exceções) **2)** variantes intrônicas mais distantes do que 5 pares de bases *upstream* e *downstream* aos éxons, e aquelas localizadas em regiões UTR não codificantes (207 variantes); **3)** e variantes do tipo sinônimas não localizadas em região de *splicing* (33 variantes), restando um total de 55 variantes germinativas. Para uma análise detalhada, o Anexo 4 fornece os dados das variantes por amostra (FC).

Em relação à cobertura horizontal do painel, por ser um painel customizado, esperava-se uma cobertura de 100% de todos os genes (cobertura teórica prevista no momento do desenho do painel). Contudo, observou-se que do total de 298 amplicons desenhados e sequenciados, 23 éxons (representando 7,7%) obtiveram uma cobertura inferior à 50x em mais de 50% dos pacientes, representando, portanto, regiões não cobertas do painel customizado. Estas regiões estavam distribuídas ao longo de 13 dos 14 genes que compõem o painel (Anexo 4). Portanto, classificamos o painel utilizado nesta pesquisa como tipo C, de acordo com a Sociedade Européia de Genética Humana<sup>156</sup>, realizado em contexto de um projeto de pesquisa científica.

Para uma análise detalhada das variantes encontradas em cada paciente, o Anexo 5 fornece os dados gerados pelo painel gênico por amostra (FC).

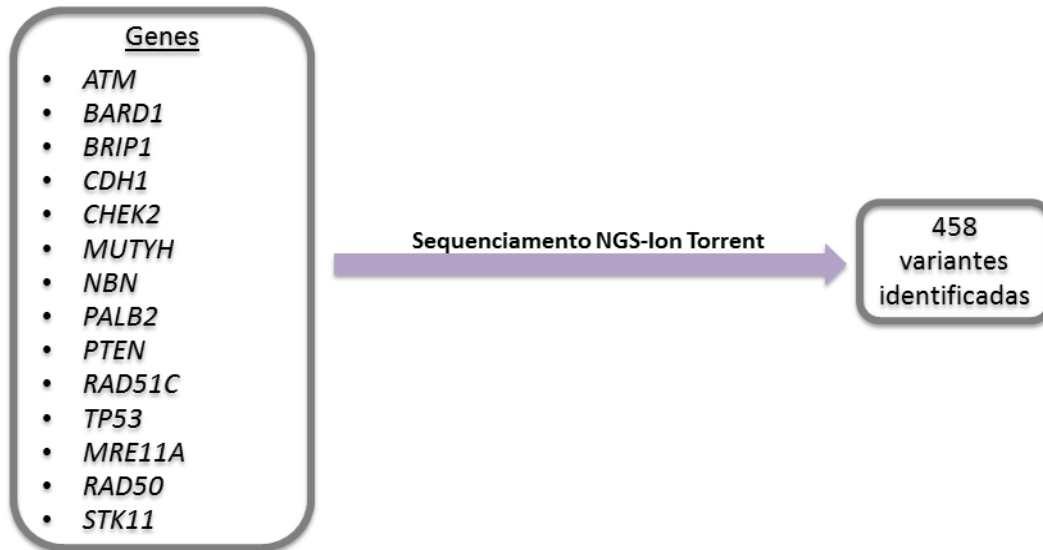


Figura 6 - Resultado do painel de 14 genes relacionados ao CMOH

Em um segundo momento, para a aplicação de filtros relacionados ao impacto biológico/clínico das variantes germinativas identificadas, as 55 variantes (que restaram após a aplicação dos filtros acima detalhados) foram avaliadas nos bancos de dados ClinVar e HGMD e também classificadas com base nos critérios de classificação de variantes desenvolvidos e preconizados pela ACMG, por meio da plataforma web Varsome (anexo 6). Concomitantemente, as variantes foram avaliadas nos programas de predição *in silico* (PolyPhen-2, MutationTaster, Align GVGD; SIFT; Panther; Revel, CADD, Human splice Finder e PROVEAN - anexo 7) e quanto à frequência populacional nos bancos gnomAD e ABraOM (anexo 8).

De acordo com o banco de dados ClinVar, 31 variantes, dentre as 55 avaliadas em detalhe, foram classificadas como benignas ou provavelmente benignas, 6 com conflito de patogenicidade (dados conflitantes entre classes 1, 2 e 3), 9 classificadas como VUS, 3 como provavelmente patogênicas e 6 variantes não foram relatadas (NR). Já no banco de dados HGMD, 9 variantes foram classificadas como benignas, 10 como VUS, 4 como variantes germinativas patogênicas e 32 não foram relatadas neste banco (NR). Pelo ACMG, 34 variantes foram classificadas como classes 1 e 2, 17 variantes germinativas classificadas como classe 3 (VUS), 1 variante como provavelmente patogênica e 3 variantes germinativas

como patogênicas. Pelos bancos de dados gnomAD e AbraOM, 7 variantes possuem uma frequência maior 5%.

Na classificação realizada pelos programas de predição *in silico* houve discordância entre os programas, o que já era de certa forma esperado, dado que cada ferramenta computacional utiliza critérios para análise diferentes. Porém observa-se, para algumas variantes, como no caso da variante germinativa c.1036C>T no gene *CHEK2*, que houve 100% de concordância nas predições de patogenicidade (9 ferramentas utilizadas). De maneira similar, na variante germinativa c.1312G>T também no gene *CHEK2* houve 77,7% de concordância (7 de 9 ferramentas utilizadas).

Após uma análise detalhada de cada uma das 55 variantes identificadas, novos filtros foram aplicados. Foram excluídas: **1)** variantes com frequência populacional maior que 5% (7 delas) baseando-se nas definições da ACMG que considera essa frequência uma evidência sólida o suficiente para classificar a variante como benigna; **2)** variantes reportadas como sendo benignas (classe 1) ou provavelmente benignas (classe 2) por todos os depositantes do ClinVar (24 delas); **3)** variantes classificadas como benignas (classe 1) e provavelmente benignas (classe 2) pela classificação ACMG (gerada pelo Varsome) e descritas no ClinVar como “NR (não relatadas)” ou “dados conflitantes” sendo que a maioria conflitantes entre classes 1 e 2 (3 delas).

No total, 21 variantes foram selecionadas para serem confirmadas por uma segunda metodologia (sequenciamento por Sanger).

### **1.18 Confirmação das variantes selecionadas pelo Método de Sanger**

Para cada uma das 21 variantes selecionadas foram desenhados *primers* específicos para que elas fossem validadas por uma segunda metodologia (sequenciamento convencional - Sanger). Cinco variantes não foram confirmadas e, portanto, excluídas: a variante c.185G>C no gene *BARD*, a variante c.1396delA no gene *NBN*, a variante c.3440deA no gene *BRIP1*, a variante c.715G>A no gene *CHEK2* e a variante c.102T>G no gene *MRE11A*. As 16 variantes restantes foram confirmadas pelo sequenciamento bi-direcional. O fluxograma abaixo (Figura 7) detalha as informações dos filtros aplicados para exclusão de variantes germinativas geradas pelo painel gênico.

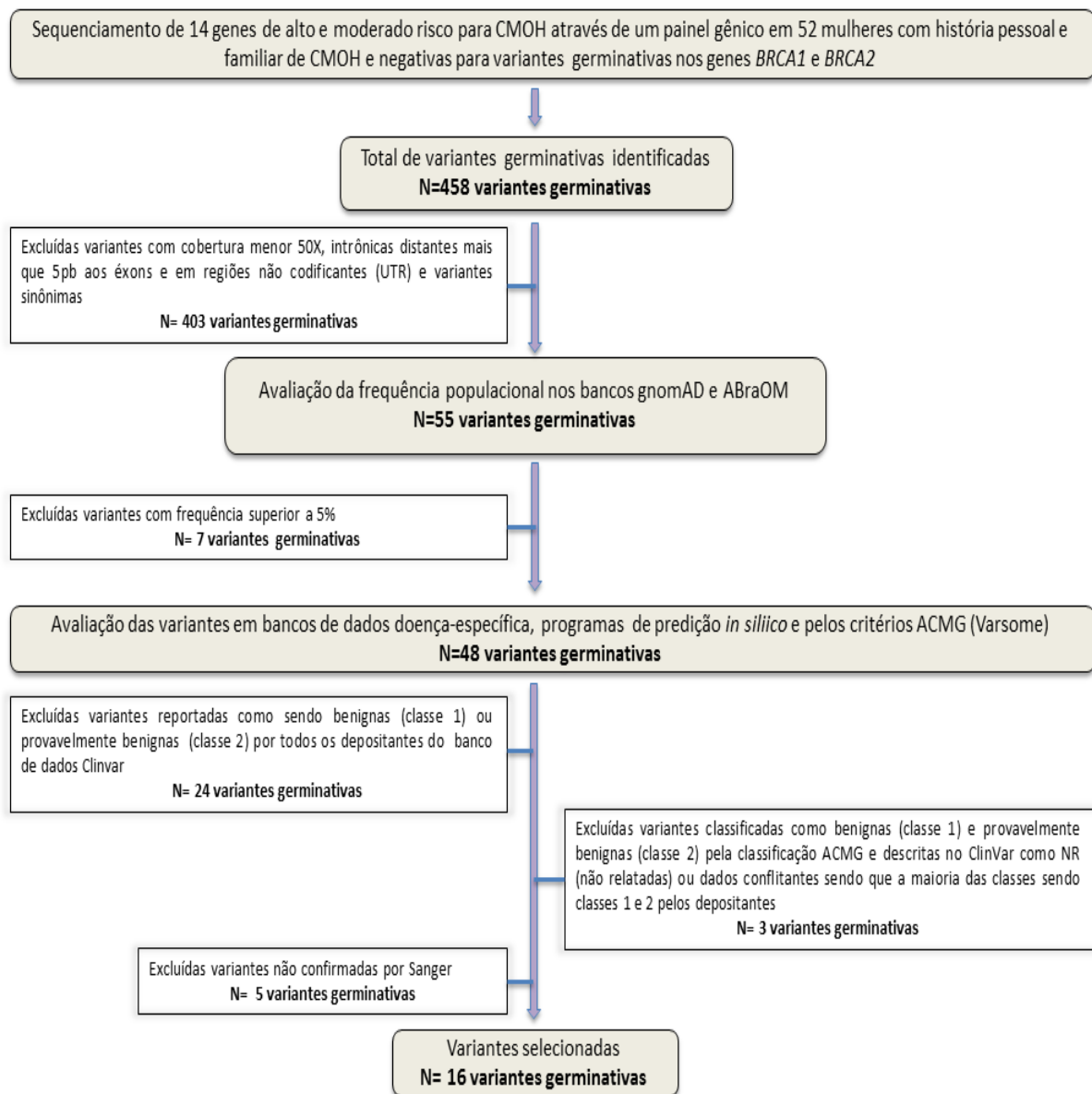


Figura 7- Resultados Painel – Fluxograma dos filtros para exclusão das variantes germinativas identificadas.

### 1.19 Variantes germinativas patogênicas e do tipo VUS do painel gênico

Das 16 variantes resultantes do painel, duas foram consideradas classe 5 (patogênicas) pelo ACMG (Varsome) e classe 4 (provavelmente patogênicas) pelo ClinVar, consideradas portanto variantes germinativas patogênicas e gerando uma frequência de mutação (das 52 mulheres) de **3,8%** (2 mulheres- ver tabela 11). Destas, uma do tipo “INDEL” e uma “SNV em sítio de *splicing*”: **c.1147delC no gene *MUTYH* (em heterozigose), e c.315-2A>G no gene *MRE11A* respectivamente.**

Foram consideradas VUS todas aquelas classificadas pelo ClinVar (por todos os depositantes) ou pela ACMG como classe 3, sendo encontradas 13 variantes em 11 mulheres (25%). A tabela 11 contém todas as informações das 16 variantes germinativas resultantes do painel gênico e que foram selecionadas após a aplicação de todos os filtros. Cabe destacar, que analisando isoladamente cada ferramenta computacional, observa-se que o programa de predição *in silico* CADD, classificou 10 (dentre as 16) variantes como supostamente danosas com valores iguais ou maiores que 15. Duas variantes foram classificadas como classe C65 (danosa) pelo AlignGVGD e uma variante classificada como danosa pelo REVEL. Cabe destacar, que para algumas variantes não houve concordância entre as ferramentas utilizadas, porque nem todas as ferramentas analisam todos os genes do painel (exemplo AlignGVGD), e, mesmo aquelas que, em teoria, analisam o gene, para algumas variantes específicas não há predição.

Cabe destacar que a variante c.1010T>C no gene *PALB2* também foi selecionada e confirmada por sanger por ter se encaixado nos critérios descritos anteriormente pois mesmo sendo classificada como classe 2 pela ACMG, foi descrita no ClinVar como dados conflitantes (classes 1, 2 e 3) porém não sendo a maioria classes 1 e 2. Desta forma, mesmo com suposta benignidade, por se enquadrar em nossos critérios, foi confirmada neste estudo por sanger.

Tabela 11 - Descrição das 16 variantes do painel Gênico ION Torrent

Identificação da variante				Classificação de patogenicidade (classes 1 a 5)					Frequência Pop		Predições <i>in silico</i>								
Variante Germinativa				ACMG e bancos de Dados doença-específico					Frequência em %		Simulações Computacionais de patogenicidade								
Gene	FC	cDNA	Proteína	ACMG	Evidências ACMG	Tipo de Mutação	ClinVar	HGMD	ABraOM	gnomAD	AlignGVGD	PANTHER	H. S. Finder	SIFT	PolyPhen	Mut.Tast	PROVEAN	CADD	REVEL
<b>ATM</b>	85	c.1810C>T	p.Pro604ser	VUS	BP1	Missense	D.C (classes 1-2-3)	Patog	1%	0%	C0	.	Afeta S.	Tolera da	Possi. Dan	Danosa	Neutra	24.3	0.415
<b>ATM</b>	133	c.4709T>C	p.Val1570Ala	Prov. Benig	BP1, BP6	Missense	D.C (classes 2-3)	VUS	0%	0%	C0	.	S.A	Tolera da	Benigna	Polimor.	Neutra	8.67	0.152
<b>ATM</b>	1046	c.9086G>A	p.Gly3029Asp	VUS	PM1, BP1	Missense	VUS	NR	NR	0%	C65	.	Afeta S.	Danosa	Benigna	Danosa	Neutra	15.8	0.230
<b>BRIP1</b>	306	c.316C>T	p.Arg106Cys	Prov. Benig	BP1, BP4	Missense	VUS	NR	NR	0%	.	Benigna	Afeta S.	Tolera da	Benigna	Polimor.	Neutra	22.5	0.067
<b>CHEK2</b>	1095	c.1036C>T	p.Arg346Cys	VUS	PM2, PP3	Missense	VUS	NR	NR	0%	C65	Prov. Dan	Afeta S.	Danosa	Prov. Dan	Danosa	Deletéria	33	0.780
<b>CHEK2</b>	1209	c.1312G>T	p.Asp438Tyr	VUS	PM2, PP3	Missense	D.C (classes 2-3)	VUS	NR	0%	C25	Possi. Dan	Afeta S.	Danosa	Prov. Dan	Danosa	Deletéria	33	0.337
<b>MRE11A</b>	1209	c.315-2A>G	.	Patogênica	PVS1, PP3, PP5	SpliceAcceptor	Prov. Patog	NR	NR	NR	Sem pred	NR	Afeta S.	.	.	.	.	.	.
<b>MRE11A</b>	133	c.482A>G	p.Lys161Arg	VUS	BP1	Missense	VUS	NR	NR	1%	C0	Prov. Dan	Afeta S.	Tolera da	Benigna	Danosa	Neutra	12.8	0.342
<b>MUTYH</b>	974	c.1147delC	p.Ala385fs	Patogênica	PVS1, PM2, PP3, PP5	Frameshift	Prov. Patog	Patog	NR	0%	.	NR	Afeta S.	.	.	.	.	.	.
<b>MUTYH</b>	755	c.1267C>T	p.Arg423Cys	VUS	NR	Missense	D.C (classes 2-3)	Patog	NR	0%	.	NR	.	Danosa	Prov. Dan	Polimor.	Neutra	22.9	0.615
<b>PALB2</b>	85	c.1001A>G	p.Tyr334Cys	Prov. Benig	BP1, BP4, BP6	Missense	VUS	NR	NR	0%	C0	Benigna	Afeta S.	Tolera da	Benigna	Polimor.	Deletéria	0.06	0.014
<b>PALB2</b>	1176, 1325	c.1010T>C	p.Leu337Ser	Prov. Benig	BP1, BP4, BP6	Missense	D.C (classes 1-2-3)	VUS	1%	1%	C0	Prov. Benig	Afeta S.	Tolera da	Benigna	Polimor.	Neutra	5.27	0.041



<b>RAD50</b>	869	c.1397A>C	p.Gln466Pro	VUS	BP1	Missense	NR	NR	NR	0%	C25	Prov. Dan	S.A	Danosa	Benigna	Danosa	Neutra	19.6	0.131
<b>RAD50</b>	274	c.281T>C	p.Ile94Thr	VUS	BP1	Missense	VUS	NR	NR	0%	C25	Benigna	S.A	Tolera da	Benigna	Danosa	Deletéria	20.9	0.153
<b>RAD51C</b>	640	c.1009G>T	p.Val337Leu	VUS	PM1, PM2, PP3	Missense	NR	NR	NR	NR	.	NR	S.A	Tolera da	Benigna	Danosa	Neutra	22.5	0.190
<b>RAD51C</b>	598	c.244C>T	p.His82Tyr	VUS	PM2, BP4	Missense	VUS	NR	NR	NR	.	Prov. Benig	S.A	Tolera da	Benigna	Polimor.	Neutra	4.63	0.033

**Prov. Benig** : Provavelmete Benigno / **VUS**: variante de significado clínico desconhecido / **D.C**: Dados Conflitantes / **Prov. Dan**: Provavelmete Danosa / **Afeta S.**: Afeta Slicing / **Sem pred**: Sem predição / **S.A**: Sem alteração / **Polimor**: Polimorfismo / **Patog**: Patogênica / **Prov. Pat**: Provavelmete Patogênica / **Possi. Dan**: Possivelmente Danosa./ **PVS1**: Variante nula (nonsense, desvio de quadro, canônico +/- 1 ou 2 locais de junção, códon de iniciação, deleção simples ou multi-exon) em um gene onde a perda de função (LOF) é um mecanismo conhecido da doença. / **PM1**: Localizado em um “hot spot mutacional” e, ou uma localização crítica e bem estabelecida como sendo no domínio funcional. / **PM2**: Ausente nos controles (ou com frequência extremamente baixa se recessivo) ou frequência baixa nos bancos de dados disponíveis. / **PP3**: Evidências computacionais suportam um efeito deletério sobre o gene ou produto gênico (conservação, evolução, impacto de splicing, etc). / **PP5**: Fonte confiável recentemente relata variante como patogênica, mas a evidência não está disponível para realizar uma avaliação independente. / **BP1**: Para genes nos quais variantes truncadas são o único mecanismo conhecido de patogenicidade e variantes missense podem ser consideradas evidências de apoio para um impacto benigno. / **BP4**: Evidências computacionais sugerem nenhum impacto no gene ou produto do gene (conservação, impacto evolutivo, splicing, etc) **BP6**: Fonte confiável recentemente relata a variante como benigna, mas a evidência não está disponível para realizar uma avaliação independente.

## 1.20 Caracterização das pacientes com as 16 variantes germinativas selecionadas

No “*heatmap*” (figura 8) pode-se observar as pacientes que possuem as 16 variantes identificadas no painel gênico, como também a história pessoal de câncer, a idade ao diagnóstico e o tipo da variante germinativa encontrada.

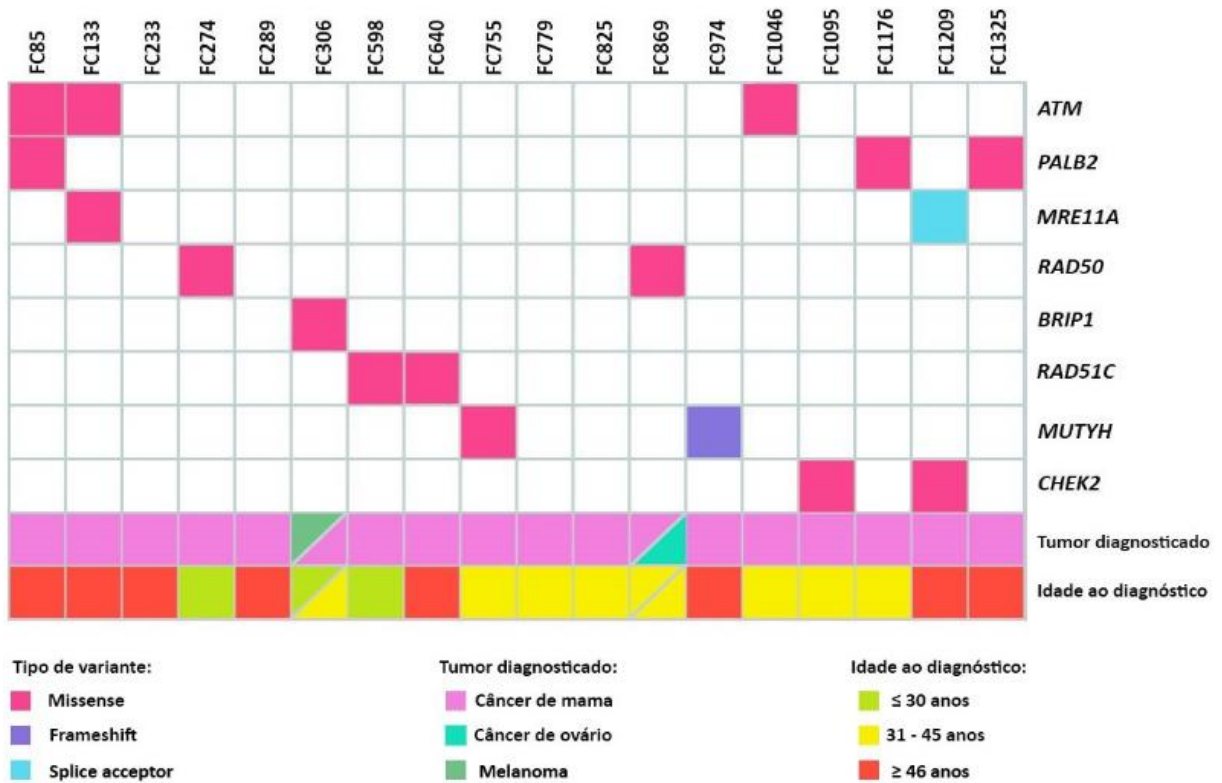


Figura 8 - Caracterização das pacientes com as 16 variantes germinativas selecionadas

Em relação à história pessoal de câncer das probandas, a idade ao diagnóstico mais tardia foi da FC 1209, aos 58 anos. Observa-se na figura acima (Figura 8), três pacientes com diagnóstico de câncer antes dos 30 anos, 5 pacientes com diagnóstico de câncer entre 31 e 45 anos e 6 pacientes com diagnóstico de câncer acima de 45 anos. Duas pacientes, FC 306 (presença da variante no gene *BRIP1*, c.316C>T) e FC 869 (presença da variante no gene *RAD50* c.1397A>C), tiveram dois tumores primários: melanoma e mama, e mama e ovário respectivamente. As FCs com as variantes: germinativa patogênicas (tipo *Frameshift*: FC 974 variante em heterozigose no gene *MUTYH* c.1147delC, p.Ala385fs e do tipo “*Splice Acceptor*”: FC 1209 variante no gene *MRE11A*, c.315-2A>G) tiveram tumores de mama unilateral.

### 1.21 Variantes selecionadas para realização da segregação Familiar pela classificação ACMG

As diretrizes do Colégio Americano de Genética Médica e Genômica (ACMG), Associação de Patologia Molecular (AMP) e Colégio Americano de Patologia (CAP) avaliam diversos fatores associados às variantes: frequência populacional, predições *in silico*, dados funcionais, dados de segregação, localização, entre outros; gerando uma classificação final entre 5 classes (1-benigna, 2-provavelmente benigna, 3-VUS, 4-provavelmente patogênica e 5-patogênica), já utilizadas mundialmente.

A escolha das variantes para a etapa de segregação foi baseada na análise detalhada das evidências dadas pela classificação da ACMG e pelo banco de dados doença-específico ClinVar dentre aquelas classificadas como VUS (que ainda não possuem um consenso de sua patogenicidade). Apenas 5 famílias puderam comparecer no período do estudo junto aos seus familiares (duas variantes em uma mesma mulher: 6 variantes) para se realizar a análise de segregação familiar. A variante c.4709C>T no gene *ATM* (classe 2 pela ACMG e dados conflitantes pelo ClinVar) foi incluída na análise de segregação por estar presente na mesma paciente (FC 133) que já havia sido selecionada por outra variante no gene *MRE11A*, portanto investigamos duas variantes em uma mesma família. Na tabela 12 encontram-se as descrições das 6 variantes germinativas das 5 famílias participantes do estudo de segregação familiar.

**Tabela 12 - Variantes selecionadas para segregação familiar**

Gene	FC	Tipo de Mutação	cDNA	Proteína	Clinical Insight ACMG	Crítérios-evidências ACMG	Classificação do ClinVar
<i>RAD51C</i>	640	Missense	c.1009G>T	p.Val337Leu	VUS	PM1, PM2, PP3	NR
<i>CHEK2</i>	1095	Missense	c.1036C>T	p.Arg346Cys	VUS	PM2, PP3	VUS
<i>BRIP1</i>	306	Missense	c.316C>T	p.Arg106Cys	*Prova Benig	BP1, BP4	VUS
<i>ATM</i>	133	Missense	c.4709T>C	p.Val1570Ala	*Prova Benig	BP1, BP6	*Dados Confli (cl 2-3)
<i>MRE11A</i>	133	Missense	c.482A>G	p.Lys161Arg	VUS	BP1	VUS
<i>ATM</i>	1046	Missense	c.9086G>A	p.Gly3029Asp	VUS	PM1, BP1	VUS

\*Prov Benig: Benigna \*Dados Confli (cl 2-3): Dados Conflitantes classes 2 e 3

Na tabela 13 encontram-se as descrições detalhadas dos códigos das evidências descritas acima das 6 variantes selecionadas para segregação. Verifica-se que as evidências de benignidade destas variantes foram todas classificadas como suporte e nenhuma apresentou evidência moderada, forte ou muito forte de benignidade. Sendo, portanto, critérios menos influentes de benignidade, sendo eles relacionados: *i*) como o espectro da variante (BP1), *ii*) relacionados aos programas de predição *in silico* (BP4), e *iii*) relacionados a uma fonte confiável que relatou benignidade mas ainda não está disponível (BP6). Portanto, ainda não existem evidências claras em relação à benignidade destas variantes.

**Tabela 13 - Critérios ACMG- Descrição dos códigos das evidências das 6 variantes selecionadas para segregação**

	<b>Critério ACMG de patogenicidade</b>	<b>Critério ACMG de benignidade</b>
<b>Evidência muito forte</b>	-	-
<b>Evidência forte</b>	-	-
<b>Evidência moderada</b>	<b>PM1, PM2</b>	-
<b>Evidência suporte</b>	<b>PP2, PP3</b>	<b>BP1, BP4, BP6</b>

**Evidência moderada de patogenicidade:** Critério relacionado a localização da variante: **PM1:** Localizado em um “hot spot mutacional” e / ou uma localização crítica e bem estabelecida como sendo no domínio funcional. **Critério relacionado a frequência da variante: PM2:** Ausente nos controles (ou com frequência extremamente baixa se recessivo) ou frequência baixa nos bancos de dados disponíveis **./Evidência de apoio de patogenicidade:** Critério relacionado as predições *in silico*: **PP3:** Evidências computacionais suportam um efeito deletério sobre o gene ou produto gênico (conservação, evolução, impacto de splicing, etc). **./Evidência de apoio do impacto benigno:** Critério relacionado ao espectro da variante **BP1:** Para genes nos quais variantes truncadas são o único mecanismo conhecido de patogenicidade e variantes missense podem ser consideradas evidências de apoio para um impacto benigno. **Critério relacionado as predições *in silico*: BP4:** Evidências

computacionais sugerem nenhum impacto no gene ou produto do gene (conservação, impacto evolutivo, splicing, etc) **BPG**: **Critério relacionado a uma fonte confiável**: Fonte confiável recentemente relata a variante como benigna, mas a evidência não está disponível para realizar uma avaliação independente.

Os familiares das cinco pacientes foram convidados a participar do estudo e agendados no Departamento de Oncogenética, ressaltando-se que todos os familiares interessados em participar do estudo foram convidados e não foi estipulado um número limite de participantes (familiares com e sem câncer de todas as idades). Desta maneira, tivemos uma família (da FC 133) na qual não foi possível investigar um familiar com câncer, visto que todos os familiares que se propuseram a participar do estudo (cinco) são indivíduos sem história de câncer (ver heredograma nº5- figura 19 ). Adicionalmente, as 5 pacientes participantes do estudo já receberam o resultado da pesquisa em consulta com o médico geneticista. Os familiares foram recepcionados também em consulta com o médico geneticista e no futuro serão acompanhados pelo departamento de Oncogenética do HCB.

#### 6.6.1 Resultados - Segregação Familiar

Na tabela 14 observa-se a descrição dos familiares inseridos no estudo de segregação das variantes de significado clínico desconhecido (VUS). Os familiares que possuem a variante foram chamados de portadores e aqueles que não possuem a variante testada foram chamados de não portadores. Ressaltamos a dificuldade de testar indivíduos com câncer pelas próprias condições de saúde do indivíduo e dificuldade de viajar longas distâncias.

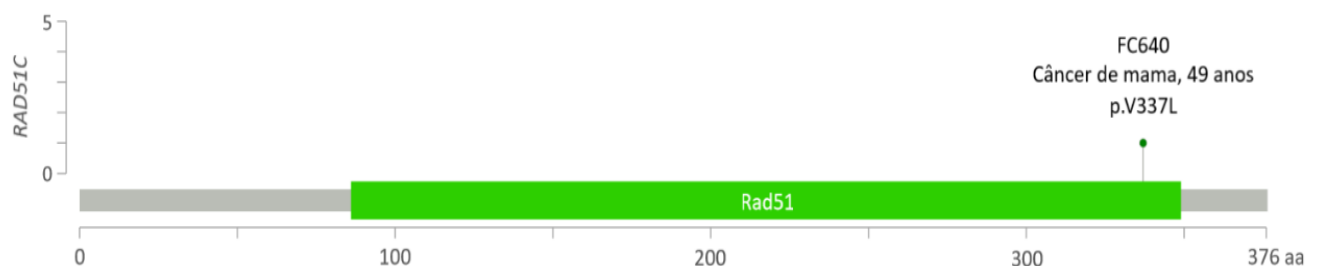
**Tabela 14 - Familiares inseridos no estudo de segregação Familiar**

ID-FC	VUS	Familiares nº Total	Segregação			
			Indivíduos sem câncer		Indivíduos com câncer	
			Portador nº / Não portador nº		Portador nº / Não portador nº	
FC 640	c.1009G>T (RAD51C)	10	5	4	0	1

FC 1046	c.9086G>A (ATM)	7	1	5	0	1
FC 1095	c.1036C>T (CHEK2)	5	2	2	0	1
FC 306	c.316C>T (BRIP1)	3	0	2	1	0
FC 133	c.482A>G (MRE11A)	5	2	3	0	0
FC 133	c.4709T>C (ATM)	5	2	3	0	0

### 1.21.1.1 Segregação FC 640 – variante c.1009G>T no gene *RAD51C*

A figura 9 demonstra a localização da variante de significado clínico desconhecido (VUS) no gene *RAD51*, selecionada para realização da segregação familiar.



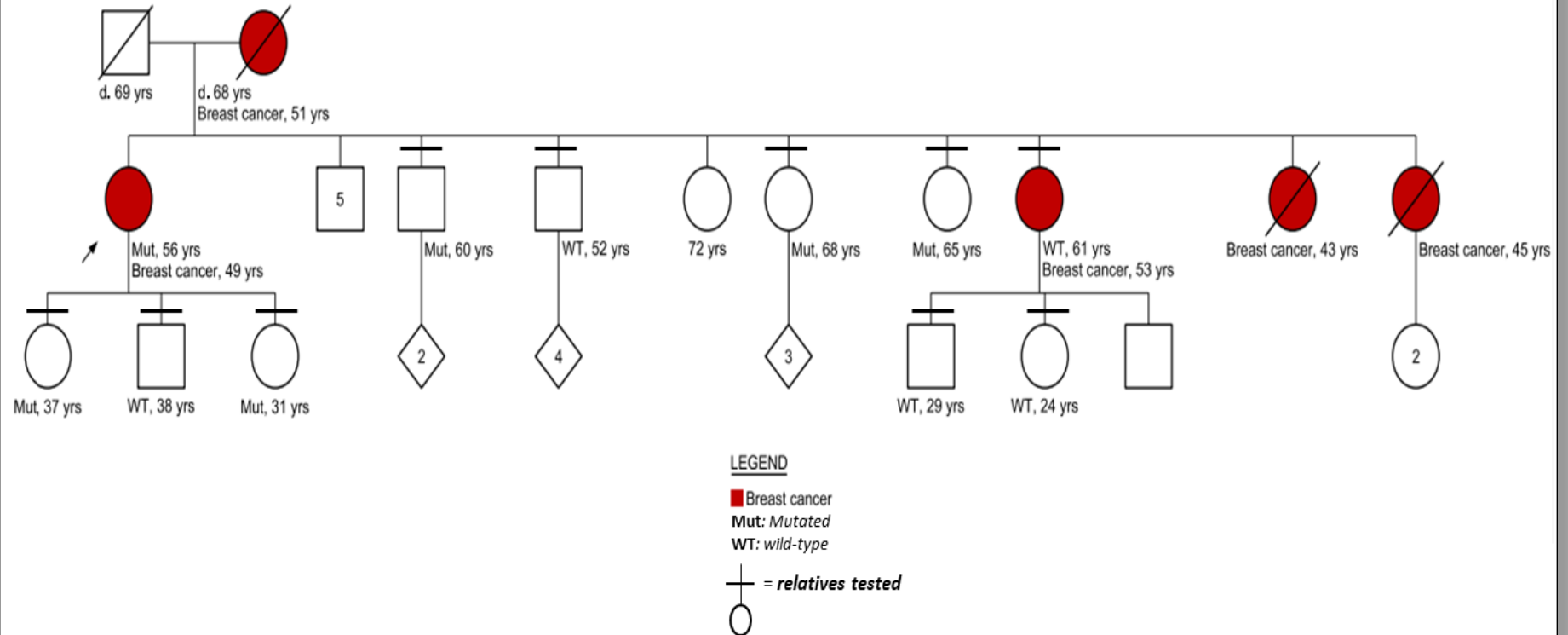
**Rad51:** *Rad51 Domain* (Esse domínio "faz ligação" com o RAD51, já que o *RAD51C* é um parálogo do *RAD51*)

Figura 9 - Localização da variante p. V337L (c.1009G>T) do gene *RAD51C*

Na família da FC 640 foram testados 10 familiares, sendo que apenas um deles (irmã) apresentava histórico de câncer (câncer de mama, diagnosticado aos 53 anos) (Figura 10). O resultado demonstra uma provável ausência de associação da variante estudada com os casos de câncer, ou seja, neste contexto familiar, com apenas um familiar com câncer testado, a variante c.1009G>T no gene *RAD51C* não demonstra estar segregada com a história familiar de câncer nesta família. Observamos o resultado de não-associação pelos irmãos (2) e irmãs (3) testados. Dentre os 5 irmãos, 3 irmãos sem câncer foram positivos para a presença variante e com idades superiores (60, 65 e 68 anos) à da irmã testada negativa para a variante que teve câncer de mama aos 53 anos (hoje tem 61 anos). Pode-se observar

também que a variante germinativa está segregando nas gerações, e que dos três filhos testados da FC 640 as duas filhas mulheres possuem a mesma variante da mãe. O detalhamento da história da família encontra-se no heredograma nº1 (Figura 10).

### HEREDOGRAMA Nº 1: FC 640



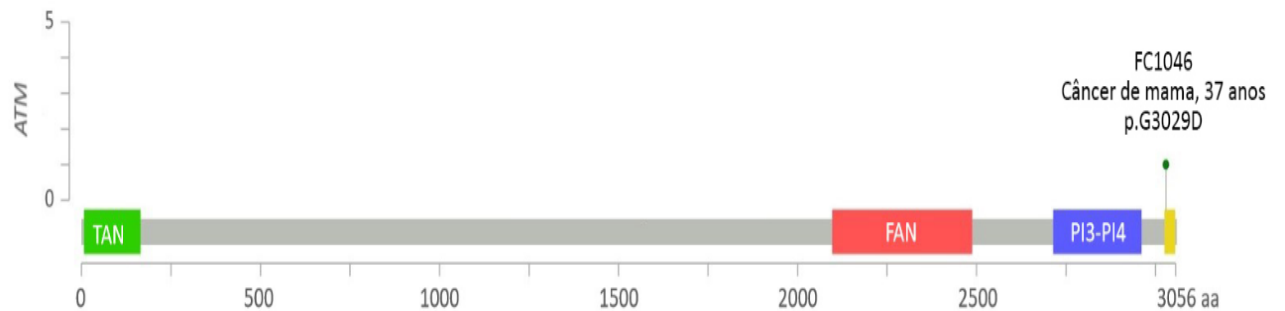
HEREDOGRAMA FC 640 / Mut: mutado/ Wild-Type: tipo selvagem, sem mutação  
 Segregação Familiar da variante germline de Significado Clínico Desconhecido (VUS) c.1009G>T (p.Val337Leu) no gene *RAD51C*

Figura 10 - Heredograma FC 640



### 1.21.1.2 Segregação FC 1046 – variante c.9086G>A no gene *ATM*

A figura 11 demonstra a localização da variante de significado clínico desconhecido (VUS) c.9086G>A no gene *ATM* selecionada para realização da segregação familiar.

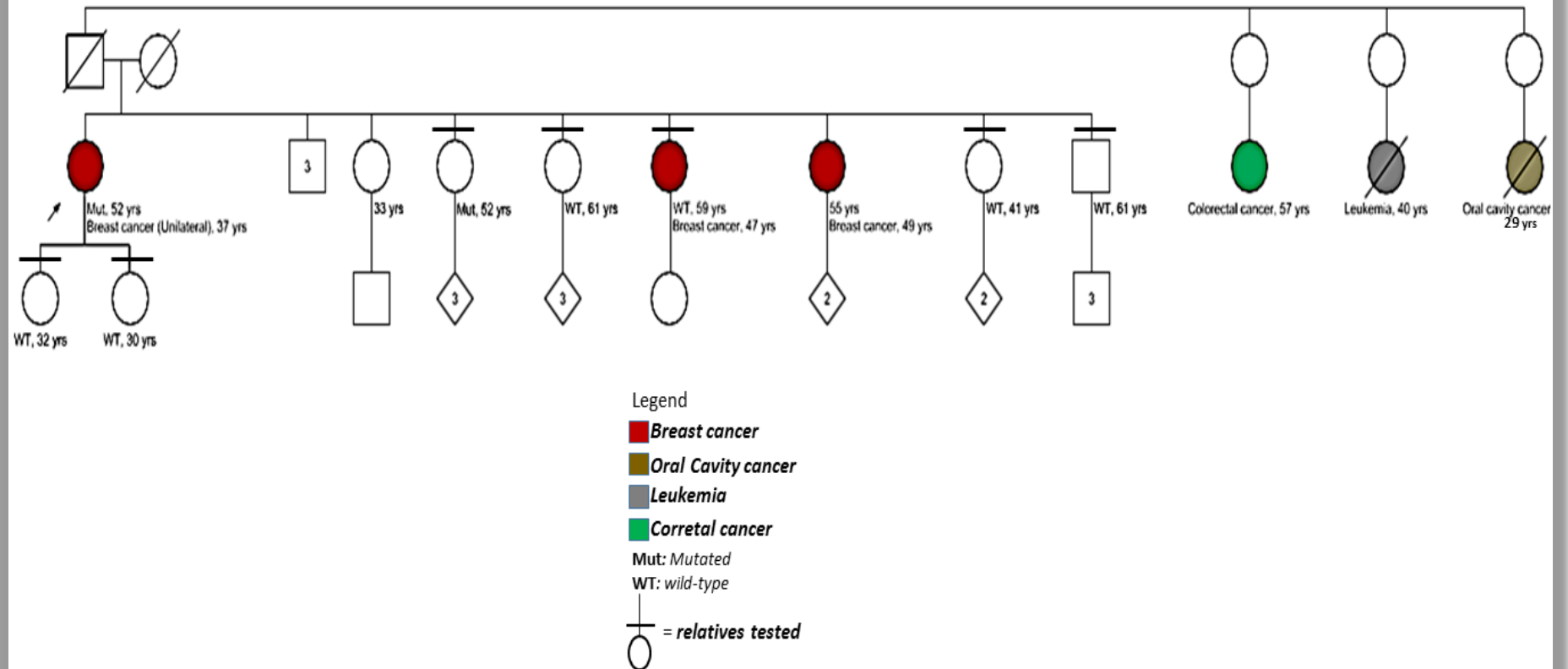


**TAN:** *Telomere-length maintenance and DNA damage repair* / **FAN:** *Protein Family FAM60A* / **PI3:** *phosphatidylinositol 3-kinase* / **PI4:** *phosphatidylinositol 4-kinase*

Figura 11 - Localização da variante p.G3029D (c.9086G>A) do gene *ATM*

Na família da FC 1046 foram testados 7 familiares, sendo que apenas um deles (irmã) apresentava histórico de câncer (câncer de mama aos 47 anos) (Figura 12). A variante c.9086G>A no gene *ATM* não demonstra estar segregada com a história familiar de câncer nesta família. Essa interpretação deriva da análise do resultado dos irmãos testados. Dentre os 5 irmãos e irmãs, 4 tiveram resultado negativo para a variante, incluindo a única irmã que teve câncer (não podemos descartar a possibilidade desta irmã ser uma fenocópia). Além disso, uma das irmãs testada é positiva para a presença da variante e aos 61 anos não tem nenhum histórico de câncer. Os dois filhos da paciente não possuem a variante germinativa no gene *ATM*. O detalhamento da história da família encontra-se no heredograma nº2 (Figura 12).

## HEREDOGRAMA Nº 2: FC 1046



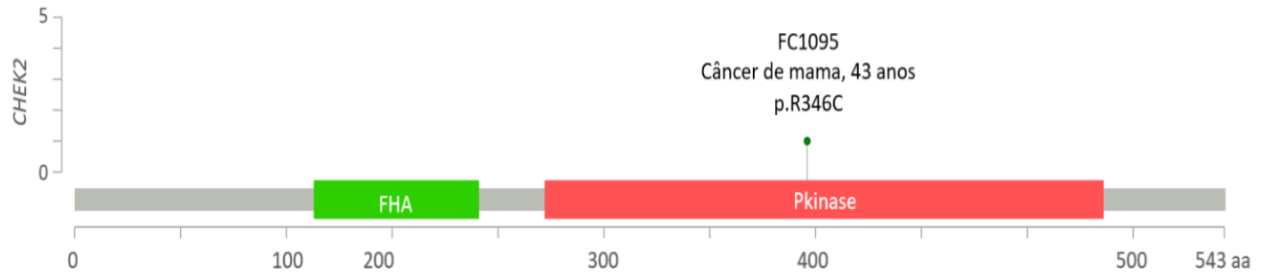
HEREDOGRAMA FC 1046 / Mut: mutado/ Wild-Type: tipo selvagem, sem mutação

Segregação Familiar da variante germinativa de Significado Clínico Desconhecido (VUS) c.9086G>A (p.Gly3029Asp) no gene ATM

Figura 12 - Heredograma nº2 - FC 1046

### 1.21.1.3 Segregação FC 1095 - variante c.1036C>T no gene *CHEK2*

A figura 13 demonstra a localização da variante de significado clínico desconhecido (VUS) c.1036C>T no gene *CHEK2* selecionada para realização da segregação familiar.



**FHA:** *Fumarylacetoacetate hydrolase C-terminal domain* / **Pkinase:** *Protein kinase domain*

Figura 13. Localização da variante p.R346C (c.1036C>T) do gene *CHEK2*

Na família da FC 1095 foram testados 5 familiares e o resultado da segregação não demonstrou associação com a presença da variante e os casos de câncer neste contexto familiar. Apesar de apenas um familiar com câncer testado (que também pode ser uma fenocópia presente na família), os dados de segregação sugerem que a variante c.1036C>T no gene *CHEK2* não esteja segregando com a história familiar de câncer nesta família. Pode-se observar o resultado pelos irmãos (2) e irmãs (2) testadas. Dos 3 irmãos sem câncer, 2 (um irmão com 44 anos e o outro com 26) apresentaram resultado positivo para a variante germinativa, e a única irmã com câncer de mama aos 42 anos não possui a variante germinativa. Constata-se também que a variante germinativa possivelmente foi herdada do pai da FC 1095, pois a mãe foi testada com resultado negativo. Idealmente deveríamos também testar os familiares com câncer do lado paterno para que mais informações a respeito do padrão de segregação seja estabelecido. O detalhamento da história da família encontra-se no heredograma nº3 (Figura 14).

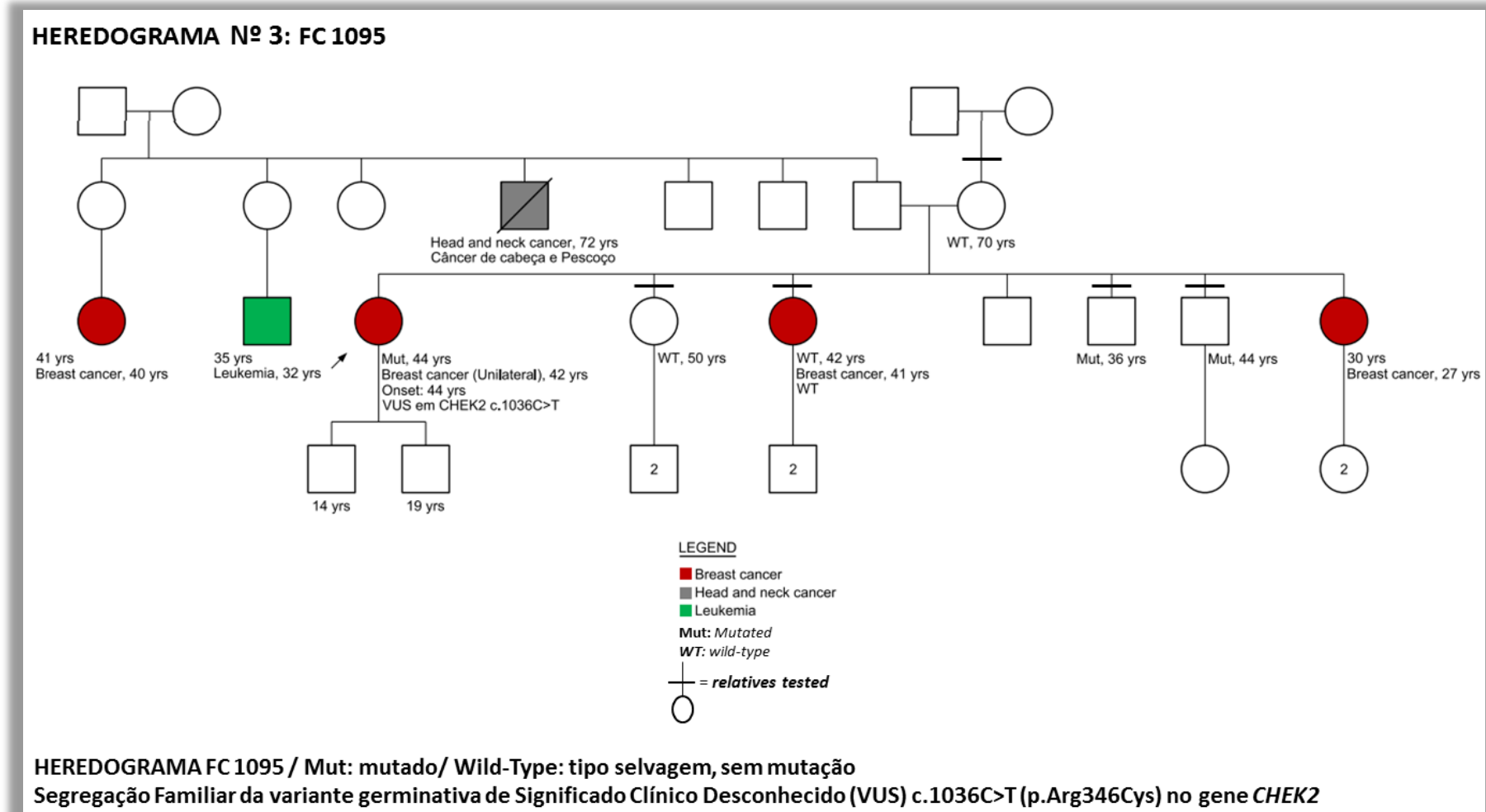
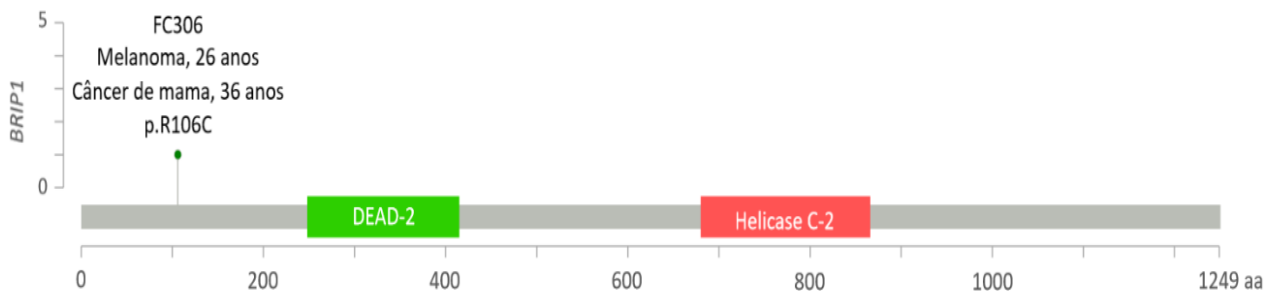


Figura 14 - Heredograma nº3 - FC 1095

#### 1.21.1.4 Segregação FC 306 - variante c.316C>T no gene *BRIP1*

A figura 15 demonstra a localização da variante de significado clínico desconhecido (VUS) c.316C>T no gene *BRIP1* selecionada para realização da segregação familiar.

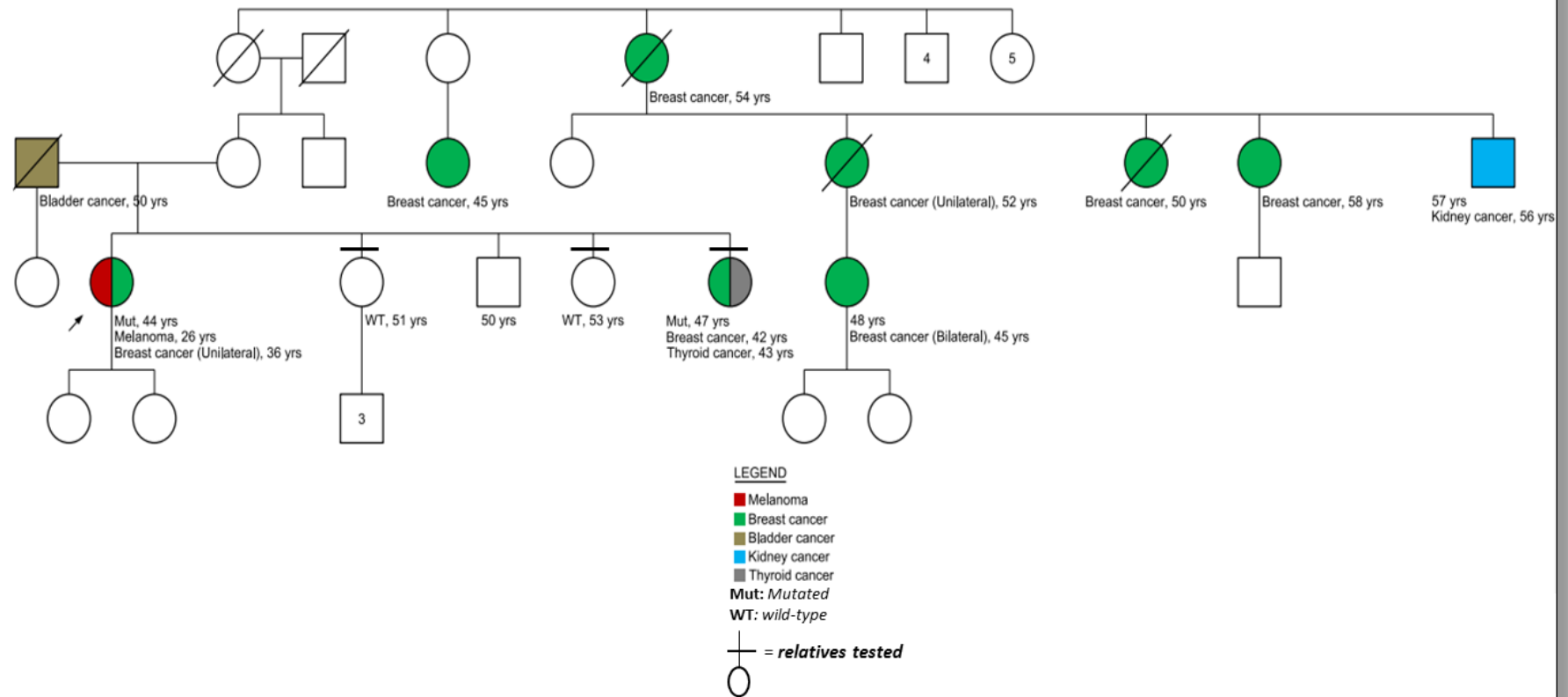


**DEAD-2:** DEAD-2 domain (conserved region) / **Helicase C-2:** Helicase C-terminal domain

Figura 15 - Localização da variante p.R106C (c.316C>T) do gene *BRIP1*

Na família da FC 306 foram testados 3 familiares, sendo que apenas um deles (irmã) apresentava histórico de câncer (Figura 16). O resultado foi positivo para a investigação da variante c.316C>T no gene *BRIP1* que aparentemente segrega com a doença (câncer). No entanto são necessários mais familiares com idades específicas para ser possível realizar uma análise mais aprofundada. Pode-se observar que dos três irmãos testados apenas a irmã que teve dois tumores primários (câncer de mama aos 42 anos e de tireóide aos 43 anos) possui a variante de significado clínico desconhecido (VUS). Cabe ressaltar que a probanda (FC 306) também apresentou dois tumores primários em idade jovem, sendo o primeiro aos 26 anos (melanoma). Além disto, as duas irmãs sem câncer e com resultados negativos para a variante testada, possuem idade superior à probanda e a outra irmã com resultado positivo, contribuindo para avaliação do fator tempo, uma vez que a idade avançada aumenta a chance de desenvolver câncer por aumentar o tempo de exposição a fatores ambientais e não hereditários. Adicionalmente, das pacientes selecionadas para segregação, esta família apresentou um maior número de tumores de mama antes dos 55 anos (7 tumores). O detalhamento da história da família encontra-se no heredograma nº4 (Figura 16).

### HEREDOGRAMA Nº 4: FC 306



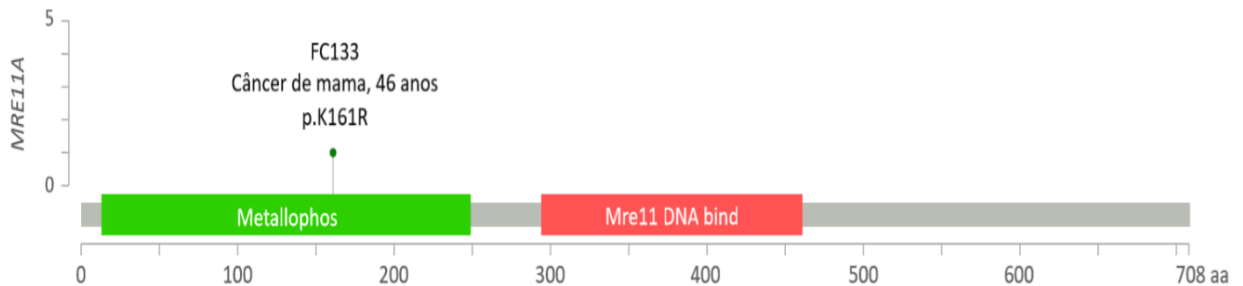
HEREDOGRAMA FC 306 / Mut: mutado/ Wild-Type: tipo selvagem, sem mutação

Segregação Familiar da variante germinativa de Significado Clínico Desconhecido (VUS) c.316C>T (p.Arg106Cys) no gene *Brip1*

Figura 16 - Heredograma nº4 - FC 306

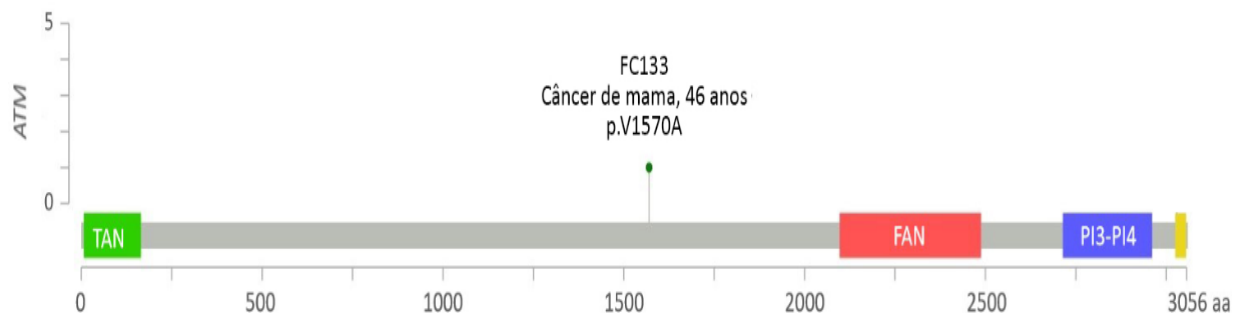
### 6.6.1.5 Segregação FC 133 - variante c.482A>G no gene *MRE11A* e a variante c.4709T>C no gene *ATM*

As figuras 17 e 18 demonstram a localização das variantes de significado clínico desconhecidos (VUS) nos genes *MRE11A* e *ATM* identificadas na paciente FC 133 selecionadas para realização da segregação familiar.



**Metallophos:** *Calcineurin-like phosphoesterase* / **Mre11a DNA bind:** *Mre11 DNA-binding presumed domain*

Figura 17 - Localização da variante p.K161R (c.482A>G) do gene *MRE11A*



**TAN:** *Telomere-length maintenance and DNA damage repair* / **FAN:** *Protein Family FAM60A* / **PI3:** *phosphatidylinositol 3-kinase* / **PI4:** *phosphatidylinositol 4-kinase*

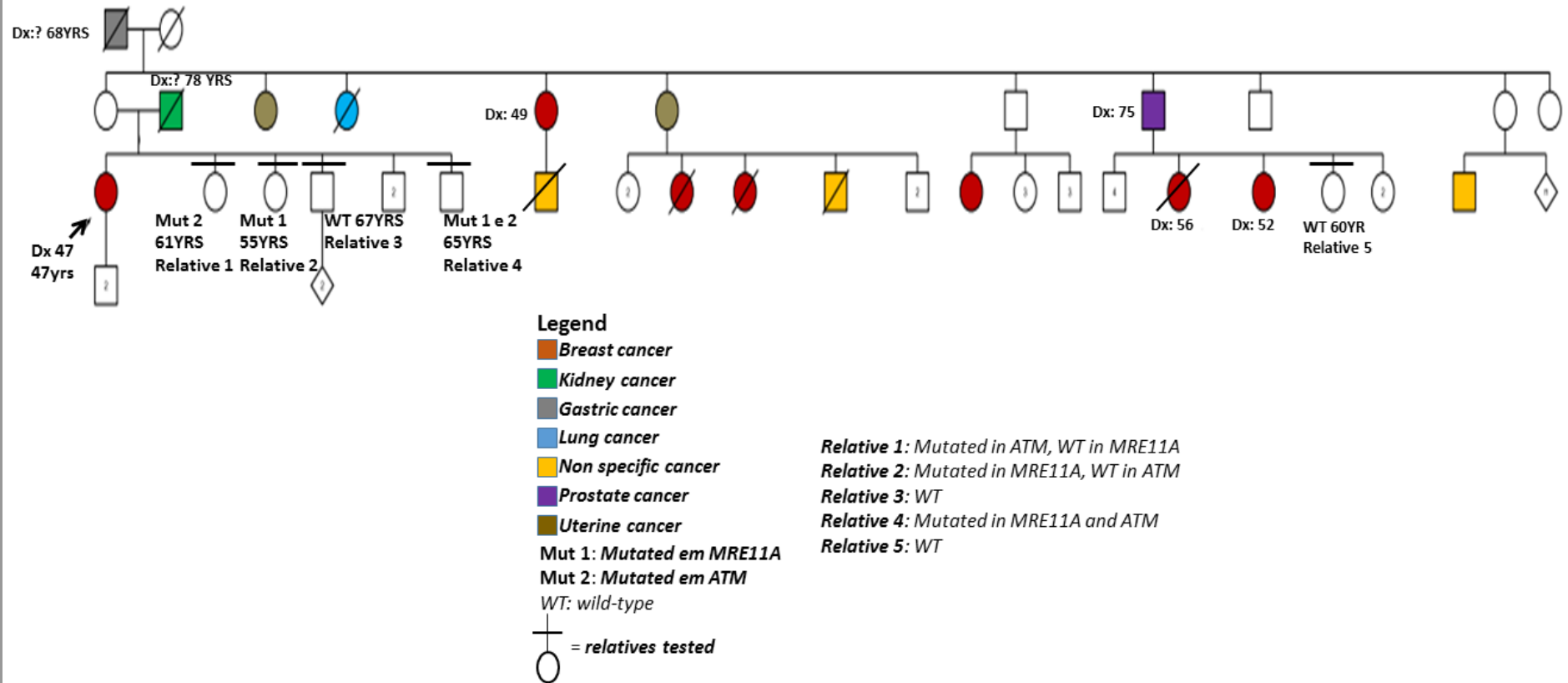
Figura 18 - Localização da variante p.V1570A (c.4709T>C) no gene *ATM*

Na família da FC 133 foram testados 5 familiares para as duas VUS estudadas. O resultado da segregação familiar foi indefinido ou inconclusivo pelo fato de não ter sido testado nenhum familiar com câncer. Os resultados dos testes foram variados, com três familiares positivos. Duas irmãs da FC 133 apresentaram resultado positivo, uma para a variante germinativa no gene *ATM* (irmã com 61 anos) e a outra para a variante no gene *MRE11A* (irmã com 55 anos). Um irmão com 65 anos com resultado positivo para as duas

variantes testadas. Os outros dois familiares foram negativos para as variantes testadas, um irmão com 67 anos e uma prima com 60 anos. Cabe ressaltar que a idade dos familiares variou entre 55 e 67 anos; mas sem a presença de pelo menos um familiar afetado (com câncer) não é possível inferir nenhum resultado neste caso. O detalhamento da história da família encontra-se no heredograma nº5 (Figura19).



### HEREDOGRAMA Nº 5: FC 133



HEREDOGRAMA FC 133 / Mut: mutado/ Wild-Type: tipo selvagem, sem mutação

Segregação Familiar das variantes germinativas de Significado Clínico Desconhecido (VUS) c.4709T>C (p.Val1570Ala) no gene ATM e c.482A>G (p.Lys161Arg) no gene MRE11A

Figura 19 - Heredograma nº5 - FC 133

## DISCUSSÃO

Os painéis genéticos estão cada vez mais relevantes em oncologia, pois até a pouco tempo atrás a estratégia de investigação de câncer de mama e ovário hereditários era feita exclusivamente baseando-se na história familiar para identificar o teste apropriado (sendo a investigação feita síndrome a síndrome). Em outras palavras, era testado um gene de cada vez em cada consulta médica, muitas vezes atrasando o resultado ao paciente que esperava a investigação de todos os genes possivelmente relacionados aos fenótipos da família. O uso de painéis multigênicos frente à sobreposição de fenótipos, possibilita em uma única análise incluir genes de alta penetrância com utilidade clínica estabelecida e também genes de moderado risco já fundamentados na literatura. Além disso, obter-se informações detalhadas de variantes menos frequentes em genes de risco moderado, somente são possíveis de se estudar devido à esta migração dos testes genéticos para as tecnologias de 2ª geração<sup>88, 89, 157, 158</sup>.

Para os profissionais clínicos em genética médica o benefício é no mínimo desafiador. Analisar genes em pacientes que não apresentam um fenótipo clássico ou também para aqueles casos sem conhecimento da história familiar e com a preocupação em não perder variantes germinativas patogênicas menos “típicas” do que as já descritas, torna-se complexa a consulta de investigação genética. Os painéis geram resultados numerosos e, portanto, mais difíceis na interpretação clínica de variantes germinativas. Entretanto, o benefício de adquirirmos novos dados, estabelece novas práticas em oncogenética, contribuindo para o gerenciamento de riscos e agilidade na prática clínica. Há, também, um crescente uso do perfil germinativo dos pacientes no CMOH para tomar decisões sobre o tratamento de doenças avançadas<sup>55</sup> (ex: inibidores de *PARP*); evidenciando cada vez mais a importância de se estudar novos genes.

Existem diversos painéis à disposição dos pacientes/usuários, principalmente fora do Brasil. O número de genes pesquisados varia bastante, podendo conter apenas genes de alto risco já associados a fenótipos clássicos, como também painéis contendo mais de 50 genes (alto, moderado e baixo risco) e que não se baseiam em fenótipos coletados pela história clínica e/ou familiar. No estudo de revisão de Lerner-Ellis *et al*<sup>127</sup> realizado em 2015, os melhores candidatos a painéis além dos genes de alto risco (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *STK11*, *PTEN*, *CDH1* e *PALB2*) relacionados ao fenótipo mama, seriam os genes *ATM*

e *CHEK2*. Atualmente, estes genes ainda lideram como principais candidatos de predisposição moderada<sup>89, 159</sup> para serem incluídos em painéis. Já para o fenótipo ovário, desde o estudo de Lerner-Ellis *et al*<sup>127</sup> até os estudos mais atuais, os principais genes candidatos a painéis continuam sendo os genes *BRIP1* e *RAD51C*. Porém novos genes de moderado risco também estão sendo associados ao fenótipo ovário como por exemplo o gene *CHEK2*<sup>160</sup>.

É importante salientar, que quando os painéis são utilizados de maneira indiscriminada, cria-se um potencial de descobertas inesperadas e, na maioria das vezes, de difícil interpretação. A inclusão crescente de novos genes aos painéis sem o conhecimento acerca da consequência clínica (efeito biológico) destas alterações (variantes de moderado e ou baixo risco), e sem interpretação devida pelos clínicos, pode trazer resultados inferiores ao benefício conferido. Isso porque para grande parte desses genes ainda não existem condutas clínicas de manejo e redução do risco bem estabelecidas. Por outro lado, para que estas práticas se desenvolvam e para que novos manejos sejam preconizados, a utilização dos painéis gênicos está tendo um papel fundamental, através da identificação de novas variantes associados a novos fenótipos assim como através da exclusão de genes que não demonstrem de fato risco significativo no CMOH. Faz-se necessária a interpretação adequada dos resultados em genes de significância clínica incerta ou desconhecida para que sejam oferecidas recomendações apropriadas.

No Brasil a realidade é diferente, a utilização de painéis é menos difundida em comparação ao exterior. Ainda há grandes centros especializados em oncogenética que realizam a investigação gene a gene pelo alto custo de se adquirir novos equipamentos com as novas tecnologias. De maneira adicional é importante destacar que o Sistema Único de Saúde (SUS), do qual a grande maioria da população Brasileira depende, não disponibiliza os testes genéticos associados ao câncer hereditário por nenhum método, o que faz com que a grande maioria dos brasileiros não tenha acesso a uma investigação genética relacionada ao câncer, com exceção daqueles que participam de projetos de pesquisa. Já para indivíduos com bons planos de saúde ou por meio de pagamentos particulares, os painéis estão disponíveis comercialmente e o número de genes varia de acordo com a escolha do médico geneticista (ou clínico especializado) junto ao seu paciente. No contexto de mama e ovário, pode ser oferecido apenas os principais genes

(*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PALB2*...) como também um painel amplo relacionado ao câncer de uma maneira geral.

No Hospital de Câncer de Barretos o teste é oferecido gratuitamente aos pacientes/familiares que apresentem critérios clínicos como também a possibilidade de realizar i) aconselhamento genético, ii) exames preventivos e iii) testes genéticos de qualidade<sup>161</sup>. O hospital possui uma equipe multidisciplinar integrada a todas as especialidades. Através deste centro que selecionamos a amostra utilizada neste estudo. É necessário, portanto, identificar indivíduos em situação de risco e desenvolver comportamentos preventivos e personalizados também para as pessoas cuja única possibilidade é o sistema público de saúde.

As pacientes incluídas neste estudo são mulheres consideradas alto risco para o CMOH. O fato de inicialmente serem enquadradas na síndrome HBOC e negativas para os respectivos genes, faz com que novas alternativas possam ser estudadas para os mesmos fenótipos (mama e ovário; presente em todas as famílias em diferentes gerações), como no caso os genes de moderado risco.

Os genes que compuseram o painel deste estudo foram selecionados baseados na literatura no momento do início do projeto, em 2016. Grandes estudos já revelaram novos genes de maior relação de risco com câncer de CMOH do que alguns dos genes estudados neste painel; entretanto na época do início do estudo os genes selecionados possuíam relação de risco alta ou moderada. Na seleção dos genes de alto risco (*TP53*, *PTEN*, *STK11*, *PALB2* e *CDH1*) optou-se por aqueles que já possuíam recomendações de rastreamento e manejo de risco bem fundamentados e que já são incluídos praticamente em todos os painéis de CMOH disponíveis. Já para os genes de moderado risco foi mais difícil selecionar os “melhores candidatos”, pois a opinião dos pesquisadores era divergente em muitos casos. Optou-se por incluir os nove genes (*MUTYH*, *RAD51C*, *RAD50*, *BRIP1*, *BARD*, *NBN*, *MRE11A*, *ATM* e *CHEK2*) de moderado risco mais estudados da época.

Dada a complexidade na interpretação dos resultados gerados pelos painéis gênicos, as variantes germinativas encontradas neste estudo foram avaliadas através de abordagens distintas, com a utilização de diversas ferramentas que possibilitam entender melhor o padrão de hereditariedade e patogenicidade de cada uma delas.

Os bancos de dados doença-específico ClinVar<sup>138</sup> e HGMD<sup>139</sup> nos direcionam inicialmente ao comportamento benigno ou patogênico da variante de acordo com estudos e achados de empresas (laboratórios) no mundo. O ClinVar<sup>138</sup> (banco Público) é considerado como uma das principais fontes de informação das variantes germinativas; sendo utilizado praticamente em todas as análises em estudos de variantes germinativas. A desvantagem deste banco é que as informações contidas nele dependem exclusivamente da ação do autor em depositar seus dados, isso faz com que muitos estudos bons não sejam divulgados. Em contrapartida, O HGMD (privado) realiza uma busca ativa de dados na literatura científica, o que deveria ser um fato bastante positivo, dado que agregaria todas as informações já disponibilizadas sobre os genes já estudados em todo o mundo. Porém, na prática, o que observamos é que muitas vezes o banco HGMD “superestima” a patogenicidade da variante classificando-a como VUS ou patogênica e, em algumas situações, a interpretação fornecida pelo banco difere daquela fornecida pelo autor do artigo referenciado. Podemos citar como exemplo a variante identificada neste estudo c.3383A>G no gene *ATM* classificada unicamente pelo HGMD como patogênica, entretanto verificando a literatura disponibilizada pelo banco, esta variante apenas consta como descrita em uma análise de sequenciamento realizada no gene *ATM* em 2002<sup>162</sup> e comparada a um grupo controle de apenas 43 indivíduos. Nenhum estudo adicional foi realizado para sugerir uma possível patogenicidade. Por este motivo, neste estudo, o banco de dados HGMD foi utilizado como suporte nas avaliações, levando em consideração os estudos citados por ele em cada variante. Adicionalmente, em alguns casos, podemos encontrar trabalhos neste banco que não constam em outros e com resultados relevantes, destacando assim sua importância e contribuição na classificação de variantes germinativas.

A partir de 2015 com a publicação de Richards<sup>141</sup> (ACMG), as classificações das variantes germinativas (classes 1-5) começaram a seguir um padrão, e o que antes era bastante subjetivo e sem um consenso de patogenicidade pelos pesquisadores, tornou-se mais organizado e consensual. Começou-se, portanto, a se utilizar critérios baseados em evidências sugeridos por Richards *et al.*, que rapidamente foram aceitos e incorporados por praticamente toda a comunidade científica. O merecido destaque deu-se pelo fato de poder-se avaliar uma variante não apenas por uma evidência, mas sim, ponderar critérios decisivos (fortes) e critérios suporte tanto para benignidade quanto patogenicidade. É

importante salientar que cada variante germinativa localizada em um determinado gene está associada a um contexto familiar único, e que as evidências da história pessoal e familiar de câncer devem sempre ser avaliadas conjuntamente.

As predições *in silico* também fazem parte dos critérios utilizados pela ACMG, 19 ferramentas no total. Dentre as utilizadas neste estudo, apenas o Revel não está presente nas ferramentas descritas por Richards e colaboradores em 2015. O mesmo aplica-se para as análises das frequências populacionais. A ACMG avalia cinco bancos de dados populacionais, incluindo o ExAC; mas, por outro lado, desconsidera os bancos gnomAD (que abrange ExAC) e ABraOM (Banco Brasileiro). Em virtude destes fatos, e também para avaliar-se isoladamente cada variante germinativa, optamos por analisar, de maneira concomitante, a classificação ACMG, os bancos populacionais e doença específicos e as ferramentas de predição *in silico* descritas neste estudo.

Neste estudo, não foram identificadas mutações nos genes de alto risco que compuseram o painel gênico. Os resultados encontrados contribuem para a análise de variantes germinativas em genes de moderado risco, pois acrescentam evidências na análise do perfil mutacional no CMOH. Foram identificadas 16 variantes germinativas classificadas como classe 3, 4 e 5 em genes de risco moderado<sup>89, 158, 163</sup>, em mulheres de alto risco para o CMOH e negativas para variantes nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. A frequência de variantes germinativas patogênicas foi de 3,8%, o que corrobora com outros estudos que descrevem um percentual de 3 a 7%<sup>3, 133</sup> de mulheres com câncer de mama e/ou ovário hereditário com variantes germinativas patogênicas nos genes de moderado risco.

Dois pacientes apresentaram uma variante germinativa patogênica relacionadas ao CMOH: FC 1209; variante em heterozigose no gene *MRE11A* c.315-2A>G; e a FC 974; variante em heterozigose no gene *MUTYH* c.1138delC. Adicionalmente, as variantes encontradas são do tipo “frameshift” e em “sítio de *splicing*”, o que remete a uma proteína truncada e provavelmente não funcional. Cabe ressaltar que o gene *MRE11A* é um supressor tumoral de predisposição hereditária ao câncer com padrão de Herança Autossômica Dominante, ou seja, basta um alelo alterado para que o risco de câncer seja maior que o da população em geral<sup>32, 164, 165</sup>. Já o gene *MUTYH* possui um padrão de Herança Autossômica Recessiva, ou seja, é necessário que os dois alelos estejam alterados para que o risco maior que o da população em geral de câncer exista<sup>32</sup>.

Contudo, testes no tumor relacionados à perda de heterozigose seriam necessários nestes casos para poder relacionar o gene mais profundamente à doença.

O gene *MRE11A* é considerado um aliado do gene *ATM* (que tem como principal função sinalizar outros genes para realizar o reparo de dupla fita no DNA<sup>103, 107</sup>), e foi relacionado nos primeiros estudos com NGS como sendo um gene de risco moderado para CMOH e, portanto inserido em painéis<sup>107</sup>. No estudo de Damiola e colaboradores<sup>107</sup> (2014) o gene *MRE11A* foi considerado de suscetibilidade moderada ao câncer de mama. E, variantes germinativas que gerassem proteínas truncadas, raras e localizadas nos principais domínios funcionais poderiam conferir risco moderado (OR = 2.88, P = 0.0090) ao câncer de mama<sup>107</sup>. Já estudos mais recentes com tamanhos amostrais significativos (caso-controle) revelaram um risco baixo para o gene *MRE11A*. Na classificação de Lee e colaboradores<sup>158</sup> para validade clínica de genes usualmente inseridos em painéis, o *MRE11A* tem classificação “disputada”, ou seja, indica que existem dados conflitantes e/ou opiniões divergentes sobre a associação ao CMOH. Cabe destacar, que a avaliação clínica não foi considerada “Refutada”, porque estudos observacionais (segregação) e ensaios funcionais específicos ainda são necessários para se avaliar o risco para os portadores de mutações<sup>158</sup>, visto que variantes germinativas patogênicas neste gene são raras. Utilizando os critérios preconizados pela ACMG, a variante identificada neste estudo (c.315-2A>G) foi considerada patogênica por ser uma SNV em uma região conservada de *splicing* (dentro de  $\pm 2$  do sítio de união canônica), ou seja, uma variante nula (PVS1). Esta alteração afeta o gene *MRE11A*, e é um mecanismo conhecido de doença. Além disso, predições *in silico* (PP3) e ClinVar classificam a variante como Provavelmente Patogênica. No entanto não há referências a testes funcionais ou *in vivo* (PP5) reforçando a necessidade de maiores investigações.

A paciente index (FC 1209 portadora da mutação no gene *MRE11A*) teve diagnóstico de câncer de mama aos 58 anos tipo CDI luminal B1, e sua mãe apresentou (única familiar de primeiro grau com câncer) tumor de ovário acima dos 50 anos. A família da FC 1209 possui três gerações afetadas com câncer e um total de 11 (contando a index) indivíduos com câncer. Destes familiares (10), seis mulheres tiveram diagnóstico de câncer de mama acima dos 50 anos, duas mulheres câncer de ovário (uma com diagnóstico aos 30 anos e a outra acima dos 50 anos- mãe da paciente) e duas mulheres com câncer de mama e ovário (acima dos 50 anos). Adicionalmente um caso de câncer

colorretal acima dos 50 anos. Podemos observar nesta família diagnósticos de tumores de ovário nas diferentes gerações, sendo que dois familiares de terceiro grau apresentaram múltiplos tumores. Encontramos nesta paciente duas variantes germinativas: a patogênica no gene *MRE11A* c.315-2A>G descrita anteriormente, e uma VUS no gene *CHEK2* c.1312G>T. Observou-se nos estudo de Shouthey *et al*<sup>166</sup> evidências da relação desta VUS (*CHEK2* c.1312G> T) para risco de câncer de próstata com OR 2,21 (95% CI 1,06 a 4,63, p = 0.030) em homens europeus. Porém, na família da FC1209 nenhum caso de câncer de próstata foi relatado. Frente a este cenário, a família foi convidada a participar do estudo de segregação mas não foi possível à presença dos familiares. Os dados de co-segregação das variantes com a doença na família permitiriam entender melhor a possível causa de câncer. Os *guidelines* (NCCN)<sup>13</sup> não descrevem o gerenciamento de risco para o gene *MRE11A* no CMOH.

A segunda variante germinativa patogênica identificada foi do tipo *frameshift* (c.1147delC) encontrada em heterozigose no gene *MUTYH*. A paciente portadora (FC 974) teve diagnóstico de CDI na mama aos 46 anos, subtipo molecular Luminal B1. A história familiar também se caracteriza pelo número elevado de tumores de mama, um total de oito casos (3 < 50 anos e 5 > dos 50 anos), sendo um familiar a mãe da paciente com câncer de mama aos 56 anos. A idade mais jovem dentre os tumores de mama foi 45 anos. Além disso, a família apresentou dois diagnósticos de tumores de próstata e dois diagnósticos de tumores em sítios desconhecidos sendo um deles em uma criança de quatro anos (familiar de 4º grau).

O gene *MUTYH* atua no reparo denominado Reparo por Excisão de Base (REB), é considerado um supressor Tumoral, relacionado em homozigose com o desenvolvimento de poliposes e câncer colorretal<sup>121, 167, 168</sup>. Apesar de ser um gene com padrão de herança autossômico recessivo e existirem alguns estudos apontando para uma associação com aumento do risco de câncer na presença de alterações em heterozigose, a existência e força dessa associação ainda são controversos e carecem de maiores estudos. No estudo de Lee e colaboradores<sup>158</sup>, a classificação foi igual para variantes bialélicas e variantes monoalélicas. Para o fenótipo mama foi classificado como “Nenhuma Evidência Reportada” que é aplicada quando não há dados de estudos “caso-controle” relevantes. Já para o fenótipo ovário a classificação foi “Disputada”, que indica que existem dados e/ou opiniões conflitantes em relação à associação. Por outro lado, Estudos recentes



sugerem que não há uma susceptibilidade moderada de risco em portadores de variantes germinativas patogênicas em heterozigose no gene *MUTYH* no CMOH<sup>169</sup>. O estudo recente de Slavin *et al*<sup>89</sup> demonstrou que o gene *MUTYH* em heterozigose não tem relação com o CMOH. Diante destes fatos, o estudo de Rennert *et al*<sup>123</sup> de 2012 praticamente torna-se um dos únicos a estabelecer alguma relação de risco do gene (quando mutado em heterozigose) com o CMOH. Além disso, os estudos que avaliam *MUTYH* em homozigose no CMOH, descrevem que mesmo assim o risco é baixo<sup>169</sup>. Avaliando a variante identificada pela classificação ACMG, observamos a evidência forte de patogenicidade (PVS1) por ser uma variante tipo *frameshift*. As evidências de suporte de patogenicidade são relacionada à frequência populacional (PM2), predições *in silico* (PP3) e pelo ClinVar classificar a variante como Patogênica (PP5), o que reforça a necessidade de maiores estudos, conforme sugerido por Rennert<sup>123</sup>. Os *guidelines* (NCCN)<sup>13</sup> não descrevem o gerenciamento de risco deste gene para o CMOH.

Foi encontrada uma VUS (c.1267C>T) também no gene *MUTYH* na FC 755. O ClinVar a descreve com dados conflitantes entre classes 2 e 3, e, pela classificação ACMG é considerada uma VUS sem evidências descritas, pois segundo o Varsome as regras não atenderam aos critérios. A Família possui apenas fenótipos de mama em parentes de segundo e terceiro grau. Todos antes dos 50 anos.

Além destas variantes de significado Clínico desconhecido no gene *MUTYH* e no gene *CHEK2* citadas anteriormente, também identificamos variantes tipo “VUS” em mais seis genes (somando-se oito genes). No total, 13 variantes germinativas de significado clínico desconhecido foram identificadas: 1 VUS no gene *BRIP1*, 2 VUS no gene *CHEK2*, 3 VUS no gene *ATM*, 2 VUS no gene *RAD50*, 2 VUS no gene *RAD51C*, 1 VUS no gene *PALB2*, 1 VUS no gene *MRE11A*, 1 VUS no gene *MUTYH* (ver tabela 11). A frequência de VUS foi de 25%, ou seja, 13 variantes *missense* de significado clínico desconhecido em 11 das 52 mulheres participantes. Esta porcentagem de VUS parece elevada quando comparada aos genes de alto risco, entretanto, como foram estudados genes de moderado risco relativamente “novos” a frequência de VUS de fato é maior. Esta porcentagem corrobora com o estudo de Xie *et al*<sup>159</sup> realizado em 2018 e que encontrou 34,25% de VUS em 10 genes estudados de susceptibilidade ao câncer de mama (excluindo *BRCA1* e *BRCA2*) em 100 mulheres. Adicionalmente, as VUS identificadas tiveram uma frequência alélica menor que 1% em bancos de dados populacionais internacionais e brasileiros.

Cabe ressaltar que todas as famílias das participantes que apresentaram VUS foram convidadas para realizar o estudo de segregação, porém em apenas 5 famílias (6 variantes) foi possível realizar o estudo. Das 5 famílias (6 variantes germinativas) que participaram da análise de segregação, encontramos evidências de associação para variante germinativa *missense* c.316C>T no gene *BRIP1*, presente na FC 306. Apesar de termos testado apenas três familiares, todos eram familiares de primeiro grau (irmãos), sendo os irmãos mais velhos sem doença negativos para a variante (VUS), enquanto que a irmã mais nova com diagnóstico de dois tumores primários antes dos 50 anos (mama e tireóide) foi positiva para a presença da VUS. A história familiar representada no heredograma nº4 (sessão Resultados) sugere que a variante germinativa c.316C>T no gene *BRIP1* possa estar envolvida no desenvolvimento dos casos de câncer observados nesta família.

O gene *BRIP1* atua no reparo (ao dano na dupla fita no DNA) interagindo com o gene *BRCA1*<sup>109</sup> no reparo por recombinação homóloga. A presença de variantes germinativas patogênicas em *BRIP1* vem sendo relacionada especificamente a tumores ovarianos<sup>109, 170</sup>, como no estudo de Ramus e colaboradores<sup>170</sup> onde os autores sugerem implicações clínicas para a predição de risco e abordagens de prevenção para o câncer de ovário. Porém em outros trabalhos observa-se associação de risco moderado também para tumores de mama. No estudo de Nadine e colaboradores de 2016<sup>169</sup>, entre 488 pacientes com câncer de mama, 55 variantes germinativas patogênicas foram identificadas em 52 mulheres (10,7%). Trinta mulheres (6,1%) tiveram uma mutação germinativa nos genes *BRCA1* e *BRCA2* e quatro mulheres (0,81%) no gene *BRIP1*. Destas quatro mulheres, uma paciente com subtipo molecular Luminal B1 e história familiar de câncer colorretal; uma com subtipo Triplo Negativo e história familiar de câncer em SNC, mama, bexiga e melanoma. Uma das mulheres com subtipo Luminal B2 e história familiar de câncer de próstata e a outra também com subtipo Luminal B2 e história familiar de ovário, mama, estômago, endométrio e sítios desconhecidos. Observa-se, portanto, o baixo número de tumores de ovário. Em relação aos subtipos moleculares, sugeriu-se que mutações no gene *BRIP1* também poderiam estar relacionadas com o subtipo TPN pelo fato de haver interação das proteínas no reparo (*BRCA1* e *BRIP1*), mas ainda não há nada estabelecido na literatura<sup>160, 169</sup>. Na família da FC 306 não foi reportado nenhum caso de câncer de ovário pela paciente index. Este fato corroborou com o estudo de Nadine et

*al*<sup>169</sup> (das quatro pacientes do estudo apenas uma possuía história de câncer de ovário) e com o estudo de Slavin *et al*<sup>89</sup> que identificaram fenótipos variados, e que sugerem que o gene possa não estar apenas relacionado com tumores de ovário. O fenótipo melanoma presente na paciente FC 306 (diagnóstico aos 36 anos) e o fenótipo bexiga presente no pai da paciente merecem destaque, pois além de ambos estarem presentes no estudo de Nadine *et al*<sup>169</sup>, o fenótipo de câncer de bexiga também foi identificado no estudo de Chan *et al*<sup>171</sup> na análise de indivíduos asiáticos com múltiplos tumores primários. Chan escreveu um indivíduo com uma variante tipo VUS em *BRIP1* (além de uma VUS também em *MSH6* e uma VUS no gene *PALLD*) que teve diagnóstico de três tumores primários: linfoma, cólon e bexiga<sup>171</sup>. Portanto, mesmo que o pai (falecido) da FC 306 que teve diagnóstico de câncer de bexiga aos 50 anos não pôde ser testado, e que as informações da história paterna não foram tão aprofundadas pelo fato dos tumores de mama avaliados na família estarem do lado materno; é importante salientar que tanto a FC 306 quanto sua irmã possuíam múltiplos tumores antes dos 50 anos (dois tumores primários cada uma) e que possivelmente a causa de câncer na família seja de origem hereditária<sup>8</sup>.

Em relação à avaliação clínica gene-doença relatada no estudo de Lee<sup>158</sup> *et al*, o gene *BRIP1* foi considerado “Refutado” para o câncer de mama e “Definitivo” para o câncer de ovário. Portanto sua relação com o câncer de mama ainda não é bem estabelecida<sup>88, 110</sup>. O estudo caso-controlado recentemente realizado por Couch e colaboradores<sup>88</sup> demonstra um OR de 1,27 para CMH e um OR de 1,67 para COH (quando incluíram os casos de ovário aos de mama) com um tamanho amostral considerável para as análises (54.585 pacientes com câncer de mama de todas as etnias). Cabe ressaltar que a variante germinativa c.316C>T (*BRIP1*) encontrada neste painel gênico, foi classificada como provavelmente benigna (classe 2) pela ACMG, porém foi classificada como VUS por todos os depositantes do ClinVar. As evidências dadas à variante pela ACMG foram apenas de suporte de benignidade segundo os critérios de Richards 2015<sup>141</sup>: BP1 (variantes *missense* são mais comuns nesta região) e BP4 (benignidade nos programas de predição *in silico*). Por fim, o gene *BRIP1* possui opiniões divergentes em relação ao risco no CMH, e bem fundamentadas para COH. Análises aprofundadas da variante identificada devem continuar, e o acompanhamento da família e rastreamento adequado deve permanecer. Vale ressaltar, dada à importância do gene nos tumores de ovário, que as diretrizes da NCCN<sup>13</sup> (que foram atualizadas para

incorporar outros genes não-*BRCA*) recomendam que as mulheres identificadas como portadoras de variantes germinativas patogênicas no gene *BRIP1* possam considerar a salpingo-ooforectomia preventiva após os 45 anos. Estes *guidelines* fornecem aos médicos diretrizes específicas para o gerenciamento de risco.

Na família da FC 133 selecionada para realizar o estudo de segregação não foi possível realizar associação pelo fato de não terem comparecido familiares com câncer para realização do teste genético. Foram identificadas as variantes germinativas tipo VUS no gene *MRE11A* (c.482A>G) e no gene *ATM* (c.4709T>C) (variante essa incluída mesmo sendo provavelmente benigna pela ACMG, pelo fato de já termos selecionado a paciente para o estudo de segregação pela VUS em *MRE11A*) em familiares sem câncer e com idades variadas. A história familiar representada no heredograma nº5 (sessão resultados) demonstra o grande número de casos de câncer, porém nenhum familiar de primeiro grau pelo lado materno que foi investigado.

Observa-se, pelos resultados das 3 famílias restantes que realizaram estudo de segregação em *ATM* (c.9086G>A), *CHEK2* (c.1036C>T) e *RAD51C* (c.1009G>T) que não houve segregação. No entanto, o número de familiares com câncer testados foi baixo (um indivíduo em cada família). Portanto, mesmo que os resultados não demonstrem associação à síndrome segregada nas famílias, estes indivíduos negativos e com câncer podem ser fenocópias presentes em famílias com variantes patogênicas segregando.

A relação de risco dos genes *ATM* e *CHEK2* com tumores de mama já está bem estabelecida<sup>89, 169, 172-175</sup>. No estudo de Couch *et al*<sup>88</sup> demonstrou-se um OR 2,78 e OR 2,26 respectivamente. Na classificação clínica da relação dos genes com o CMOH, o gene *ATM* teve classificação “Definitiva” para tumores de mama e “Limitada” para tumores de ovário; e o gene *CHEK2* apresentou também classificação “Definitiva”, porém “Disputada” (há conflito) para tumores de ovário<sup>158</sup>.

Especificamente, a variante germinativa **c.1036C>T no gene *CHEK2*** encontrada neste painel, foi estudada recentemente por Southey *et al*<sup>166</sup>, que genotiparam 10 variantes *missense* raras (nos genes *PALB2*, *ATM* e *CHEK2*) em diferentes grupos caso-controle separados por câncer de mama (42.671 casos e 42.164 controles), próstata (22.301 casos e 22.320 controles) e ovário (14.542 casos e 23.491 controles). Os autores encontraram, para as mulheres européias, fortes evidências de associação com risco de câncer de mama para a variante em *CHEK2*: **c.1036C>T (OR 5,06 (IC 95% 1,09 a 23,5))**<sup>166</sup>.

A paciente FC 1095 portadora da VUS em *CHEK2*, como demonstrado no heredograma nº3 (sessão resultados), possui duas irmãs que tiveram câncer de mama em idade jovem (diagnósticos aos 41 e 27 anos de idade) assim com ela (42 anos).

A variante c.9086G>A no gene *ATM* encontrada neste estudo está localizada em uma região de domínio funcional do gene (critério PM1 dada pela classificação da ACMG) e este critério sozinho reforça a possível patogenicidade da variante germinativa. A família da FC 1046 descrita no heredograma nº2 (sessão resultados), também possui duas irmãs que tiveram câncer de mama antes dos 50 anos. Em relação aos dados do gene *ATM* também no estudo de Southey *et al*<sup>166</sup>, a variante germinativa em heterozigose c.7271T>G apresentou um OR de 11,0 (95% IC 1,42 a 85,7, p=0.0012), relacionando mais uma vez que mesmo variantes *missense* em *ATM* predis põem risco para o CMH em seus portadores<sup>166</sup>.

Além da VUS no gene *ATM* que foi possível realizar segregação descrita acima, identificamos também a variante de significado clínico desconhecido c.1810C>T neste mesmo gene. A história familiar da paciente FC 85 portadora desta VUS apresenta três casos de câncer de mama antes dos 50 anos em familiares de 1º grau, um caso de Leucemia sem idade descrita e dois casos de tumores gástricos acima dos 45 anos em familiares de 2º grau. Esta variante mesmo classificada com VUS pela ACMG, não apresentou nenhum critério de patogenicidade. Segundo o ClinVar a variante possui dados conflitantes entre as classes 1, 2 e 3, sugerindo possivelmente benignidade da variante germinativa. Nesta mesma paciente identificamos uma VUS no gene *PALB2* c.1001A>G. Pela classificação ACMG foi considerada provavelmente benigna, porém pelo ClinVar os depositantes em sua totalidade a consideraram uma VUS. Neste caso, estudos de segregação seriam necessários para investigar as duas variantes presentes na família.

O gene *PALB2* já é considerado um gene de alto risco<sup>88</sup>. Sua relação com o CMH já está bem estabelecida. Assim como o gene *TP53*, no estudo de Slavin *et al*<sup>89</sup>, o gene *PALB2* apresentou um OR significativo de 6,95 (IC 3,71-12,70, p = 2,33 × 10<sup>-8</sup>), e no estudo de Couch *et al*<sup>88</sup> o OR foi de 7,46 (CI 5,12-11,19). Adicionalmente subtipos moleculares triplo negativos foram mais associados ao gene *PALB2*, enquanto que não houve relação deste subtipo para os genes *ATM* e *CHEK2*<sup>89</sup>. E, também, novos fenótipos estão sendo associados ao gene, além de mama, como por exemplo, tumores pancreáticos<sup>176</sup> e gástricos<sup>177</sup>. Cabe ressaltar que a FC 85 com a VUS em *PALB2* (e em

*ATM*), possui em sua história familiar dois casos de tumores gástricos. Medidas preventivas e manejo de risco já existem para portadores de mutação neste gene. Em relação às cirurgias profiláticas, é descrito nos *guidelines* que deve-se considerar caso a caso, levando em consideração a história pessoal e familiar de câncer pelo médico que poderá sugerir ou não medidas invasivas redutoras de risco. Já para o rastreamento do ovário segundo NCCN ainda não se tem recomendações definidas<sup>13</sup>.

Cabe ressaltar que opções de gerenciamento para detecção precoce ou redução de risco estão disponíveis para os indivíduos com variantes germinativas patogênicas nestes genes nas recomendações da NCCN<sup>13</sup>. Já para as VUS, os médicos geneticistas necessitam realizar uma interpretação adequada, para que sejam oferecidas recomendações apropriadas para o gerenciamento de riscos personalizado. Cabe destacar que para o gene *ATM* em câncer de ovário, *BRIP1* para câncer de mama, *CHEK2* para câncer de ovário e *PALB2* para câncer de ovário não há evidências de predisposição ao risco estabelecidas, por este motivo não há recomendação de medidas de rastreamentos nos *guidelines*. Sugerimos, portanto aumentar o número de familiares destas famílias na segregação familiar, para que o resultado negativo possa ser confirmado.

Identificamos duas variantes de significado clínico desconhecido no gene *RAD50*. A variante germinativa c.1397A>C na FC 869 e a variante c.281T>C na FC274. Ambas receberam classificação ACMG classe 3, porém com um único critério de suporte para benignidade: “variante *missense* em um gene para o qual variantes truncadas são conhecidas por causar doença”(BP1). Pelo ClinVar foram reportadas como NR e VUS respectivamente. Neste contexto a análise de segregação para as duas variantes seria necessária pelo significado clínico incerto. A história familiar da FC 869 é composta por dois familiares de 1º grau com câncer de mama antes dos 50 anos e um familiar de 2º grau com câncer colorretal aos 65 anos. Já a FC 274 foi a única paciente do estudo que não apresentou história de câncer na família (foi incluída como exceção aos critérios pela idade precoce ao diagnóstico aos 27 anos).

O gene *RAD50* nos estudos mais recentes demonstrou um OR baixo para o CMH: OR= 0,77 (CI 0,52-1,61) no estudo de Couch *et al*<sup>88</sup>. No estudo de Slavin *et al*<sup>89</sup> apenas uma mulher demonstrou uma mutação neste gene e, por este motivo, tornou-se difícil realizar análise estatística. Em relação à avaliação “gene-doença” no estudo de Lee *et al*<sup>158</sup>, observa-se que para mama a classificação é considerada “Limitada” e para ovário é

considerada “Disputada”, mais uma vez sugerindo que o risco de susceptibilidade ao gene ainda é incerto. Medidas de manejo de risco não estão descritas nos *guidelines* da NCCN<sup>13</sup> para este gene.

A família da FC 640 (Heredograma nº1-sessão resultados) testada na análise de segregação para a VUS c.1009G>T no gene *RAD51C* não apresentou relação gene-doença nos familiares testados, e de certa forma, foi a família que as evidências de não co-segregação foram melhores observadas. A variante recebeu pela classificação ACMG, apenas evidências de patogenicidade, PM1 (localização em região “Hot-spot”), PM2 (critério relacionado à frequência populacional) e PP3 (critério relacionado às predições *in silico*). Adicionalmente, dentre as VUS identificadas neste estudo, esta variante foi a única não relatada no ClinVar, o que faz com seu significado clínico fosse ainda mais difícil de se estabelecer.

Foram 10 familiares no total testados, mas as duas irmãs que também tiveram câncer e poderiam contribuir nesta análise são falecidas e, portanto não puderam ser avaliadas. O fato de ter sido testado apenas um familiar com câncer também pode estar contribuindo para a ausência de segregação da variante germinativa neste contexto familiar e novos familiares com a doença em diferentes idades deveriam ser testados. Mas, através de nossa análise, com resultados de três familiares em idade mais avançada com a presença da variante germinativa e a irmã com câncer mais nova “*wild-type*” podemos sugerir que não há relação da doença com o gene neste caso. O que de certa forma corrobora com a literatura se analisarmos o fenótipo clássico descrito para o gene que são tumores de ovário<sup>158</sup>. Outro ponto a considerar em relação a não segregação da VUS c.1009G>T com a doença na família, é que o subtipo molecular TPN em tumores de mama estão sendo mais associados com o gene segundo literatura recente<sup>120</sup>, do que o subtipo molecular tipo Luminal B1 presente na paciente index deste estudo (da FC 640).

Na avaliação gene-doença, a classificação dada ao *RAD51C* foi “Definitiva” para o fenótipo de câncer de ovário e “Disputada” para o fenótipo de câncer de mama<sup>158</sup>. Nossos resultados também corroboram com uma análise de segregação realizada por Jun Li *et al*<sup>172</sup> que testou familiares de uma paciente com câncer de mama aos 47 anos e que possuía uma variante do tipo *frameshift* “c.851\_854delCAAT” (p.Asn284Argfs\*2) no gene *RAD51C*. A análise foi negativa para os tumores de mama da família, inclusive para a mãe com tumor de mama bilateral. A variante segregou pelo lado paterno, pois o pai foi

positivo e teve diagnóstico de tumor de bexiga aos 73 anos e pulmão aos 76 anos (conforme heredograma da família). Observa-se nesta família também, outros tumores relacionados ao gene e descarta-se o fenótipo de câncer de mama pela segregação familiar<sup>172</sup>. É possível também que as causas de câncer de mama do lado materno sejam por outra alteração ainda não estudada, e que talvez o tumor de mama da index do estudo de Jun Li *et al* (que é positiva como o pai para variante *frameshift* em *RAD51C*) não esteja relacionado com a deleção no gene.

Foi identificada a VUS c.244C>T também no gene *RAD51C* mas que não foi possível realizar análise de segregação. A variante germinativa, presente na FC 598, é considerada classe 3 pela ACMG e também VUS por todos os depositantes do ClinVar. Recebeu uma evidência de suporte de patogenicidade relacionada à frequência populacional (PM2) e uma evidência de benignidade relacionada aos programas de predição *in silico* (BP4), reforçando uma significância incerta. A história familiar da paciente apresentou um familiar de 1º grau com tumor de mama aos 39 anos, um familiar de 2º grau com tumor de próstata aos 71 anos e uma familiar de 3º grau com tumor de mama aos 48 anos. Nota-se que também nesta família com variante em *RAD51C*, não houve casos de tumores de ovário.

Cabe ressaltar que frente ao resultado genético com presença de uma VUS em *RAD51C*, o manejo médico torna-se ainda mais complexo e uma análise personalizada é sempre a principal recomendação. Os *guidelines* (NCCN)<sup>13</sup> recomendam também considerar após os 45 anos salpingo-ooforectomia para portadores de variantes germinativas patogênicas confirmadas.

Embora haja relatos conflitantes na literatura sobre o manejo do paciente nas variantes classe 3, diretrizes da Sociedade Brasileira de Genética Médica<sup>178</sup> recomendam que indivíduos com um VUS devem ser gerenciados com base no risco do gene juntamente com a história pessoal e familiar do câncer. Discutir resultados genéticos com os pacientes, principalmente de variantes tipo VUS ou variantes patogênicas em genes de associação de risco não bem fundamentados, não é uma realidade fácil. É um desafio para os clínicos, e para seus pacientes, que enfrentam decisões sobre triagem e estratégias de prevenção em diferentes resultados.

Adicionalmente estes resultados podem ainda não trazer respostas à causa de câncer para determinadas famílias, gerando ansiedade e frustração. O crescente número



de painéis disponíveis hoje faz com que “estas novas alterações” sejam identificadas, sendo algumas sem um consenso entre pesquisadores de patogenicidade. Frente à esta nova realidade, avaliar a variante através de uma ampla gama de estratégias é imprescindível. O ideal seria realizar estudos funcionais mais aprofundados para a avaliação de função e impacto biológico. Entretanto, análises de segregação são de certa forma o primeiro passo para se definir uma possível relação gene-doença<sup>136</sup>. São análises de baixo custo e que muitas vezes podem descartar em um primeiro momento, a continuidade para estudos funcionais, por exemplo, em variantes não segregadas. Além disso, avaliar fatores de risco da história pessoal e testar os familiares torna a assistência mais personalizada. Resultados negativos de segregação em variantes patogênicas tipo *frameshift* ou de sítio de *splicing* em genes sem associação de risco definida, também são relevantes, visto que a frequência de alterações é baixa e as variantes são raras.

Cabe por fim destacar que o desafio de se implementar painéis em nossa realidade brasileira é notável. Estas novas tecnologias são caras e os resultados necessitam de uma avaliação clínica diferenciada. Para a grande maioria dos brasileiros que dependem da rede pública de saúde este cenário ainda está longe de ser efetuado. Entretanto, praticamente nestes últimos dois anos, a opinião por parte dos profissionais clínicos em relação ao uso de painéis mudou bastante. A maioria dos oncogeneticistas brasileiros hoje entende que a utilização de painéis possui um benefício inegável quando se investiga genes já fundamentados (inclusive na NCCN), e o ideal seria que todas as pessoas com câncer de mama e ovário pudessem ter acesso à investigação e ao acompanhamento genético quando necessário.

## CONCLUSÃO

Do grupo de 52 mulheres não relacionadas, com história pessoal e familiar sugestiva de câncer de mama e/ou ovário, identificou-se 2 variantes germinativas patogênicas e 13 variantes germinativas de significado clínico desconhecido através do sequenciamento do painel gênico.

De acordo com o banco de dados ClinVar 31 variantes foram classificadas como benignas ou provavelmente benignas, 6 com conflito de patogenicidade (dados conflitantes entre classes 1, 2 e 3), 9 classificadas como VUS, 3 como provavelmente patogênicas e 6 variantes não foram relatadas (NR). Já no banco de dados HGMD, 9 variantes foram classificadas como benignas, 10 como VUS, 4 como variantes germinativas patogênicas e 32 não foram relatadas neste banco (NR).

Pela ACMG, 34 variantes foram classificadas como “classes 1 e 2”, 17 variantes germinativas classificadas como “classe 3”, 1 variante como “classe 4” e 3 variantes germinativas como “classe 5”.

Pelo bancos de dados gnomAD e AbraOM, 7 variantes (das 55) possuíram uma frequência maior 5%, descartando dessa maneira uma possível patogenicidade.

Na classificação realizada pelos programas de predição *in silico* houve discordância entre os programas, porém observa-se 100% de concordância nas predições de patogenicidade na variante germinativa c.1036C>T no gene *CHEK2* (única variante acima de 0,7 pela ferramenta REVEL), classificada por todas as ferramentas como Patogênica e 77,7% de concordância na variante germinativa c.1312G>T também no gene *CHEK2*, classificada também como patogênica.

A realização da análise de segregação em 5 famílias permitiu estabelecer uma associação com a presença da variante e o risco do câncer para uma família (variante c.316C>T no gene *BRIP1*). Para quatro famílias, a análise de segregação possibilitou hipotetizar que não existe associação entre a presença das variantes (*RAD51C* c.1009G>T / *CHEK2* c.1036C>T / *BRIP1* c.316C>T / *ATM* c.4709T>C / *MRE11A* c.482A>G / *ATM* c.9086G>A) e a doença segregando na família.

Correlacionando as variantes patogênicas/possivelmente patogênicas e VUS com a história familiar, destacamos a variante c.316C>T no gene *BRIP1* da FC 306 que além de apresentar múltiplos tumores, o fenótipo melanoma estava presente corroborando com a literatura. A não segregação da VUS c.1009G>T no gene *RAD51C* com a doença na família,

corroborou de certa forma com a literatura pelo fato da forte associação de risco do gene com tumores de ovário, e que foram ausentes na família estudada. Além disso, o subtipo histológico TPN também não esteve presente na família e, portanto, corroborou com estudos que sugerem que o subtipo molecular tenha associação com o *RAD51C*<sup>120</sup>.

Neste estudo, de acordo com os objetivos propostos, as variantes germinativas classe 3, 4 e 5 encontradas no painel gênico foram avaliadas através de ferramentas que possibilitam entender melhor o padrão de hereditariedade e patogenicidade de cada uma delas. Esta análise contribui para que no futuro novas estratégias de gerenciamento de risco possam ser estabelecidas também para genes não-sindrômicos de moderado risco ao CMOH.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Pharoah PD, Antoniou A, Bobrow M, Zimmern RL, Easton DF, Ponder BA. *Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention*. **Nat Genet**. 2002;31(1):33-6.
2. Wen H, Kim YC, Snyder C, Xiao F, Fleissner EA, Becirovic D, et al. *Family-specific, novel, deleterious germline variants provide a rich resource to identify genetic predispositions for BRCAx familial breast cancer*. **BMC Cancer**. 2014;14:470.
3. Doherty J, Bonadies DC, Matloff ET. *Testing for Hereditary Breast Cancer: Panel or Targeted Testing? Experience from a Clinical Cancer Genetics Practice*. **J Genet Couns**. 2015;24(4):683-7.
4. Shih JH, Chatterjee N. *Analysis of survival data from case-control family studies*. **Biometrics**. 2002;58(3):502-9.
5. Eisen A, Lubinski J, Klijn J, Moller P, Lynch HT, Offit K, et al. *Breast cancer risk following bilateral oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: an international case-control study*. **J Clin Oncol**. 2005;23(30):7491-6.
6. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL, Narod SA, Van't Veer L, Garber JE, et al. *Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations*. **N Engl J Med**. 2002;346(21):1616-22.
7. Kauff ND, Satagopan JM, Robson ME, Scheuer L, Hensley M, Hudis CA, et al. *Risk-reducing salpingo-oophorectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation*. **N Engl J Med**. 2002;346(21):1609-15.
8. Rebbeck TR. *Inherited genetic predisposition in breast cancer. A population-based perspective*. **Cancer**. 1999;86(11 Suppl):2493-501.
9. Hartmann LC, Sellers TA, Schaid DJ, Frank TS, Soderberg CL, Sitta DL, et al. *Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in BRCA1 and BRCA2 gene mutation carriers*. **J Natl Cancer Inst**. 2001;93(21):1633-7.
10. Eisen A, Rebbeck TR, Wood WC, Weber BL. *Prophylactic surgery in women with a hereditary predisposition to breast and ovarian cancer*. **J Clin Oncol**. 2000;18(9):1980-95.
11. Meijers-Heijboer H, van Geel B, van Putten WL, Henzen-Logmans SC, Seynaeve C, Menke-Pluymers MB, et al. *Breast cancer after prophylactic bilateral mastectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation*. **N Engl J Med**. 2001;345(3):159-64.

12. Domchek SM, Friebel TM, Singer CF, Evans DG, Lynch HT, Isaacs C, et al. *Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality.* **JAMA.** 2010;304(9):967-75.
13. [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/genetics\\_screening.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_screening.pdf). **NCCN Guidelines.** [Internet] 2019.
14. Meropol NJ, Schulman KA. *Cost of cancer care: issues and implications.* **J Clin Oncol.** 2007;25(2):180-6.
15. Grusenmeyer PA, Wong YN. *Interpreting the economic literature in oncology.* **J Clin Oncol.** 2007;25(2):196-202.
16. Morgan D, Sylvester H, Lucas FL, Miesfeldt S. *Cancer prevention and screening practices among women at risk for hereditary breast and ovarian cancer after genetic counseling in the community setting.* **Fam Cancer.** 2009;8(4):277-87.
17. Broca P. *Traité des Tumeurs.* Paris: Asselin. 1866.
18. Easton DF. *Familial risks of breast cancer.* **Breast Cancer Res.** 2002;4(5):179-81.
19. Page DL. *Breast cancer pathology reporting practice and guidelines.* **J Am Coll Surg.** 2003;196(1):89-90.
20. Carraro DM, Koike Folgueira MA, Garcia Lisboa BC, Ribeiro Olivieri EH, Vitorino Krepischi AC, de Carvalho AF, et al. *Comprehensive analysis of BRCA1, BRCA2 and TP53 germline mutation and tumor characterization: a portrait of early-onset breast cancer in Brazil.* **PLoS One.** 2013;8(3):e57581.
21. Crispo A, D'Aiuto G, De Marco M, Rinaldo M, Grimaldi M, Capasso I, et al. *Gail model risk factors: impact of adding an extended family history for breast cancer.* **Breast J.** 2008;14(3):221-7.
22. Walsh T, Casadei S, Lee MK, Pennil CC, Nord AS, Thornton AM, et al. *Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing.* **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2011;108(44):18032-7.
23. Hanahan D, Weinberg RA. *Hallmarks of cancer: the next generation.* **Cell.** 2011;144(5):646-74.
24. Couch FJ, Nathanson KL, Offit K. *Two decades after BRCA: setting paradigms in personalized cancer care and prevention.* **Science.** 2014;343(6178):1466-70.

25. Antoniou AC, Easton DF. *Models of genetic susceptibility to breast cancer.* **Oncogene.** 2006;25(43):5898-905.
  
26. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. *A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1.* **Science.** 1994;266(5182):66-71.
  
27. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, et al. *Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13.* **Science.** 1994;265(5181):2088-90.
  
28. Cipollini G, Tommasi S, Paradiso A, Aretini P, Bonatti F, Brunetti I, et al. *Genetic alterations in hereditary breast cancer.* **Ann Oncol.** 2004;15 Suppl 1:17-113.
  
29. Inst JNC. *Cancer risks in BRCA2 mutation carriers.* **J Natl Cancer Inst.** 1999;91(15):1310-6.
  
30. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, Rosen B, Bradley L, Fan I, et al. *Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada.* **J Natl Cancer Inst.** 2006;98(23):1694-706.
  
31. Abkevich V, Zharkikh A, Deffenbaugh AM, Frank D, Chen Y, Shattuck D, et al. *Analysis of missense variation in human BRCA1 in the context of interspecific sequence variation.* **J Med Genet.** 2004;41(7):492-507.
  
32. Lakhani SR, Jacquemier J, Sloane JP, Gusterson BA, Anderson TJ, van de Vijver MJ, et al. *Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations.* **J Natl Cancer Inst.** 1998;90(15):1138-45.
  
33. Passos-Bueno MR, Bertola D, Horovitz DD, de Faria Ferraz VE, Brito LA. *Genetics and genomics in Brazil: a promising future.* **Mol Genet Genomic Med.** 2014;2(4):280-91.
  
34. Venkitaraman AR. *Functions of BRCA1 and BRCA2 in the biological response to DNA damage.* **J Cell Sci.** 2001;114(Pt 20):3591-8.
  
35. Boddy MN, Freemont PS, Borden KL. *The p53-associated protein MDM2 contains a newly characterized zinc-binding domain called the RING finger.* **Trends Biochem Sci.** 1994;19(5):198-9.
  
36. Wu LC, Wang ZW, Tsan JT, Spillman MA, Phung A, Xu XL, et al. *Identification of a RING protein that can interact in vivo with the BRCA1 gene product.* **Nat Genet.** 1996;14(4):430-40.

37. Roukos DH, Briasoulis E. *Individualized preventive and therapeutic management of hereditary breast ovarian cancer syndrome*. **Nat Clin Pract Oncol**. 2007;4(10):578-90.
38. Karhu R, Laurila E, Kallioniemi A, K. S. *Large genomic BRCA2 rearrangements and male breast cancer*. **Cancer Detect Prev**. 2006;30:530-4.
39. Gopie JP, Mureau MA, Seynaeve C, Ter Kuile MM, Menke-Pluymers MB, Timman R, et al. *Body image issues after bilateral prophylactic mastectomy with breast reconstruction in healthy women at risk for hereditary breast cancer*. **Fam Cancer**. 2013;12(3):479-87.
40. Jakub JW, Peled AW, Gray RJ, Greenup RA, Kiluk JV, Sacchini V, et al. *Oncologic Safety of Prophylactic Nipple-Sparing Mastectomy in a Population With BRCA Mutations: A Multi-institutional Study*. **JAMA Surg**. 2018;153(2):123-9.
41. Schrauder MG, Brunel-Geuder L, Haberle L, Wunderle M, Hoyer J, Reis A, et al. *Cost-effectiveness of risk-reducing surgeries in preventing hereditary breast and ovarian cancer*. **Breast**. 2017;32:186-91.
42. Ludwig KK, Neuner J, Butler A, Geurts JL, Kong AL. *Risk reduction and survival benefit of prophylactic surgery in BRCA mutation carriers, a systematic review*. **Am J Surg**. 2016;212(4):660-9.
43. De Felice F, Marchetti C, Musella A, Palaia I, Perniola G, Musio D, et al. *Bilateral risk-reduction mastectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a meta-analysis*. **Ann Surg Oncol**. 2015;22(9):2876-80.
44. Nogues C, Mouret-Fourme E. *[Prophylactic surgery in common hereditary cancer syndromes]*. **Bull Acad Natl Med**. 2012;196(7):1237-45.
45. Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. *Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers*. **J Natl Cancer Inst**. 2009;101(2):80-7.
46. King MC, Wieand S, Hale K, Lee M, Walsh T, Owens K, et al. *Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in BRCA1 and BRCA2: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP-P1) Breast Cancer Prevention Trial*. **JAMA**. 2001;286(18):2251-6.
47. Hoyer J, Vasileiou G, Uebe S, Wunderle M, Kraus C, Fasching PA, et al. *Addition of triple negativity of breast cancer as an indicator for germline mutations in predisposing genes increases sensitivity of clinical selection criteria*. **BMC Cancer**. 2018;18(1):926.

48. Chen H, Wu J, Zhang Z, Tang Y, Li X, Liu S, et al. *Association Between BRCA Status and Triple-Negative Breast Cancer: A Meta-Analysis*. **Front Pharmacol**. 2018;9:909.
49. Network NCC. *Breast Cancer Risk Reduction Version 2.2018*. [Internet] 2018 [cited 12/11/2018]; Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/breast\\_risk.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast_risk.pdf).
50. Network NCC. *Breast Cancer V. 3.2018*. [Internet] 2018 [cited 12/11/2018]; Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/breast.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf).
51. Lord CJ, Ashworth A. *The DNA damage response and cancer therapy*. **Nature**. 2012;481(7381):287-94.
52. Turner N, Tutt A, Ashworth A. *Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers*. **Nat Rev Cancer**. 2004;4(10):814-9.
53. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV, et al. *Signatures of mutational processes in human cancer*. **Nature**. 2013;500(7463):415-21.
54. Hou D, Liu Z, Xu X, Liu Q, Zhang X, Kong B, et al. *Increased oxidative stress mediates the antitumor effect of PARP inhibition in ovarian cancer*. **Redox Biol**. 2018;17:99-111.
55. Robson M, Im SA, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, et al. *Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation*. **N Engl J Med**. 2017;377(6):523-33.
56. Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, Gebski V, Penson RT, Oza AM, et al. *Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial*. **Lancet Oncol**. 2017;18(9):1274-84.
57. Hoskins PJ. *Inadequate Rates of BRCA Testing with its Negative Consequences for Women with Epithelial Ovarian Cancer and their Families: an Overview of the Literature*. **Clin Oncol (R Coll Radiol)**. 2018.
58. Seemann S, Maurici D, Olivier M, Caron de Fromentel C, Hainaut P. *The tumor suppressor gene TP53: implications for cancer management and therapy*. **Crit Rev Clin Lab Sci**. 2004;41(5-6):551-83.
59. Fischer M. *Census and evaluation of p53 target genes*. **Oncogene**. 2017;36(28):3943-56.
60. May P, May E. *Twenty years of p53 research: structural and functional aspects of the p53 protein*. **Oncogene**. 1999;18(53):7621-36.



61. Davison TS, Yin P, Nie E, Kay C, Arrowsmith CH. *Characterization of the oligomerization defects of two p53 mutants found in families with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndrome.* **Oncogene.** 1998;17(5):651-6.
62. McBride KA, Ballinger ML, Killick E, Kirk J, Tattersall MH, Eeles RA, et al. *Li-Fraumeni syndrome: cancer risk assessment and clinical management.* **Nat Rev Clin Oncol.** 2014;11(5):260-71.
63. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF, Jr., Nelson CE, Kim DH, et al. *Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms.* **Science.** 1990;250(4985):1233-8.
64. Wang X, Liu Z. *Systematic meta-analysis of genetic variants associated with osteosarcoma susceptibility.* **Medicine (Baltimore).** 2018;97(38):e12525.
65. Wang J, Liu Q, Yuan S, Xie W, Liu Y, Xiang Y, et al. *Genetic predisposition to lung cancer: comprehensive literature integration, meta-analysis, and multiple evidence assessment of candidate-gene association studies.* **Sci Rep.** 2017;7(1):8371.
66. Lustbader ED, Williams WR, Bondy ML, Strom S, Strong LC. *Segregation analysis of cancer in families of childhood soft-tissue-sarcoma patients.* **Am J Hum Genet.** 1992;51(2):344-56.
67. Bougeard G, Sesboue R, Baert-Desurmont S, Vasseur S, Martin C, Tinat J, et al. *Molecular basis of the Li-Fraumeni syndrome: an update from the French LFS families.* **J Med Genet.** 2008;45(8):535-8.
68. Birch JM, Hartley AL, Tricker KJ, Prosser J, Condie A, Kelsey AM, et al. *Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families.* **Cancer Res.** 1994;54(5):1298-304.
69. Bougeard G, Renaux-Petel M, Flaman JM, Charbonnier C, Fermey P, Belotti M, et al. *Revisiting Li-Fraumeni Syndrome From TP53 Mutation Carriers.* **J Clin Oncol.** 2015;33(21):2345-52.
70. Silva INdCJAGd. *Rede nacional de cancer familiar, Manual Operacional*2009.
71. Malkin D. *Li-fraumeni syndrome.* **Genes Cancer.** 2011;2(4):475-84.
72. Ribeiro RC, Sandrini F, Figueiredo B, Zambetti GP, Michalkiewicz E, Lafferty AR, et al. *An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma.* **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2001;98(16):9330-5.

73. Achatz MI, Olivier M, Le Calvez F, Martel-Planche G, Lopes A, Rossi BM, et al. *The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families.* **Cancer Lett.** 2007;245(1-2):96-102.
74. Palmero EI, Schuler-Faccini L, Caleffi M, Achatz MI, Olivier M, Martel-Planche G, et al. *Detection of R337H, a germline TP53 mutation predisposing to multiple cancers, in asymptomatic women participating in a breast cancer screening program in Southern Brazil.* **Cancer Lett.** 2008;261(1):21-5.
75. Andrade KC, Santiago KM, Fortes FP, Mambelli LI, Nobrega AF, Achatz MI. *Early-onset breast cancer patients in the South and Southeast of Brazil should be tested for the TP53 p.R337H mutation.* **Genet Mol Biol.** 2016;39(2):199-202.
76. Formiga M, de Andrade KC, Kowalski LP, Achatz MI. *Frequency of Thyroid Carcinoma in Brazilian TP53 p.R337H Carriers With Li Fraumeni Syndrome.* **JAMA Oncol.** 2017;3(10):1400-2.
77. Eng C. *Will the real Cowden syndrome please stand up: revised diagnostic criteria.* **J Med Genet.** 2000;37(11):828-30.
78. Bonneau D, Longy M. *Mutations of the human PTEN gene.* **Hum Mutat.** 2000;16(2):109-22.
79. GeneCards. [Internet] 1996-2016 Available from: <http://www.genecards.org>.
80. Pharoah PD, Guilford P, Caldas C. *Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families.* **Gastroenterology.** 2001;121(6):1348-53.
81. van der Post RS, Vogelaar IP, Carneiro F, Guilford P, Huntsman D, Hoogerbrugge N, et al. *Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers.* **J Med Genet.** 2015;52(6):361-74.
82. Schrader KA, Masciari S, Boyd N, Wiyrick S, Kaurah P, Senz J, et al. *Hereditary diffuse gastric cancer: association with lobular breast cancer.* **Fam Cancer.** 2008;7(1):73-82.
83. Blanche P Alter M, MPH, FAAP and Gary Kupfer, MD. *GenesReviews.* [Internet] 2013.
84. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pylkas K, Roberts J, et al. *Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2.* **N Engl J Med.** 2014;371(6):497-506.
85. Jones S, Hruban RH, Kamiyama M, Borges M, Zhang X, Parsons DW, et al. *Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene.* **Science.** 2009;324(5924):217.

86. Aoude LG, Xu M, Zhao ZZ, Kovacs M, Palmer JM, Johansson P, et al. *Assessment of PALB2 as a candidate melanoma susceptibility gene*. **PLoS One**. 2014;9(6):e100683.
87. Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, Phillips KA, Mooij TM, Roos-Blom MJ, et al. *Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers*. **JAMA**. 2017;317(23):2402-16.
88. Couch FJ, Shimelis H, Hu C, Hart SN, Polley EC, Na J, et al. *Associations Between Cancer Predisposition Testing Panel Genes and Breast Cancer*. **JAMA Oncol**. 2017;3(9):1190-6.
89. Slavin TP, Maxwell KN, Lilyquist J, Vijai J, Neuhausen SL, Hart SN, et al. *The contribution of pathogenic variants in breast cancer susceptibility genes to familial breast cancer risk*. **NPJ Breast Cancer**. 2017;3:22.
90. Ensembl. *Ensembl*. [Internet] 2015 [cited 2015].
91. Chiang JM, Chen TC. *Clinical manifestations and STK11 germline mutations in Taiwanese patients with Peutz-Jeghers syndrome*. **Asian J Surg**. 2018;41(5):480-5.
92. Meserve EE, Nucci MR. *Peutz-Jeghers Syndrome: Pathobiology, Pathologic Manifestations, and Suggestions for Recommending Genetic Testing in Pathology Reports*. **Surg Pathol Clin**. 2016;9(2):243-68.
93. Hearle N, Schumacher V, Menko FH, Olschwang S, Boardman LA, Gille JJ, et al. *STK11 status and intussusception risk in Peutz-Jeghers syndrome*. **J Med Genet**. 2006;43(8):e41.
94. Karuman P, Gozani O, Odze RD, Zhou XC, Zhu H, Shaw R, et al. *The Peutz-Jegher gene product LKB1 is a mediator of p53-dependent cell death*. **Mol Cell**. 2001;7(6):1307-19.
95. Gronwald J, Cybulski C, Piesiak W, Suchy J, Huzarski T, Byrski T, et al. *Cancer risks in first-degree relatives of CHEK2 mutation carriers: effects of mutation type and cancer site in proband*. **Br J Cancer**. 2009;100(9):1508-12.
96. 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):1308-14.
97. Weischer M, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, Axelsson CK, Nordestgaard BG. *Increased risk of breast cancer associated with CHEK2\*1100delC*. **J Clin Oncol**. 2007;25(1):57-63.

98. Pearlman R, Frankel WL, Swanson B, Zhao W, Yilmaz A, Miller K, et al. *Prevalence and Spectrum of Germline Cancer Susceptibility Gene Mutations Among Patients With Early-Onset Colorectal Cancer*. **JAMA Oncol**. 2017;3(4):464-71.
99. Uhrhammer N, Bay JO, Bignon YJ. *Seventh International Workshop on Ataxia-Telangiectasia*. **Cancer Res**. 1998;58(15):3480-5.
100. Hartlerode AJ, Scully R. *Mechanisms of double-strand break repair in somatic mammalian cells*. **Biochem J**. 2009;423(2):157-68.
101. Paglia LL, Lauge A, Weber J, Champ J, Cavaciuti E, Russo A, et al. *ATM germline mutations in women with familial breast cancer and a relative with haematological malignancy*. **Breast Cancer Res Treat**. 2010;119(2):443-52.
102. van Os NJ, Roeleveld N, Weemaes CM, Jongmans MC, Janssens GO, Taylor AM, et al. *Health risks for ataxia-telangiectasia mutated heterozygotes: A systematic review, Meta-analysis and evidence-based guideline*. **Clin Genet**. 2015.
103. Lavin MF. *ATM and the Mre11 complex combine to recognize and signal DNA double-strand breaks*. **Oncogene**. 2007;26(56):7749-58.
104. Heikkinen K, Karppinen SM, Soini Y, Makinen M, Winqvist R. *Mutation screening of Mre11 complex genes: indication of RAD50 involvement in breast and ovarian cancer susceptibility*. **J Med Genet**. 2003;40(12):e131.
105. Digweed M, Sperling K. *Nijmegen breakage syndrome: clinical manifestation of defective response to DNA double-strand breaks*. **DNA Repair (Amst)**. 2004;3(8-9):1207-17.
106. Aloraifi F, McDevitt T, Martiniano R, McGreevy J, McLaughlin R, Egan CM, et al. *Detection of novel germline mutations for breast cancer in non-BRCA1/2 families*. **FEBS J**. 2015;282(17):3424-37.
107. Damiola F, Pertesi M, Oliver J, Le Calvez-Kelm F, Voegelé C, Young EL, et al. *Rare key functional domain missense substitutions in MRE11A, RAD50, and NBN contribute to breast cancer susceptibility: results from a Breast Cancer Family Registry case-control mutation-screening study*. **Breast Cancer Res**. 2014;16(3):R58.
108. Hauke J, Horvath J, Gross E, Gehrig A, Honisch E, Hackmann K, et al. *Gene panel testing of 5589 BRCA1/2-negative index patients with breast cancer in a routine diagnostic setting: results of the German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer*. **Cancer Med**. 2018;7(4):1349-58.

109. Rafnar T, Gudbjartsson DF, Sulem P, Jonasdottir A, Sigurdsson A, Jonasdottir A, et al. *Mutations in BRIP1 confer high risk of ovarian cancer.* **Nat Genet.** 2011;43(11):1104-7.
110. Weber-Lassalle N, Hauke J, Ramser J, Richters L, Gross E, Blumcke B, et al. *BRIP1 loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer.* **Breast Cancer Res.** 2018;20(1):7.
111. Howlett NG, Taniguchi T, Olson S, Cox B, Waisfisz Q, De Die-Smulders C, et al. *Biallelic inactivation of BRCA2 in Fanconi anemia.* **Science.** 2002;297(5581):606-9.
112. Stoepker C, Hain K, Schuster B, Hilhorst-Hofstee Y, Rooimans MA, Steltenpool J, et al. *SLX4, a coordinator of structure-specific endonucleases, is mutated in a new Fanconi anemia subtype.* **Nat Genet.** 2011;43(2):138-41.
113. Bakker JL, van Mil SE, Crossan G, Sabbaghian N, De Leeneer K, Poppe B, et al. *Analysis of the novel fanconi anemia gene SLX4/FANCP in familial breast cancer cases.* **Hum Mutat.** 2013;34(1):70-3.
114. Thacker J. *The RAD51 gene family, genetic instability and cancer.* **Cancer Lett.** 2005;219(2):125-35.
115. Pellegrini L, Yu DS, Lo T, Anand S, Lee M, Blundell TL, et al. *Insights into DNA recombination from the structure of a RAD51-BRCA2 complex.* **Nature.** 2002;420(6913):287-93.
116. Meindl A, Hellebrand H, Wiek C, Erven V, Wappenschmidt B, Niederacher D, et al. *Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene.* **Nat Genet.** 2010;42(5):410-4.
117. Osorio A, Endt D, Fernandez F, Eirich K, de la Hoya M, Schmutzler R, et al. *Predominance of pathogenic missense variants in the RAD51C gene occurring in breast and ovarian cancer families.* **Hum Mol Genet.** 2012;21(13):2889-98.
118. Loveday C, Turnbull C, Ramsay E, Hughes D, Ruark E, Frankum JR, et al. *Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer.* **Nat Genet.** 2011;43(9):879-82.
119. Song H, Dicks E, Ramus SJ, Tyrer JP, Intermaggio MP, Hayward J, et al. *Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population.* **J Clin Oncol.** 2015;33(26):2901-7.
120. Buys SS, Sandbach JF, Gammon A, Patel G, Kidd J, Brown KL, et al. *A study of over 35,000 women with breast cancer tested with a 25-gene panel of hereditary cancer genes.* **Cancer.** 2017;123(10):1721-30.

121. Venesio T, Balsamo A, D'Agostino VG, Ranzani GN. *MUTYH-associated polyposis (MAP), the syndrome implicating base excision repair in inherited predisposition to colorectal tumors*. **Front Oncol**. 2012;2:83.
122. Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, Livingston AL, Williams GT, et al. *Inherited variants of MYH associated with somatic G:C->T:A mutations in colorectal tumors*. **Nat Genet**. 2002;30(2):227-32.
123. Rennert G, Lejbkowitz F, Cohen I, Pinchev M, Rennert HS, Barnett-Griness O. *MutYH mutation carriers have increased breast cancer risk*. **Cancer**. 2012;118(8):1989-93.
124. Fanale D, Amodeo V, Corsini LR, Rizzo S, Bazan V, Russo A. *Breast cancer genome-wide association studies: there is strength in numbers*. **Oncogene**. 2012;31(17):2121-8.
125. Filippini SE, Vega A. *Breast cancer genes: beyond BRCA1 and BRCA2*. **Front Biosci (Landmark Ed)**. 2013;18:1358-72.
126. Ghoussaini M, Fletcher O, Michailidou K, Turnbull C, Schmidt MK, Dicks E, et al. *Genome-wide association analysis identifies three new breast cancer susceptibility loci*. **Nat Genet**. 2012;44(3):312-8.
127. Lerner-Ellis J, Khalouei S, Sopik V, Narod SA. *Genetic risk assessment and prevention: the role of genetic testing panels in breast cancer*. **Expert Rev Anticancer Ther**. 2015;15(11):1315-26.
128. van Veen EM, Brentnall AR, Byers H, Harkness EF, Astley SM, Sampson S, et al. *Use of Single-Nucleotide Polymorphisms and Mammographic Density Plus Classic Risk Factors for Breast Cancer Risk Prediction*. **JAMA Oncol**. 2018;4(4):476-82.
129. Nielsen FC, van Overeem Hansen T, Sorensen CS. *Hereditary breast and ovarian cancer: new genes in confined pathways*. **Nat Rev Cancer**. 2016;16(9):599-612.
130. Costa JL, Sousa S, Justino A, Kay T, Fernandes S, Cirnes L, et al. *Nonoptical massive parallel DNA sequencing of BRCA1 and BRCA2 genes in a diagnostic setting*. **Hum Mutat**. 2013;34(4):629-35.
131. So D, Joly Y. *Commercial Opportunities and Ethical Pitfalls in Personalized Medicine: A Myriad of Reasons to Revisit the Myriad Genetics Saga*. **Curr Pharmacogenomics Person Med**. 2013;11(2):98-109.

132. Kurian AW, Hare EE, Mills MA, Kingham KE, McPherson L, Whittemore AS, et al. *Clinical evaluation of a multiple-gene sequencing panel for hereditary cancer risk assessment*. **J Clin Oncol**. 2014;32(19):2001-9.
133. Schroeder C, Faust U, Sturm M, Hackmann K, Grundmann K, Harmuth F, et al. *HBOC multi-gene panel testing: comparison of two sequencing centers*. **Breast Cancer Res Treat**. 2015;152(1):129-36.
134. <http://exac.broadinstitute.org/about>. ExAC. [Internet].
135. Easton DF, Pharoah PD, Antoniou AC, Tischkowitz M, Tavtigian SV, Nathanson KL, et al. *Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk*. **N Engl J Med**. 2015;372(23):2243-57.
136. Coppa A, Nicolussi A, D'Inzeo S, Capalbo C, Belardinilli F, Colicchia V, et al. *Optimizing the identification of risk-relevant mutations by multigene panel testing in selected hereditary breast/ovarian cancer families*. **Cancer Med**. 2018;7(1):46-55.
137. Metzker ML. *Sequencing technologies - the next generation*. **Nat Rev Genet**. 2010;11(1):31-46.
138. Information NCfB. *Clinvar*. [Internet]: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
139. HGMD. *Human Gene Mutation Database (URL: [www.hgmd.cf.ac.uk](http://www.hgmd.cf.ac.uk))*.
140. <https://varsome.com/community-contributions/>. *Varsome*. [Internet].
141. 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;17(5):405-24.
142. <http://gnomad.broadinstitute.org/> S. Monkol L, Konrad JK, Eric VM, Kaitlin ES, Eric B, Timothy F, Anne H O'D-L, James SW, Andrew JH, Beryl BC, Taru T, Daniel PB, Jack AK, Laramie ED, Karol E, Fengmei Z, James Z, Emma P-H, Joanne B, David NC, Nicole D, Mark DeP, Ron D, Jason F, Menachem F, Laura G, Jackie G, Namrata G, Daniel H, Adam K, Mitja IK, Ami LM, Pradeep N, Lorena O, Gina MP, Ryan P, Manuel AR, Valentin R-R, Samuel AR, Douglas MR, Khalid S, Peter DS, Christine S, Brett PT, Grace T, Maria TT-L, Ben W, Hong-Hee W, Dongmei Y, David MA, Diego A, Michael B, John D, Stacey D, Roberto E, Jose CF, Stacey BG, Gad G, Stephen JG, Christina MH, Sekar K, Markku L, Steven McC, Mark IMcC, Dermot McG, Ruth McP, Benjamin MN, Aarno P, Shaun MP,

Danish S, Jeremiah MS, Pamela S, Patrick FS, Jaakko T, Ming TT, Hugh CW, James GW, Mark JD, Daniel G McA & Exome Aggregation. [Internet].

143. ABraOM. [abraom.ib.usp.br/](http://abraom.ib.usp.br/). [Internet].

144. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn HJ, et al. *Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011*. **Ann Oncol**. 2011;22(8):1736-47.

145. 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.

146. COSMIC. *Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer* (URL: [www.Sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic](http://www.Sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic))

147. PolyPhen-2. *PolyPhen-2* (URL: [www.genetics.bwh.harvard.edu/pph2](http://www.genetics.bwh.harvard.edu/pph2)).

148. MutationTaster. *MutationTaster* (URL: [www.mutationtaster.org](http://www.mutationtaster.org)).

149. AlignGVGD. *Align GVG D* (URL: [http://agvqd.iarc.fr/agvqd\\_input.php](http://agvqd.iarc.fr/agvqd_input.php)).

150. SIFT. *Sorting Intolerant from Tolerant* (URL: <http://sift.bii.a-star.edu.sg/>).

151. Panther. *Panther* (URL: [http://www.pantherdb.org/tips/tips\\_csnpScores.jsp](http://www.pantherdb.org/tips/tips_csnpScores.jsp)).

152. Desmet FO, Hamroun D, Lalande M, Collod-Beroud G, Claustres M, Beroud C. *Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals*. **Nucleic Acids Res**. 2009;37(9):e67.

153. Ioannidis NM RJ, Pejaver V, Middha S, McDonnell SK, Baheti S, Musolf A, Li Q, Holzinger E, Karyadi D, Cannon-Albright LA, Teerlink CC, Stanford JL, Isaacs WB, Xu J, Cooney KA, Lange EM, Schleutker J, Carpten JD, Powell IJ, Cussenot O, Cancel-Tassin G, Giles GG, MacInnis RJ, Maier C, Hsieh CL, Wiklund F, Catalona WJ, Foulkes WD, Mandal D, Eeles RA, Kote-Jarai Z, Bustamante CD, Schaid DJ, Hastie T, Ostrander EA, Bailey-Wilson JE, Radivojac P, Thibodeau SN, Whittemore AS, Sieh W. REVEL: An Ensemble Method for Predicting the Pathogenicity of Rare Missense Variants. **Am J Hum Genet**. 2016 Oct 6;99(4):877-885. *Revel*. [Internet].

154. <https://cadd.gs.washington.edu/> S. Kircher M, Witten, DM, Jain P, O'Roak BJ, Cooper GM, Shendure J. *A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants*. **Nat Genet**. 2014 Mar; 46(3): 310–315. [Internet].



155. <http://provean.jcvi.org/index.php> S. Choi Y, Chan AP. *PROVEAN web server: a tool to predict the functional effect of amino acid substitutions and indels*. *Bioinformatics*. 2015, Aug 15;31(16):2745-7. [Internet].
156. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. *Guidelines for diagnostic next-generation sequencing*. **Eur J Hum Genet**. 2016;24(1):2-5.
157. Castera L, Krieger S, Rousselin A, Legros A, Baumann JJ, Bruet O, et al. *Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes*. **Eur J Hum Genet**. 2014;22(11):1305-13.
158. Lee K, Seifert BA, Shimelis H, Ghosh R, Crowley SB, Carter NJ, et al. *Clinical validity assessment of genes frequently tested on hereditary breast and ovarian cancer susceptibility sequencing panels*. **Genet Med**. 2018.
159. Xie Y, Li G, Chen M, Guo X, Tang L, Luo X, et al. *Mutation screening of 10 cancer susceptibility genes in unselected breast cancer patients*. **Clin Genet**. 2018;93(1):41-51.
160. Krivokuca A, Boljevic I, Jovandic S, Magic Z, Mandic A, Tomasevic Z, et al. *Germline mutations in cancer susceptibility genes in high grade serous ovarian cancer in Serbia*. **J Hum Genet**. 2019.
161. Palmero EI, Galvao HC, 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):168-77.
162. Sommer SS, Buzin CH, Jung M, Zheng J, Liu Q, Jeong SJ, et al. *Elevated frequency of ATM gene missense mutations in breast cancer relative to ethnically matched controls*. **Cancer Genet Cytogenet**. 2002;134(1):25-32.
163. Slavin TP, Niell-Swiler M, Solomon I, Nehoray B, Rybak C, Blazer KR, et al. *Clinical Application of Multigene Panels: Challenges of Next-Generation Counseling and Cancer Risk Management*. **Front Oncol**. 2015;5:208.
164. Hogson SVeM, E.R. *A Practical Guide to Human Cancer Genetics*. In: University C, editor. 1993.
165. Eisinger F, Sobol H, Serin D, Whorton JC. *Hereditary breast cancer, circa 1750*. **Lancet**. 1998;351(9112):1366.

166. Southey MC, Goldgar DE, Winqvist R, Pylkas K, Couch F, Tischkowitz M, et al. *PALB2, CHEK2 and ATM rare variants and cancer risk: data from COGS*. **J Med Genet**. 2016;53(12):800-11.
167. Ricci MT, Miccoli S, Turchetti D, Bondavalli D, Viel A, Quaia M, et al. *Type and frequency of MUTYH variants in Italian patients with suspected MAP: a retrospective multicenter study*. **J Hum Genet**. 2017;62(2):309-15.
168. Ma X, Zhang B, Zheng W. *Genetic variants associated with colorectal cancer risk: comprehensive research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence*. **Gut**. 2014;63(2):326-36.
169. Tung N, Lin NU, Kidd J, Allen BA, Singh N, Wenstrup RJ, et al. *Frequency of Germline Mutations in 25 Cancer Susceptibility Genes in a Sequential Series of Patients With Breast Cancer*. **J Clin Oncol**. 2016;34(13):1460-8.
170. Ramus SJ, Song H, Dicks E, Tyrer JP, Rosenthal AN, Intermaggio MP, et al. *Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer*. **J Natl Cancer Inst**. 2015;107(11).
171. Chan GHJ, Ong PY, Low JJH, Kong HL, Ow SGW, Tan DSP, et al. *Clinical genetic testing outcome with multi-gene panel in Asian patients with multiple primary cancers*. **Oncotarget**. 2018;9(55):30649-60.
172. Li J, Meeks H, Feng BJ, Healey S, Thorne H, Makunin I, et al. *Targeted massively parallel sequencing of a panel of putative breast cancer susceptibility genes in a large cohort of multiple-case breast and ovarian cancer families*. **J Med Genet**. 2016;53(1):34-42.
173. Schubert S, van Luttikhuisen JL, Auber B, Schmidt G, Hofmann W, Penkert J, et al. *The identification of pathogenic variants in BRCA1/2 negative, high risk, hereditary breast and/or ovarian cancer patients: High frequency of FANCM pathogenic variants*. **Int J Cancer**. 2018.
174. Thompson ER, Rowley SM, Li N, McInerney S, Devereux L, Wong-Brown MW, et al. *Panel Testing for Familial Breast Cancer: Calibrating the Tension Between Research and Clinical Care*. **J Clin Oncol**. 2016;34(13):1455-9.
175. Cybulski C, Lubinski J, Wokolorczyk D, Kuzniak W, Kashyap A, Sopik V, et al. *Mutations predisposing to breast cancer in 12 candidate genes in breast cancer patients from Poland*. **Clin Genet**. 2015;88(4):366-70.
176. Hu C, Hart SN, Bamlet WR, Moore RM, Nandakumar K, Eckloff BW, et al. *Prevalence of Pathogenic Mutations in Cancer Predisposition Genes among Pancreatic Cancer Patients*. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. 2016;25(1):207-11.

177. Fewings E, Larionov A, Redman J, Goldgraben 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):489-98.

178. <http://www.sbgm.org.br/publicacoes/diretrizes-da-amb/cancer-familial>.  
Brasileira de Genética Médica. [Internet] 2019.

Sociedade

## ANEXOS

## ANEXO 1. Ficha de coleta do estudo

FICHA DE COLETA - PARTE 1			
BRCAX			
Edenir Inez Palmero			
Dados Demográficos / Pessoais			
1	ID NAP		1
2	ID Oncogenética	Número da família	2
3	ID Diagnóstico	FC (Número)	3
4	RH	_____	4
5	Data de nascimento	DD/MM/AAAA	5
6	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 99- Ignorado	6
7	Data de admissão	DD/MM/AAAA	7
8	Data de admissão na oncogenética	DD/MM/AAAA	8
9	Data de realização do teste genético	DD/MM/AAAA	9
10	Data do último retorno na oncogenética	DD/MM/AAAA	10
11	Status na oncogenética	1- Em acompanhamento; 2- Não retornou; 3- Liberada (alta); 4- Em acompanhamento na origem; 5- Óbito 99- Ignorado	11
12	Cor	1- Branco; 2- Pardo; 3- Negro; 99- Ignorado	12
13	Escolaridade	0- Analfabeto; 1- Sabe ler e escrever; 2- Ensino fundamental incompleto; 3- Ensino fundamental completo; 4- Ensino médio incompleto; 5- Ensino médio completo; 6- Superior incompleto; 7- Superior completo; 8- Pós-graduação; 99- Ignorado	13
14	Estado civil	1- Solteiro(a); 2- Casado(a)/União estável; 3- Viúvo(a); 4- Divorciado(a); 99- Ignorado	14
15	Profissão	Descrever; 99- Ignorado	15
16	Telefone 1	(DDD) _____	16
17	Telefone 2	(DDD) _____	17
18	Telefone para contato	(DDD) _____	18
19	Quem é o contato	Descrever; 99- Ignorado	19
20	Procedência (Cidade)	Descrever; 99- Ignorado	20
21	Procedência (Estado)	Descrever; 99- Ignorado	21
22	Naturalidade (Cidade)	Descrever; 99- Ignorado	22
23	Naturalidade (Estado)	Descrever; 99- Ignorado	23

24	Qual é a origem do seu pai? (Ex. Brasil, Itália, Espanha, Portugal, etc.) Descrever; 99- Ignorado	24	
25	Qual é a origem da sua mãe? (Ex. Brasil, Itália, Espanha, Portugal, etc.) Descrever; 99- Ignorado	25	
26	E-mail Descrever; 99- Ignorado	26	
27	Data da coleta de dados DD/MM/AAAA	27	___/___/___
28	Nome do coletador Descrever	28	
<b>Fatores de Risco</b>			
29	Idade Menarca Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	29	
30	Idade da 1ª gestação Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	30	
31	Tempo de amamentação Em meses; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	31	
32	Estado Menopausal: 1-Pré; 2- Peri; 3- Pós-menopausa; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	32	
33	Idade Menopausa Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	33	
34	TRH 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	34	
35	Quanto tempo de hormonioterapia? Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	35	
36	Fumante 0- Não; 1- Sim, presente; 2- Sim, passado; 99- Ignorado	36	
37	Se é/foi fumante, quanto tempo? Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	37	
38	Se parou, há quanto tempo? Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	38	
39	Etilista 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	39	
40	Peso Em kg; 999- Ignorado	40	
41	Altura Em cm; 999- Ignorado	41	
42	CA ovário: 0- Ausente; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	42	
43	Familiar primeiro grau com CA mama: 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	43	
44	Quantos familiares de primeiro grau com CA de mama Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	44	
45	Número de Biópsias Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	45	
46	Biópsia com Hiperplasia ductal atípica 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	46	
47	Hiperplasia Lobular atípica 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	47	
48	Carcinoma lobular in situ 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	48	
<b>História Médica do PROBANDO/ Informações Clínicas</b>			
49	Sítio tumor primário 1- Mama; 2- Ovário; 3- Cabeça e pescoço; 4- Digestivo; 5- Outros; 99- Ignorado	49	
50	Se outro sítio de tumor primário: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	50	
51	Idade ao primeiro diagnóstico de câncer Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	51	
52	Data do primeiro diagnóstico de câncer DD/MM/AAAA	52	___/___/___

53	Tumor de mama contralateral 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	53	
54	Idade ao diagnóstico do tumor de mama contralateral Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	54	
55	Data do diagnóstico do tumor de mama contralateral DD/MM/AAAA	55	__/__/__
56	Tumor de mama e ovário? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	56	
57	Data da primeira biópsia alterada DD/MM/AAAA	57	__/__/__
58	Múltiplos tumores? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	58	
59	Tem 2º tumor Primário? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	59	
60	Sítio do 2º tumor Primário 1- Mama; 2- Ovário; 3- Cabeça e pescoço; 4- Digestivo; 5- Outros; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	60	
61	Se outro sítio de 2º tumor Primário: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	61	
62	Data do 2º tumor Primário DD/MM/AAAA	62	__/__/__
63	AP do 2º tumor primário Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	63	
64	Tem 3º tumor Primário? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	64	
65	Sítio do 3º tumor Primário 1- Mama; 2- Ovário; 3- Cabeça e pescoço; 4- Digestivo; 5- Outros; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	65	
66	Se outro sítio de 3º tumor Primário: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	66	
67	Data do 3º tumor Primário DD/MM/AAAA	67	__/__/__
<b>Dados do Primeiro tumor primário</b>			
68	Estadiamento Clínico 0- <i>in situ</i> ; 1- IA; 2- IB; 3- IIA; 4- IIB; 5- IIIA; 6- IIIB; 7- IIIC; 8- IV; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	68	
69	Estadio Clínico T 1-T1; 2-T1a; 3-T1b; 4-T1c; 5-T2; 6-T2a; 7-T2b; 8-T2c; 9-T3; 10-T3a; 11-T3b; 12-T3c; 13-T4; 14-T4a; 15-T4b; 16-T4c; 17-T4d; 18-Tx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	69	
70	Estadio Clínico N 0-N0; 1-N1; 2-N1a; 3-N1b; 4-N2a; 5-N2b; 6-N3a; 7-N3b; 8-N3c; 9-Nx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	70	
71	Estadio Clínico M 0-M0; 1-MI; 2-Mx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	71	
72	Estadiamento Patológico 0- <i>in situ</i> ; 1- IA; 2- IB; 3- IIA; 4- IIB; 5- IIIA; 6- IIIB; 7- IIIC; 8- IV; 9- Ausência de neoplasia; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	72	
73	Tamanho do tumor/cirurgia (maior dimensão) Em cm; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	73	
74	Estadiamento T patológico 0-T0; 1-T1; 2-T1a; 3-T1b; 4-T1c; 5-T2; 6-T2a; 7-T2b; 8-T2c; 9-T3; 10-T3a; 11-T3b; 12-T3c; 13-T4; 14-T4a; 15-T4b; 16-T4c; 17-T4d; 18-Tx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	74	
75	Estadiamento N Patológico 0-N0; 1-N1; 2-N2a; 3-N2b; 4-N3a; 5-N3b; 6-N3c; 7-Nx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	75	
76	Estadiamento M Patológico 0-M0; 1-MI; 2-Mx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	76	

77	Tipo histológico 0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso; 7- Adenocarcinoma mucinoso; 8- Adenocarcinoma endometrióide; 9- Adenocarcinoma seroso papilífero; 10- Tum.células claras; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	77	
78	Se outro tipo histológico, qual? <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	78	
79	Grau Histológico de Nottingham 1- G1; 2- G2; 3- G3; 77- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	79	
80	Grau Nuclear 1- G1; 2- G2; 3- G3; 77- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	80	
81	ER: 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Inconclusivo; 3- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	81	
82	PR 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Inconclusivo; 3- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	82	
83	c-erb-2: _____/+++ 0- 0; 1- +; 2- ++; 3- +++; 4- Inconclusivo; 5- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	83	
84	CK56: 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	84	
85	CK14: 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	85	
86	FISH HER 2: 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	86	
87	p53 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	87	
88	KI67: _____/+++++ 0- 0; 1- +; 2- ++; 3- +++; 4- ++++; 5- +++++; 6- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	88	
89	KI67: _____ %; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	89	
90	Tratamento QT neoadjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	90	
91	Resposta Patológica à QT neoadjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	91	
92	Tratamento RxT neoadjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	92	
93	Tratamento cirúrgico mamário 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	93	
94	Data da Ressecção do tumor (Trat. Definitivo) <b>DD/MM/AAAA</b>	94	__/__/____
95	Tipo de cirurgia realizada HCB <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	95	
96	Tratamento cirúrgico axilar 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	96	
97	Números de linfonodos dissecados <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	97	
98	Números de linfonodos positivos <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	98	
99	Tratamento QT adjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	99	
100	Utilizou Platina no tratamento neoadjuvante ou adjuvante? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	100	
101	Tratamento RxT Adjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	101	
102	Tratamento HRM Adjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	102	
103	Realização de mastectomia terapêutica da mama contralateral? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	103	

104	Complicações pós cirúrgicas 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	104	
105	Se sim, qual tipo? Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	105	
106	Realização de mastectomia Profilática 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	106	
107	Realização de ooforectomia profilática 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	107	
108	Realização de Histerectomia 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	108	
109	Tratamento prévio à admissão no HCB: QxT? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	109	
110	Tratamento prévio à admissão no HCB: RxT? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	110	
111	Tratamento prévio à admissão no HCB: cirurgia? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	111	
112	Se sim, detalhar: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	112	
<b>Marcadores - Primeiro tumor primário</b>			
113	34B 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	117	
114	CK8/18 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	118	
115	CK7 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	119	
116	CK20 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	120	
117	Vimentina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	121	
118	Ca 125 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	122	
119	Calretinina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	123	
120	AE1/AE3 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	124	
121	EMA 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	125	
122	S 100 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	126	
123	CD 99 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	127	
124	CK 5/6 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	128	
125	Inibina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	129	
126	WT-1 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	130	
127	P16 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	131	
<b>Imunohistoquímica - Primeiro tumor primário</b>			
128	Se realizou outra IHQ (1), qual marcador? Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	128	
129	Se realizou outra IHQ (1), qual é o resultado? 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	129	
130	Se realizou outra IHQ (2), qual marcador? Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	130	



131	Se realizou outra IHQ (2), qual é o resultado? <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	131	
132	Subtipo Molecular (Se tumor de mama) <b>1- Luminal A; 2- Luminal B; 3- Luminal B1; 4- Luminal B2; 5- HER2; 6- Triplo Negativo; 7- Não definido; 8- Aguarda IHQ; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	132	
<b>Dados do 2º tumor primário</b>			
133	Estadiamento Clínico <b>0- <i>in situ</i>; 1- IA; 2- IB; 3- IIA; 4- IIB; 5- IIIA; 6- IIIB; 7- IIIC; 8- IV; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	133	
134	Estadio Clínico T <b>1- T1; 2- T1a; 3- T1b; 4- T1c; 5- T2; 6- T2a; 7- T2b; 8- T2c; 9- T3; 10- T3a; 11- T3b; 12- T3c; 13- T4; 14- T4a; 15- T4b; 16- T4c; 17- T4d; 18- Tx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	134	
135	Estadio Clínico N <b>0- N0; 1- N1; 2- N1a; 3- N1b; 4- N2a; 5- N2b; 6- N3a; 7- N3b; 8- N3c; 9- Nx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	135	
136	Estadio Clínico M <b>0- M0; 1- M1; 2- Mx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	136	
137	Estadiamento Patológico <b>0- <i>in situ</i>; 1- IA; 2- IB; 3- IIA; 4- IIB; 5- IIIA; 6- IIIB; 7- IIIC; 8- IV; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	137	
138	Tamanho do tumor/cirurgia (maior dimensão) <b>Em cm; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	138	
139	Estadiamento T patológico <b>0- T0; 1- T1; 2- T1a; 3- T1b; 4- T1c; 5- T2; 6- T2a; 7- T2b; 8- T2c; 9- T3; 10- T3a; 11- T3b; 12- T3c; 13- T4; 14- T4a; 15- T4b; 16- T4c; 17- T4d; 18- Tx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	139	
140	Estadiamento N Patológico <b>0- N0; 1- N1; 2- N2a; 3- N2b; 4- N3a; 5- N3b; 6- N3c; 7- Nx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	140	
141	Estadiamento M Patológico <b>0- M0; 1- M1; 2- Mx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	141	
142	Tipo histológico <b>0- Intraductal/<i>in situ</i>; 1- CDI; 2- CLI; 3- Camedular; 4- Cametaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso; 7- Adenocarcinoma mucinoso; 8- Adenocarcinoma endometrióide; 9- Adenocarcinoma seroso papilífero; 10- Tumores de células claras; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	142	
143	Se outro tipo histológico, qual? <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	143	
144	Grau Histológico de Nottingham <b>1- G1; 2- G2; 3- G3; 77- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	144	
145	Grau Nuclear <b>1- G1; 2- G2; 3- G3; 77- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	145	
146	ER: <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Inconclusivo; 3- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	146	
147	PR <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Inconclusivo; 3- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	147	
148	c-erb-2: _____/+++ <b>0- 0; 1- +; 2- ++; 3- +++; 4- Inconclusivo; 5- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	148	
149	CK56: <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	149	
150	CK14: <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	150	
151	FISH HER 2: <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	151	
152	p53 <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	152	
153	KI67: _____/+++++ <b>0- 0; 1- +; 2- ++; 3- +++; 4- ++++; 5- +++++; 6- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	153	
154	KI67: _____ <b>%; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	154	
155	Tratamento QT neoadjuvante <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	155	

156	Resposta Patológica à QT neoadjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	156	
157	Tratamento RxT neoadjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	157	
158	Tratamento cirúrgico mamário 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	158	
159	Data da Resseção do tumor (Trat. Definitivo) DD/MM/AAAA	159	____/____/____
160	Tipo de cirurgia realizada HCB Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	160	
161	Tratamento cirúrgico axilar 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	161	
162	Números de linfonodos dissecados Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	162	
163	Números de linfonodos positivos Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	163	
164	Tratamento QT adjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	164	
165	Utilizou Platina no tratamento neoadjuvante ou adjuvante? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	165	
166	Tratamento RxT Adjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	166	
167	Tratamento HRM Adjuvante 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	167	
168	Realização de mastectomia terapêutica da mama contralateral? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	168	
169	Complicações pós cirúrgicas 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	169	
170	Se sim, qual tipo? Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	170	
171	Realização de mastectomia Profilática 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	171	
172	Realização de ooforectomia profilática 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	172	
173	Realização de Histerectomia 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	173	
174	Tratamento prévio à admissão no HCB: QxT? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	174	
175	Tratamento prévio à admissão no HCB: RxT? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	175	
176	Tratamento prévio à admissão no HCB: cirurgia? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	176	
177	Se sim, detalhar: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	177	
<b>Em caso de tumor de ovário, resultados - 2º tumor primário</b>			
178	34B 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	178	
179	CK8/18 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	179	
180	CK7 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	180	
181	CK20 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	181	
182	Vimentina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	182	
183	Ca 125 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	183	
184	Calretinina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	184	

185	AE1/AE3 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	185	
186	EMA 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	186	
187	S 100 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	187	
188	CD 99 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	188	
189	CK 5/6 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	189	
190	Inibina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	190	
191	WT-1 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	191	
192	P16 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	192	
<b>Imunohistoquímica - 2º tumor primário</b>			
193	Se realizou outra IHQ (1), qual marcador? Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	193	
194	Se realizou outra IHQ (1), qual é o resultado? 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 99- Ignorado	194	
195	Se realizou outra IHQ (2), qual marcador? Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	195	
196	Se realizou outra IHQ (2), qual é o resultado? 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 99- Ignorado	196	
197	Subtipo Molecular (Se tumor de mama) 1- Luminal A; 2- Luminal B; 3- Luminal B1; 4- Luminal B2; 5- HER2; 6- Triplo Negativo; 7- Não definido; 8- Aguarda IHQ; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	197	
<b>Dados do 3º tumor primário</b>			
198	Estadiamento Clínico 0- <i>in situ</i> ; 1- IA; 2- IB; 3- IIA; 4- IIB; 5- IIIA; 6- IIIB; 7- IIIC; 8- IV; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	198	
199	Estadio Clínico T 1- T1; 2- T1a; 3- T1b; 4- T1c; 5- T2; 6- T2a; 7- T2b; 8- T2c; 9- T3; 10- T3a; 11- T3b; 12- T3c; 13- T4; 14- T4a; 15- T4b; 16- T4c; 17- T4d; 18- Tx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	199	
200	Estadio Clínico N 0- N0; 1- N1; 2- N1a; 3- N1b; 4- N2a; 5- N2b; 6- N3a; 7- N3b; 8- N3c; 9- Nx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	200	
201	Estadio Clínico M 0- M0; 1- M1; 2- Mx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	201	
202	Estadiamento Patológico 0- <i>in situ</i> ; 1- IA; 2- IB; 3- IIA; 4- IIB; 5- IIIA; 6- IIIB; 7- IIIC; 8- IV; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	202	
203	Tamanho do tumor/cirurgia (maior dimensão) Em cm; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	203	
204	Estadiamento T patológico 0- T0; 1- T1; 2- T1a; 3- T1b; 4- T1c; 5- T2; 6- T2a; 7- T2b; 8- T2c; 9- T3; 10- T3a; 11- T3b; 12- T3c; 13- T4; 14- T4a; 15- T4b; 16- T4c; 17- T4d; 18- Tx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	204	
205	Estadiamento N Patológico 0- N0; 1- N1; 2- N2a; 3- N2b; 4- N3a; 5- N3b; 6- N3c; 7- Nx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	205	
206	Estadiamento M Patológico 0- M0; 1- M1; 2- Mx; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	206	
207	Tipo histológico 0- Intraductal/ <i>in situ</i> ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso; 7- Adenocarcinoma mucinoso; 8- Adenocarcinoma endometrióide; 9- Adenocarcinoma seroso papilífero; 10- Tumores de células claras; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	207	

208	Se outro tipo histológico, qual? <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	208	
209	Grau Histológico de Nottingham <b>1- G1; 2- G2; 3- G3; 77- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	209	
210	Grau Nuclear <b>1- G1; 2- G2; 3- G3; 77- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	210	
211	ER: <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Inconclusivo; 3- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	211	
212	PR <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Inconclusivo; 3- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	212	
213	c-erb-2: _____/+++ <b>0- 0; 1- +; 2- ++; 3- +++; 4- Inconclusivo; 5- Não avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	213	
214	CK56: <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	214	
215	CK14: <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	215	
216	FISH HER 2: <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	216	
217	p53 <b>0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	217	
218	KI67: _____/+++++ <b>0- 0; 1- +; 2- ++; 3- +++; 4- ++++; 5- +++++; 6- Não Avaliado; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	218	
219	KI67: _____ <b>%; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	219	
220	Tratamento QT neoadjuvante <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	220	
221	Resposta Patológica à QT neoadjuvante <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	221	
222	Tratamento RxT neoadjuvante <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	222	
223	Tratamento cirúrgico mamário <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	223	
224	Data da Resseção do tumor (Trat. Definitivo) <b>DD/MM/AAAA</b>	224	
225	Tipo de cirurgia realizada HCB <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	225	
226	Tratamento cirúrgico axilar <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	226	
227	Números de linfonodos dissecados <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	227	
228	Números de linfonodos positivos <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	228	
229	Tratamento QT adjuvante <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	229	
230	Utilizou Platina no tratamento neoadjuvante ou adjuvante? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	230	
231	Tratamento RxT Adjuvante <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	231	
232	Tratamento HRM Adjuvante <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	232	
233	Realização de mastectomia terapêutica da mama contralateral? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	233	
234	Complicações pós cirúrgicas <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	234	
235	Se sim, qual tipo? <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	235	
236	Realização de mastectomia Profilática <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	236	

237	Realização de ooforectomia profilática 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	237	
238	Realização de Histerectomia 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	238	
239	Tratamento prévio à admissão no HCB: QxT? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	239	
240	Tratamento prévio à admissão no HCB: RxT? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	240	
241	Tratamento prévio à admissão no HCB: cirurgia? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	241	
242	Se sim, detalhar: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	242	
<b>Em caso de tumor de ovário, resultados - 3º tumor primário</b>			
243	34B 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	243	
244	CK8/18 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	244	
245	CK7 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	245	
246	CK20 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	246	
247	Vimentina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	247	
248	Ca 125 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	248	
249	Calretinina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	249	
250	AE1/AE3 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	250	
251	EMA 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	251	
252	S 100 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	252	
253	CD 99 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	253	
254	CK 5/6 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	254	
255	Inibina 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	255	
256	WT-1 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	256	
257	P16 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Positivo focal; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	257	
<b>Imunohistoquímica - 3º tumor primário</b>			
258	Se realizou outra IHQ (1), qual marcador? Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	258	
259	Se realizou outra IHQ (1), qual é o resultado? 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 99- Ignorado	259	
260	Se realizou outra IHQ (2), qual marcador? Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	260	
261	Se realizou outra IHQ (2), qual é o resultado? 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não Avaliado; 99- Ignorado	261	
262	Subtipo Molecular (Se tumor de mama) 1- Luminal A; 2- Luminal B; 3- Luminal B1; 4- Luminal B2; 5- HER2; 6- Triplo Negativo; 7- Não definido; 8- Aguarda IHQ; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	262	
<b>Dados do tumor (oncogenética)</b>			
263	O teste genético foi realizado prévio ou posteriormente à realização da cirurgia <b>terapêutica</b> ? 1- Prévio; 2- Posterior; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	263	

264	O teste genético foi realizado prévio ou posteriormente à realização da cirurgia profilática? <b>1-Prévio; 2- Posterior; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	264	
265	Teve dx de tumor posterior à admissão na Oncogenética? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	265	
266	Caso sim, foi por exame de rastreamento solicitado pelo departamento? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	266	
<b>Patologia</b>			
267	E Biópsia 1 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	267	
268	Dx Biópsia 1 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	268	
269	Se outra, qual? (Bx 1) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	269	
270	E Peça 1 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	270	
271	Dx Peça 1 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	271	
272	Se outra, qual? (1) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	272	
273	E Biópsia 2 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	273	
274	Dx Biópsia 2 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	274	
275	Se outra, qual? (Bx 2) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	275	
276	E Peça 2 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	276	
277	Dx Peça 2 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	277	
278	Se outra, qual? (2) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	278	
279	E Biópsia 3 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	279	
280	Dx Biópsia 3 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	280	
281	Se outra, qual? (Bx 3) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	281	
282	E Peça 3 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	282	
283	Dx Peça 3 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	283	
284	Se outra, qual? (3) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	284	
285	E Biópsia 4 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	285	
286	Dx Biópsia 4 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	286	
287	Se outra, qual? (Bx 4) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	287	

288	E Peça 4 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	288	
289	Dx Peça 4 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	289	
290	Se outra, qual? (4) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	290	
291	E Biópsia 5 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	291	
292	Dx Biópsia 5 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	292	
293	Se outra, qual? (Bx 5) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	293	
294	E Peça 5 <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	294	
295	Dx Peça 5 <b>0- Intraductal/in situ; 1- CDI; 2- CLI; 3- Ca medular; 4- Ca metaplásico; 5- Outros; 6- Adenocarcinoma seroso de ovário; 7- carcinoma papilífero; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	295	
296	Se outra, qual? (5) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	296	
297	TCLE Banco de Tumores <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	297	
298	Data TCLE <b>DD/MM/AAAA</b>	298	/ /
299	Houve coleta do sangue para o Banco de Tumores? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	299	
300	Data da coleta do sangue para o Banco de Tumores <b>DD/MM/AAAA</b>	300	___/___/___
301	Preencheu o novo TCLE do biobanco? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	301	
302	Consentiu em participar de projetos de pesquisa? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	302	
303	Caso tenha consentido, optou por ser reconcentrada a cada estudo? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	303	
<b>História Familiar</b>			
304	Síndrome sob suspeita <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	304	
305	Probando <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	305	
306	Investigação <b>1- Lado Paterno; 2- Lado Materno; 3- Consanguíneo</b>	306	
307	Ano do heredograma <b>AAAA; 9999- Ignorado</b>	307	
308	Mãe com câncer <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	308	
309	Se sim, qual tipo? <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	309	
310	Pai com câncer <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	310	
311	Se sim, qual tipo? <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	311	
312	Número de irmãos <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	312	
313	Número de irmãos com câncer <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	313	
314	Número de irmãs <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	314	

315	Número de irmãs com câncer <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	315	
316	Quantos irmãos com câncer abaixo dos 50 anos? <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	316	
317	Quantas irmãs com câncer abaixo dos 50 anos? <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	317	
318	Quantos irmãos com câncer de mama? <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	318	
319	Quantas irmãs com câncer de mama? <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	319	
320	Quantos irmãos com câncer de ovário? <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	320	
321	Número de familiares de 1º grau com câncer de mama <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	321	
322	História familiar de Câncer de mama e/ou ovário <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	322	
323	História familiar de Sarcomas/ADR/ SNC ou tumores pediátricos <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	323	
324	História familiar de tumor papilífero e folicular de tireóide <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	324	
325	História familiar de Câncer gástrico <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	325	
326	Câncer de mama ou ovário em qualquer idade (Nº de casos) <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	326	
327	Presença de Câncer mama < 50 anos <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	327	
328	Número de casos de Câncer de Mama < 50 anos <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	328	
329	Idade de Câncer de Mama mais jovem <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	329	
330	Presença de Câncer de Mama Masculino <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	330	
331	Números de casos de Câncer de Mama Masculino <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	331	
332	Presença de Câncer de Ovário em qualquer idade <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	332	
333	Números de casos de Câncer de Ovário na família <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	333	
334	Presença de Câncer de Mama > 50 anos <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	334	
335	Números de casos de Câncer de Mama > 50 anos <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	335	
336	Tumor mais jovem diagnosticado: tipo <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	336	
337	Tumor mais jovem diagnosticado: idade <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	337	
338	Presença de Mãe Filha/Pares de irmãs com Câncer de Mama < 50 anos <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	338	
339	Presença de Mãe Filha/Pares de irmãs com Câncer de Mama e Ovário <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	339	
340	Presença de Mãe Filha/Pares de irmãs com Câncer de Ovário <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	340	
341	Presença de Câncer de Mama Bilateral <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	341	
342	Números de casos de Câncer de Mama Bilateral <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	342	
343	Presença de Câncer de Pâncreas <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	343	
344	Números de casos de Câncer de Pâncreas <b>Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	344	



345	Presença de Câncer de Próstata 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	345	
346	Números de casos de Câncer de Próstata Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	346	
347	Presença de CCR 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	347	
348	Números de casos de CCR Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	348	
349	Números de casos CCR < 40 anos Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	349	
350	Presença de Câncer Endométrio 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	350	
351	Números de casos de Câncer Endométrio Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	351	
352	Presença de Câncer SNC 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	352	
353	Números de casos de Câncer SNC Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	353	
354	Presença de Sarcomas 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	354	
355	Números de casos de Sarcomas Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	355	
356	Presença de Câncer Adrenocortical 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	356	
357	Números de Câncer Adrenocortical Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	357	
358	Números de gerações afetadas por Câncer Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	358	
359	Total de casos de Câncer Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	359	
360	Presença de óbitos por Câncer 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	360	
361	Números de óbitos por Câncer Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	361	
362	Presença de indivíduos com múltiplos tumores? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	362	
363	Números de familiares de sexo Masculino sem Câncer Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	363	
364	Números de familiares de sexo Feminino sem Câncer Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	364	
<b>Familiar 1 com câncer</b>			
365	Tipo de Tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	365	
366	Idade do familiar Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	366	
367	Idade ao diagnóstico Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	367	
368	Status 0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	368	
369	Grau de parentesco do familiar 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- primopaterno; 14- prima paterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	369	
370	Se outro, especificar: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	370	

371	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	371	
372	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	372	
373	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	373	
374	Se paciente do HCB qual o RH _____ - _____; <b>88- Não se aplica</b>	374	
375	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	375	
376	Se sim, por: 1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; <b>88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	376	
377	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	377	
378	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	378	
<b>Familiar 2 com câncer</b>			
379	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	379	
380	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	380	
381	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	381	
382	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	382	
383	Grau de parentesco do familiar 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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; <b>88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	383	
384	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	384	
385	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	385	
386	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	386	
387	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	387	
388	Se paciente do HCB qual o RH _____ - _____; <b>88- Não se aplica</b>	388	
389	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	389	
390	Se sim, por: 1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; <b>88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	390	
391	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	391	
392	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	392	
<b>Familiar 3 com câncer</b>			
393	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	393	
394	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	394	
395	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	395	

396	Status <b>0-Morto;1-Vivo;99-Ignorado</b>	396	
397	Grau de parentesco do familiar <b>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-primopaterno;14-primapaterna;15-primomaterno;16-prima materna;17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	397	
398	Se outro, especificar: <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	398	
399	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	399	
400	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	400	
401	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	401	
402	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	402	
403	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	403	
404	Se sim, por: <b>1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	404	
405	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	405	
406	Resultado do teste <b>0- Negativo;1- Positivo;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	406	
<b>Familiar 4 com câncer</b>			
407	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	407	
408	Idade do familiar <b>Emanos;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	408	
409	Idade ao diagnóstico <b>Emanos;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	409	
410	Status <b>0-Morto;1-Vivo;99-Ignorado</b>	410	
411	Grau de parentesco do familiar <b>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-primopaterno;14-primapaterna;15-primomaterno;16-prima materna;17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	411	
412	Se outro, especificar: <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	412	
413	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	413	
414	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	414	
415	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever;88- Não se aplica;99- Ignorado</b>	415	
416	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	416	
417	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	417	

418	Se sim, por: 1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	418	
419	Realizou teste genético? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	419	
420	Resultado do teste 0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	420	
<b>Familiar 5 com câncer</b>			
421	Tipo de Tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	421	
422	Idade do familiar Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	422	
423	Idade ao diagnóstico Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	423	
424	Status 0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	424	
425	Grau de parentesco do familiar 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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	425	
426	Se outro, especificar: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	426	
427	Sítio do tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	427	
428	Tipo histológico do tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	428	
429	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	429	
430	Se paciente do HCB qual o RH - ; 88- Não se aplica	430	
431	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	431	
432	Se sim, por: 1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	432	
433	Realizou teste genético? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	433	
434	Resultado do teste 0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	434	
<b>Familiar 6 com câncer</b>			
435	Tipo de Tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	435	
436	Idade do familiar Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	436	
437	Idade ao diagnóstico Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	437	
438	Status 0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	438	
439	Grau de parentesco do familiar 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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16-	439	

	prima materna; <b>17</b> - outro; <b>88</b> - Não se aplica; <b>99</b> - Ignorado		
<b>440</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>440</b>	
<b>441</b>	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>441</b>	
<b>442</b>	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>442</b>	
<b>443</b>	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>443</b>	
<b>444</b>	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	<b>444</b>	
<b>445</b>	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	<b>445</b>	
<b>446</b>	Se sim, por: <b>1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>446</b>	
<b>447</b>	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	<b>447</b>	
<b>448</b>	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>448</b>	
<b>Familiar 7 com câncer</b>			
<b>449</b>	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>449</b>	
<b>450</b>	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>450</b>	
<b>451</b>	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>451</b>	
<b>452</b>	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	<b>452</b>	
<b>453</b>	Grau de parentesco do familiar <b>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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>453</b>	
<b>454</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>454</b>	
<b>455</b>	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>455</b>	
<b>456</b>	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>456</b>	
<b>457</b>	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>457</b>	
<b>458</b>	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	<b>458</b>	
<b>459</b>	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	<b>459</b>	
<b>460</b>	Se sim, por: <b>1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>460</b>	
<b>461</b>	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	<b>461</b>	

462	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	462	
<b>Familiar 8 com câncer</b>			
463	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	463	
464	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	464	
465	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	465	
466	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	466	
467	Grau de parentesco do familiar <b>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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	467	
468	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	468	
469	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	469	
470	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	470	
471	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	471	
472	Se paciente do HCB qual o RH <b>- ; 88- Não se aplica</b>	472	
473	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	473	
474	Se sim, por: <b>1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	474	
475	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	475	
476	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	476	
<b>Familiar 9 com câncer</b>			
477	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	477	
478	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	478	
479	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	479	
480	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	480	
481	Grau de parentesco do familiar <b>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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	481	
482	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	482	
483	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	483	

484	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	484	
485	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	485	
486	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	486	
487	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	487	
488	Se sim, por: 1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; <b>88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	488	
489	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	489	
490	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	490	
<b>Familiar 10 com câncer</b>			
491	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	491	
492	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	492	
493	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	493	
494	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	494	
495	Grau de parentesco do familiar 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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; <b>88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	495	
496	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	496	
497	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	497	
498	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	498	
499	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	499	
500	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	500	
501	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	501	
502	Se sim, por: 1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; <b>88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	502	
503	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	503	
504	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	504	
<b>Familiar 11 com câncer</b>			
505	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	505	
506	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	506	
507	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	507	

508	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	508	
509	Grau de parentesco do familiar <b>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- primopaterno; 14- prima paterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	509	
510	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	510	
511	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	511	
512	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	512	
513	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	513	
514	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	514	
515	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	515	
516	Se sim, por: <b>1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	516	
517	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	517	
518	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	518	
<b>Familiar 12 com câncer</b>			
519	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	519	
520	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	520	
521	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	521	
522	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	522	
523	Grau de parentesco do familiar <b>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- primopaterno; 14- prima paterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	523	
524	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	524	
525	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	525	
526	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	526	
527	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	527	
528	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	528	
529	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	529	



530	Se sim, por: 1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	530	
531	Realizou teste genético? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	531	
532	Resultado do teste 0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	532	
<b>Familiar 13 com câncer</b>			
533	Tipo de Tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	533	
534	Idade do familiar Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	534	
535	Idade ao diagnóstico Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	535	
536	Status 0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	536	
537	Grau de parentesco do familiar 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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	537	
538	Se outro, especificar: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	538	
539	Sítio do tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	539	
540	Tipo histológico do tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	540	
541	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	541	
542	Se paciente do HCB qual o RH - ; 88- Não se aplica	542	
543	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	543	
544	Se sim, por: 1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	544	
545	Realizou teste genético? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	545	
546	Resultado do teste 0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	546	
<b>Familiar 14 com câncer</b>			
547	Tipo de Tumor do familiar Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	547	
548	Idade do familiar Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	548	
549	Idade ao diagnóstico Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	549	
550	Status 0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	550	
551	Grau de parentesco do familiar 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	551	

	materna; <b>13</b> -primopaterno; <b>14</b> -primapaterna; <b>15</b> -primomaterno; <b>16</b> -prima materna; <b>17</b> - outro; <b>88</b> - Não se aplica; <b>99</b> - Ignorado		
<b>552</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>552</b>	
<b>553</b>	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>553</b>	
<b>554</b>	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>554</b>	
<b>555</b>	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>555</b>	
<b>556</b>	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	<b>556</b>	
<b>557</b>	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	<b>557</b>	
<b>558</b>	Se sim, por: <b>1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>558</b>	
<b>559</b>	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	<b>559</b>	
<b>560</b>	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>560</b>	
<b>Familiar 15 com câncer</b>			
<b>561</b>	Tipo de Tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>561</b>	
<b>562</b>	Idade do familiar <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>562</b>	
<b>563</b>	Idade ao diagnóstico <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>563</b>	
<b>564</b>	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	<b>564</b>	
<b>565</b>	Grau de parentesco do familiar <b>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- primopaterno; 14- primapaterna; 15- primomaterno; 16- prima materna; 17- outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>565</b>	
<b>566</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>566</b>	
<b>567</b>	Sítio do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>567</b>	
<b>568</b>	Tipo histológico do tumor do familiar <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>568</b>	
<b>569</b>	Subtipo (incluir as IHQ que o paciente realizou) <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>569</b>	
<b>570</b>	Se paciente do HCB qual o RH - ; <b>88- Não se aplica</b>	<b>570</b>	
<b>571</b>	Parente diagnosticado no departamento de oncogenética <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	<b>571</b>	
<b>572</b>	Se sim, por: <b>1- convocação familiar; 2- Diagnóstico por acompanhamento; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>572</b>	
<b>573</b>	Realizou teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado</b>	<b>573</b>	

574	Resultado do teste <b>0- Negativo; 1- Positivo; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	574	
<b>Familiares sem câncer</b>			
<b>Familiar 1</b>			
575	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	575	
576	Grau de parentesco do familiar <b>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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	576	
577	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	577	
578	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	578	
579	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	579	
580	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	580	
581	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	581	
<b>Familiar 2</b>			
582	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	582	
583	Grau de parentesco do familiar <b>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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	583	
584	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	584	
585	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	585	
586	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	586	
587	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	587	
588	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	588	
<b>Familiar 3</b>			
589	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	589	
590	Grau de parentesco do familiar <b>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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	590	
591	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	591	
592	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	592	

593	Status	0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	593
594	Fez teste genético?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	594
595	Resultado	0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	595
<b>Familiar 4</b>			
596	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	596
597	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		597
598	Se outro, especificar:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	598
599	Idade no dia do heredograma	Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	599
600	Status	0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	600
601	Fez teste genético?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	601
602	Resultado	0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	602
<b>Familiar 5</b>			
603	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	603
604	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		604
605	Se outro, especificar:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	605
606	Idade no dia do heredograma	Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	606
607	Status	0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	607
608	Fez teste genético?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	608
609	Resultado	0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	609
<b>Familiar 6</b>			
610	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	610
611	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		611

612	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	612	
613	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	613	
614	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	614	
615	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	615	
616	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	616	
<b>Familiar 7</b>			
617	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	617	
618	Grau de parentesco do familiar <b>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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	618	
619	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	619	
620	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	620	
621	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	621	
622	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	622	
623	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	623	
<b>Familiar 8</b>			
624	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	624	
625	Grau de parentesco do familiar <b>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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	625	
626	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	626	
627	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	627	
628	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	628	
629	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	629	
630	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	630	
<b>Familiar 9</b>			
631	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	631	
632	Grau de parentesco do familiar <b>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-</b>	632	

	prima paterna; <b>15</b> -primomaterno; <b>16</b> -primamaterna; <b>17</b> -outro; <b>18</b> -filho; <b>19</b> -filha; <b>88</b> - Não se aplica; <b>99</b> - Ignorado		
<b>633</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>633</b>	
<b>634</b>	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>634</b>	
<b>635</b>	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	<b>635</b>	
<b>636</b>	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>636</b>	
<b>637</b>	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>637</b>	
<b>Familiar 10</b>			
<b>638</b>	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>638</b>	
<b>639</b>	Grau de parentesco do familiar <b>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- primomaterno; 16- primamaterna; 17- outro; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>639</b>	
<b>640</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>640</b>	
<b>641</b>	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>641</b>	
<b>642</b>	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	<b>642</b>	
<b>643</b>	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>643</b>	
<b>644</b>	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>644</b>	
<b>Familiar 11</b>			
<b>645</b>	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>645</b>	
<b>646</b>	Grau de parentesco do familiar <b>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- primamaterna; 17- outro; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>646</b>	
<b>647</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>647</b>	
<b>648</b>	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>648</b>	
<b>649</b>	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	<b>649</b>	
<b>650</b>	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>650</b>	
<b>651</b>	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>651</b>	
<b>Familiar 12</b>			
<b>652</b>	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>652</b>	

653	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	653	
654	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	654	
655	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	655	
656	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	656	
657	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	657	
658	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	658	
<b>Familiar 13</b>			
659	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	659	
660	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	660	
661	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	661	
662	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	662	
663	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	663	
664	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	664	
665	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	665	
<b>Familiar 14</b>			
666	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	666	
667	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	667	
668	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	668	
669	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	669	
670	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	670	
671	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	671	
672	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	672	

<b>Familiar 15</b>			
673	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	673
674	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		674
675	Se outro, especificar:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	675
676	Idade no dia do heredograma	Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	676
677	Status	0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	677
678	Fez teste genético?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	678
679	Resultado	0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	679
<b>Familiar 16</b>			
680	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	680
681	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		681
682	Se outro, especificar:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	682
683	Idade no dia do heredograma	Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	683
684	Status	0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	684
685	Fez teste genético?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	685
686	Resultado	0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	686
<b>Familiar 17</b>			
687	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	687
688	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		688
689	Se outro, especificar:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	689
690	Idade no dia do heredograma	Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	690
691	Status	0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	691



692	Fez teste genético?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	692	
693	Resultado	0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	693	
<b>Familiar 18</b>				
694	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	694	
695	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		695	
696	Se outro, especificar:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	696	
697	Idade no dia do heredograma	Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	697	
698	Status	0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	698	
699	Fez teste genético?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	699	
700	Resultado	0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	700	
<b>Familiar 19</b>				
701	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	701	
702	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		702	
703	Se outro, especificar:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	703	
704	Idade no dia do heredograma	Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	704	
705	Status	0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	705	
706	Fez teste genético?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	706	
707	Resultado	0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	707	
<b>Familiar 20</b>				
708	Sexo	1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	708	
709	Grau de parentesco do familiar 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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		709	
710	Se outro, especificar:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	710	

711	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	711	
712	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	712	
713	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	713	
714	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	714	
<b>Familiar 21</b>			
715	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	715	
716	Grau de parentesco do familiar <b>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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	716	
717	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	717	
718	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	718	
719	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	719	
720	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	720	
721	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	721	
<b>Familiar 22</b>			
722	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	722	
723	Grau de parentesco do familiar <b>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; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	723	
724	Se outro, especificar: <b>Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	724	
725	Idade no dia do heredograma <b>Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	725	
726	Status <b>0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado</b>	726	
727	Fez teste genético? <b>0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	727	
728	Resultado <b>0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	728	
<b>Familiar 23</b>			
729	Sexo <b>1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	729	
730	Grau de parentesco do familiar <b>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;</b>	730	

	<b>15-primomaterno;16-primamaterna;17-outro;18-filho;19-filha;88-Não se aplica; 99-Ignorado</b>		
<b>731</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>731</b>	
<b>732</b>	Idade no dia do heredograma <b>Emanos;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>732</b>	
<b>733</b>	Status <b>0-Morto;1-Vivo;99-Ignorado</b>	<b>733</b>	
<b>734</b>	Fez teste genético? <b>0-Não;1-Sim;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>734</b>	
<b>735</b>	Resultado <b>0-Negativo;1-Presente;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>735</b>	
<b>Familiar 24</b>			
<b>736</b>	Sexo <b>1-Feminino;2-Masculino;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>736</b>	
<b>737</b>	Grau de parentesco do familiar <b>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-primomaterno;16-primamaterna;17-outro;18-filho;19-filha;88-Não se aplica; 99-Ignorado</b>	<b>737</b>	
<b>738</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>738</b>	
<b>739</b>	Idade no dia do heredograma <b>Emanos;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>739</b>	
<b>740</b>	Status <b>0-Morto;1-Vivo;99-Ignorado</b>	<b>740</b>	
<b>741</b>	Fez teste genético? <b>0-Não;1-Sim;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>741</b>	
<b>742</b>	Resultado <b>0-Negativo;1-Presente;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>742</b>	
<b>Familiar 25</b>			
<b>743</b>	Sexo <b>1-Feminino;2-Masculino;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>743</b>	
<b>744</b>	Grau de parentesco do familiar <b>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-primomaterno;16-primamaterna;17-outro;18-filho;19-filha;88-Não se aplica; 99-Ignorado</b>	<b>744</b>	
<b>745</b>	Se outro, especificar: <b>Descrever;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>745</b>	
<b>746</b>	Idade no dia do heredograma <b>Emanos;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>746</b>	
<b>747</b>	Status <b>0-Morto;1-Vivo;99-Ignorado</b>	<b>747</b>	
<b>748</b>	Fez teste genético? <b>0-Não;1-Sim;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>748</b>	
<b>749</b>	Resultado <b>0-Negativo;1-Presente;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>749</b>	
<b>Familiar 26</b>			
<b>750</b>	Sexo <b>1-Feminino;2-Masculino;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	<b>750</b>	

751	Grau de parentesco do familiar 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;18-filho;19-filha;88-Não se aplica;99-Ignorado	751	
752	Se outro, especificar: <b>Descrever;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	752	
753	Idade no dia do heredograma <b>Emanos;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	753	
754	Status <b>0-Morto;1-Vivo;99-Ignorado</b>	754	
755	Fez teste genético? <b>0-Não;1-Sim;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	755	
756	Resultado <b>0-Negativo;1-Presente;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	756	
<b>Familiar 27</b>			
757	Sexo <b>1-Feminino;2-Masculino;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	757	
758	Grau de parentesco do familiar 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;18-filho;19-filha;88-Não se aplica;99-Ignorado	758	
759	Se outro, especificar: <b>Descrever;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	759	
760	Idade no dia do heredograma <b>Emanos;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	760	
761	Status <b>0-Morto;1-Vivo;99-Ignorado</b>	761	
762	Fez teste genético? <b>0-Não;1-Sim;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	762	
763	Resultado <b>0-Negativo;1-Presente;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	763	
<b>Familiar 28</b>			
764	Sexo <b>1-Feminino;2-Masculino;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	764	
765	Grau de parentesco do familiar 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;18-filho;19-filha;88-Não se aplica;99-Ignorado	765	
766	Se outro, especificar: <b>Descrever;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	766	
767	Idade no dia do heredograma <b>Emanos;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	767	
768	Status <b>0-Morto;1-Vivo;99-Ignorado</b>	768	
769	Fez teste genético? <b>0-Não;1-Sim;88-Não se aplica;99-Ignorado</b>	769	

770	Resultado 0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	770	
<b>Familiar 29</b>			
771	Sexo 1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	771	
772	Grau de parentesco do familiar 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- primomaterno; 16- primamaterna; 17- outro; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	772	
773	Se outro, especificar: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	773	
774	Idade no dia do heredograma Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	774	
775	Status 0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	775	
776	Fez teste genético? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	776	
777	Resultado 0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	777	
<b>Familiar 30</b>			
778	Sexo 1- Feminino; 2- Masculino; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	778	
779	Grau de parentesco do familiar 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- primomaterno; 16- primamaterna; 17- outro; 18- filho; 19- filha; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	779	
780	Se outro, especificar: Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	780	
781	Idade no dia do heredograma Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	781	
782	Status 0- Morto; 1- Vivo; 99- Ignorado	782	
783	Fez teste genético? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	783	
784	Resultado 0- Negativo; 1- Presente; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	784	
<b>Sobrevida</b>			
785	Metastatizou? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	785	
786	Idade da Metástase Emanos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	786	
787	Data da Metástase DD/MM/AAAA	787	__/__/____
788	Teve recorrência local 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	788	
789	Data da recorrência DD/MM/AAAA	789	__/__/____
790	Data da última Consulta DD/MM/AAAA	790	__/__/____
791	Status na última consulta 1- Vivo sem doença; 2- Vivo com doença; 3- Vivo SOE; 4- Morte por Câncer; 5- Morte por outras causas; 7- Perda	791	

	<b>seguimento</b>		
<b>792</b>	Observações  <b>88- Não se aplica; 99- Ignorado</b>	<b>792</b>	

## ANEXO 2. Critérios de Benignidade e Patogenicidade da ACMG<sup>141</sup>

### Very strong evidence of pathogenicity

**PVS1** Null variant (nonsense, frameshift, canonical +/-1 or 2 splice sites, initiation codon, single or multi-exon deletion) in a gene where loss of function (LOF) is a known mechanism of disease.

**PS1** Same amino acid change as a previously established pathogenic variant regardless of nucleotide change

Example: Val->Leu caused by either G>C or G>T in the same codon

Caveat: Beware of changes that impact splicing rather than at the amino acid/protein level

**PS2** *De novo* (both maternity and paternity confirmed) in a patient with the disease and no family history

Note: Confirmation of paternity only is insufficient. Egg donation, surrogate motherhood, errors in embryo transfer, *etc.* can contribute to non-maternity

**PS3** Well-established *in vitro* or *in vivo* functional studies supportive of a damaging effect on the gene or gene product

Note: Functional studies that have been validated and shown to be reproducible and robust in a clinical diagnostic laboratory setting are considered the most well-established

**PS4** The prevalence of the variant in affected individuals is significantly increased compared to the prevalence in controls

Note 1: Relative risk (RR) or odds ratio (OR), as obtained from case-control studies, is >5.0 and the confidence interval around the estimate of RR or OR does not include 1.0. See manuscript for detailed guidance.

Note 2: In instances of very rare variants where case-control studies may not reach statistical significance, the prior observation of the variant in multiple unrelated patients with the same phenotype, and its absence in controls, may be used as moderate level of evidence.

### Moderate evidence of pathogenicity

**PM1** Located in a mutational hot spot and/or critical and well-established functional

domain (*e.g.* active site of an enzyme) without benign variation

**PM2** Absent from controls (or at extremely low frequency if recessive) (see Table 6) in Exome Sequencing Project, 1000 Genomes or ExAC

Caveat: Population data for indels may be poorly called by next generation sequencing

**PM3** For recessive disorders, detected in *trans* with a pathogenic variant

Note: This requires testing of parents (or offspring) to determine phase

**PM4** Protein length changes due to in-frame deletions/insertions in a non-repeat region or stop-loss variants

**PM5** Novel missense change at an amino acid residue where a different missense change determined to be pathogenic has been seen before

Example: Arg156His is pathogenic; now you observe Arg156Cys acid/protein level

Caveat: Beware of changes that impact splicing rather than at the amino

**PM6** Assumed *de novo*, but without confirmation of paternity and maternity

#### **Supporting evidence of pathogenicity**

**PP1** Co-segregation with disease in multiple affected family members in a gene definitively known to cause the disease

Note: May be used as stronger evidence with increasing segregation data

**PP2** Missense variant in a gene that has a low rate of benign missense variation and where missense variants are a common mechanism of disease

**PP3** Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene or gene product (conservation, evolutionary, splicing impact, etc)

Caveat: As many *in silico* algorithms use the same or very similar input for their predictions, each algorithm should not be counted as an independent criterion.

PP3 can be used only once in any evaluation of a variant.

**PP4** Patient's phenotype or family history is highly specific for a disease with a single genetic etiology

**PP5** Reputable source recently reports variant as pathogenic but the evidence is not available to the laboratory to perform an independent evaluation

---

#### **Stand-Alone evidence of benign impact**

**BA1** Allele frequency is above 5% in Exome Sequencing Project, 1000 Genomes, or ExAC



**Strong evidence of benign impact**

**BS1** Allele frequency is greater than expected for disorder (see table 6)

**BS2** Observed in a healthy adult individual for a recessive (homozygous), dominant (heterozygous), or X-linked (hemizygous) disorder with full penetrance expected at an early age

**BS3** Well-established *in vitro* or *in vivo* functional studies shows no damaging effect on protein function or splicing

**BS4** Lack of segregation in affected members of a family

Caveat: The presence of phenocopies for common phenotypes (*i.e.* cancer, epilepsy) can mimic lack of segregation among affected individuals. Also, families may have more than one pathogenic variant contributing to an autosomal dominant disorder, further confounding an apparent lack of segregation.

**Supporting evidence of benign impact**

**BP1** Missense variant in a gene for which primarily truncating variants are known to cause disease

**BP2** Observed in *trans* with a pathogenic variant for a fully penetrant dominant gene/disorder; or observed in *cis* with a pathogenic variant in any inheritance pattern

**BP3** In-frame deletions/insertions in a repetitive region without a known function

**BP4** Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene or gene product

(conservation, evolutionary, splicing impact, etc)

Caveat: As many *in silico* algorithms use the same or very similar input for their predictions, each algorithm cannot be counted as an independent criterion. BP4 can be used only once in any evaluation of a variant.

**BP5** Variant found in a case with an alternate molecular basis for disease

**BP6** Reputable source recently reports variant as benign but the evidence is not available to the laboratory to perform an independent evaluation

**BP7** A synonymous (silent) variant for which splicing prediction algorithms predict no impact to the splice consensus sequence nor the creation of a new splice site AND the nucleotide is not highly conserved

---

### ANEXO 3. História Familiar das participantes (pacientes-FC)

ID	Familiares de 1º grau	Familiares de 2º grau	Familiares de 3º grau
FC3	Familiar de 1º grau	Mama (F,61;F,62), Pele (M,?), Intestino (F,?)	NR
FC8	Mama (F,44), Pele (M,22)	Mama (F,36; F,<60; F,<76), Cérebro (F,?), Leucemia (F,?)	Mama (F,32), Rim (M,?)
FC19	Mama (F,<69)	NR	NR
FC29	Mama (F,<45; F,<45)	Útero (F,?; F,?), Gástrico (M,?; M,?; M,?), Orelha (M,?), sítio Desconhecido (F,?)	NR
FC1024	Gástrico (M,42), Ovário (F,<60), Útero (F,57), Mama (F,?)	Gástrico (F,41), Mama (F,44; F,?), Ovário (F,56), Esôfago (F,?), Melanoma (M,?) sítio Desconhecido (F,?; F,?)	Próstata (M,56), Colorretal (M,?)
FC1046	Mama (F,47, F, 49)	NR	Leucemia (F,40), Colorretal (F,57), Boca (F,29)
FC1095	Mama (F,41; F,27)	Garganta (M,72), Útero (F,98)	Mama (F,40); Leucemia (F, 32)
FC133	Rim (M, 75)	Útero (F,?), Pulmão (F,?), Mama (49), Gástrico (M,?), Útero (F,?) Próstata	Mama (F,?; F,52; F,56; F,?; F,?), Sít.

		(M,75)	Desconhecido (M,?; M,?)
<b>FC179</b>	NR	Garganta (M,?)	NR
<b>FC233</b>	Mama (F,37; F,49; F,61)	Gástrico (M,62), Intestino (M,65), Pâncreas (M,62), Mama (F,46)	Mama (F,33; F,70; F,60; F,60), Pulmão (M,?; M,66)
<b>FC241</b>	NR	Mama (F,50)	NR
<b>FC256</b>	Mama (F,49)	Ovário (F,50)	Mama (F,36), Colorretal (M,36)
<b>FC274</b>	NR	NR	NR
<b>FC275</b>	NR	Mama (F,32; F,35), sítio Desconhecido (M,?; M,?)	NR
<b>FC289</b>	Próstata (M,80)	Mama (F,50)	Mama (F,65)
<b>FC306</b>	Mama (F,42) Tireóide (F,43)	NR	Mama (F, 55)
<b>FC320</b>	Mama (F,43), Bexiga (M,50)	Pulmão (F,83)	Útero (F,60)
<b>FC361</b>	Ovário (F,71), Tireóide (F,29)	Bexiga (M,?)	Bexiga (F,?)
<b>FC426</b>	Mama Bilateral (F,46), Mama (F,42; F,37), Bexiga (M,54)	Colorretal (F,31; F,50)	Mama (F,41)

<b>FC494</b>	Mama (F,?)	Mama (F,38), Ovário (F,38)	Mama (F,40)
<b>FC558</b>	NR	Mama (F,52), Pele (F,?)	Mama (F,42; F,42; F,46; F,32), Ovário (F,42)
<b>FC563</b>	Mama (F,40), Pâncreas (F,44)	NR	NR
<b>FC581</b>	Mama (F,46; F,54), Cabeça e Pescoço (M,83)	Próstata (M,60; M,70)	NR
<b>FC593</b>	NR	NR	Mama (F,?; F,?; F,?; F,?), Gástrico (M,?; M,?), Ovário (F,?), Colorretal (M,?)
<b>FC598</b>	Mama (F,39)	Próstata (M,71)	Mama (F,48)
<b>FC626</b>	Mama (F,74)	Mama (F,57; F,80), Pele (M,?), Mieloma Múltiplo (M,60)	Ovário (F,45), Tireóide (F,40), Pâncreas (M,56)
<b>FC633</b>	Gástrico (F,29), Duodeno (M,57), Tireóide (F,49), Próstata (M,56)	Colorretal (M,57), Gástrico (M,50), Pulmão (F,50), sítio Desconhecido (M,?; M,?; M,?; F,?)	Mama (F,30; F,35; F,40), Gástrico (M,?), Próstata (M,?)
<b>FC638</b>	Mama (F,49; F,50), Gástrico (F,55)	Mama (F,?)	Tireóide (F,36), Boca (F,55)
<b>FC640</b>	Mama (F,51; F,43; F,53; F,45)	NR	NR

<b>FC649</b>	Mama (F,64)	Tireóide (F,64), Ovário (F,61)	NR
<b>FC689</b>	Leucemia (F,47)	Colorretal (M,55), Leucemia (M,?)	Mama (F,48), Colorretal (M,60)
<b>FC695</b>	NR	Colorretal (M,40), Mama (F,42)	NR
<b>FC734</b>	NR	Mama (F,66; F,38)	Mama (F,27)
<b>FC65</b>	Mama (F,31; F,47)	Mama (F,?; F,?; F,?)	Mama (F,34)
<b>FC775</b>	NR	Mama (F,44); Mama Bilateral (F, 38; 59)	Mama (F,38)
<b>FC779</b>	NR	Mama (F,33; F,50; F,30; F,40); Próstata (M,50); Mama (F, 48; F ?)	Leucemia (F,27)
<b>FC80</b>	Mama (F,?; F,44), Skin (F,?)	Mama (F,60; F,55; F,57), Próstata (M,57), Mediastino (M,10)	Mama (F,44)
<b>FC825</b>	Mama (F,24; F,44; F,39)	Intestino (M,?), Próstata (M,?), Faringe (M,?)	NR
<b>FC960</b>	Útero (F,45), Mama (F,34), Pulmão (M,70)	Pulmão (M,?)	Mama (F,59)
<b>FC85</b>	Mama (F,45; F,43; F,48), Leucemia (M,?)	Gástrico (F,45; M,56)	NR
<b>FC981</b>	NR	Mama (F,70), Melanoma (F,30), Fígado?	Mama (F,32; F,60), Vias Biliares (M,

		(F,55)	49), Próstata (M,68)
<b>FC1014</b>	Linfoma (M,19)	Mama (F,53), Melanoma (M,75)	NR
<b>FC869</b>	Mama (F,55; F,48)	Colorretal (F, 65)	NR
<b>FC950</b>	NR	Mama (F,50), sítio Desconhecido (M,?), Próstata (M,60)	Mama (F,32; F,30); Leucemia (M,40)
<b>FC974</b>	Mama (F,56)	Mama (F,60; F,60; F,60; F,65), Próstata (M,70; M,80)	Mama (F,45; F,55), sítio Desconhecido (M,50)
<b>FC1096</b>	Pele (F,90) ,Sítio Desconhecido (F,64)	Mama (F,44), Próstata (M,50), Pulmão (M,67), Melanoma (F,50), Colorretal (M,?; M,49; F,75)	Mama (F,?; F,45), Tireóide (F,38)
<b>FC1109</b>	NR	Ovário (F,43)	sítio Desconhecido (M,27)
<b>FC1122</b>	Mama (F,45)	Mama (F,52),	NR
<b>FC 1140</b>	Mama (F,44)	Mama (F,60)	NR
<b>FC1151</b>	Mama (F,60)	Mama (F,35)	NR
<b>FC1176</b>	Mama (F,44)	Ovário (F,34), Colon (F,51)	NR

---

<b>FC 1209</b> Ovário (F,59);	Mama e Ovário (F,50 e 58); Ovário (F,30), Mama e ovário (F, 57 e 62)	Mama (F,60; F,56)
<b>FC1325</b> Mama e Ovário (F,48 e 54)	Linfoma não Hogdkin e Pulmão (M,65 e 73)	Estômago (M,?)

---

NR: Não relatado (CÂNCER). F: feminino. M: masculino.



**ANEXO 4: Cobertura Horizontal do Painel Gênico das regiões onde mais de 50% dos amplicons foram cobertos menos de 50x em mais de 50% das pacientes**

Gene	Éxon	Nº Indivíduos	Localização Gene / Éxon	Região Codificante
			ENSG00000149311   ENST00000278616   NM_000051   ENSE000013313	
<b>ATM</b>	63	52	56	Não
			ENSG00000149311   ENST00000278616   NM_000051   ENSE000014678	
<b>ATM</b>	1	52	94	UTR
			ENSG00000138376   ENST00000260947   NM_000465   ENSE000018140	
<b>BARD</b>	11	52	41	Não
			ENSG00000136492   ENST00000259008   NM_032043   ENSE000011321	
<b>BRIP1</b>	20	52	93	Não
			ENSG00000136492   ENST00000259008   NM_032043   ENSE000027264	
<b>BRIP1</b>	1	52	49	UTR
			ENSG00000039068   ENST00000261769   NM_004360   ENSE000035247	
<b>CDH1</b>	14	28	22	Não
			ENSG00000039068   ENST00000261769   NM_004360   ENSE000019304	
<b>CDH1</b>	16	52	98	Não
			ENSG00000183765   ENST00000328354   NM_007194   ENSE000036411	
<b>CHEK2</b>	5	40	37	Não
<b>CHEK2</b>	1	52	ENSG00000183765   ENST00000328354   NM_007194   ENSE000019365	UTR

			28	
<b>MRE11A</b>	1	52	ENSG00000020922   ENST00000323929   NM_005591   ENSE000022311 97	UTR
<b>NBN</b>	16	52	ENSG00000104320   ENST00000265433   NM_002485   ENSE000035997 38	Não
<b>PALB2</b>	13	52	ENSG00000083093   ENST00000261584   NM_024675   ENSE000026214 50	Não
<b>PTEN</b>	9	52	ENSG00000171862   ENST00000371953   NM_000314   ENSE000014565 41	Não
<b>PTEN</b>	1	52	ENSG00000171862   ENST00000371953   NM_000314   ENSE000014565 62	Não
<b>RAD50</b>	25	52	ENSG00000113522   ENST00000378823   NM_005732   ENSE000010840 80	Não
<b>RAD50</b>	1	52	ENSG00000113522   ENST00000378823   NM_005732   ENSE000022640 21	UTR
<b>RAD51C</b>	5	52	ENSG00000108384   ENST00000337432   NM_058216   ENSE000035475 00	Não
<b>STK11</b>	1	52	ENSG00000118046   ENST00000326873   NM_000455   ENSE000012891 98	Não
<b>STK11</b>	10	52	ENSG00000118046   ENST00000326873   NM_000455   ENSE000014064	Não

		52		
<b>TP53</b>	2	52	ENSG00000141510 ENST00000269305 NM_000546 ENSE000026679 11	Não
<b>TP53</b>	1	52	ENSG00000141510 ENST00000269305 NM_000546 ENSE000011463 08	UTR
<b>TP53</b>	3	52	ENSG00000141510 ENST00000269305 NM_000546 ENSE000024195 84	Não
<b>TP53</b>	11	52	ENSG00000141510 ENST00000269305 NM_000546 ENSE000036058 91	Não

---

## ANEXO 5. Variantes por paciente (ID-FC)

ID-FC	Gene	Localização da Variante no Transcrito	ID-FC	Gene	Localização da Variante no Transcrito	ID-FC	Gene	Localização da Variante no Transcrito
3	<i>MUTY</i> <i>H</i>	c.1014G>C	320	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	869	<i>TP53</i>	c.1010G>A
3	<i>NBN</i>	c.2016A>G	320	<i>NBN</i>	c.1197T>C	869	<i>TP53</i>	c.215C>G
3	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	320	<i>NBN</i>	c.553G>C	869	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
3	<i>NBN</i>	c.1197T>C	320	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	869	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
3	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	320	<i>TP53</i>	c.215C>G	869	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
3	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	320	<i>RAD51</i> <i>C</i>	c.859A>G	950	<i>MUT</i> <i>YH</i>	c.1014G>C
8	<i>MUTY</i> <i>H</i>	c.1014G>C	320	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	950	<i>BARD</i> <i>1</i>	c.1075_1095delTTGCCTGA ATGTTCTTCACCA
8	<i>BARD1</i>	c.1518T>C c.1518_1519delTGinsCA	320	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	950	<i>BARD</i> <i>1</i>	c.1134G>C
8	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	320	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	950	<i>NBN</i>	c.1197T>C
8	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	361	<i>MUTY</i> <i>H</i>	c.1014G>C	950	<i>BARD</i> <i>1</i>	c.1518_1519delTGinsCA
8	<i>NBN</i>	c.2016A>G	361	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	950	<i>BARD</i> <i>1</i>	c.1738G>A



19	<i>NBN</i>	c.1197T>C	426	<i>ATM</i>	c.5497-8T>C	960	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
19	<i>NBN</i>	c.553G>C	426	<i>ATM</i>	c.5557G>A	960	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
19	<i>NBN</i>	c.102G>A	426	<i>ATM</i>	c.8786+8A>C	960	<i>TP53</i>	c.215C>G
19	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	426	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	960	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
19	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	426	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	960	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
19	<i>TP53</i>	c.215C>G	426	<i>TP53</i>	c.215C>G	960	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
19	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	426	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	974	<i>ATM</i>	c.5557G>A
19	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	558	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	974	<i>CDH1</i>	c.531+10G>C
19	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	558	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	974	<i>MUT</i>	
							<i>YH</i>	c.1147delC
29	<i>BARD1</i>	c.1518T>C c.1518_1519delTGi nsCA	558	<i>MRE11</i>	c.102T>G	974	<i>MUT</i>	
				<i>A</i>			<i>YH</i>	c.1014G>C
29	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	558	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	974	<i>NBN</i>	c.1197T>C
29	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	558	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	974	<i>NBN</i>	c.553G>C
29	<i>ATM</i>	c.3285-11CT>C	558	<i>TP53</i>	c.215C>G	981	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
29	<i>ATM</i>	c.5497-8T>C	558	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	981	<i>MUT</i>	
							<i>YH</i>	c.1014G>C
29	<i>ATM</i>	c.5557G>A	558	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1014	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
29	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	558	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1014	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
29	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	563	<i>MRE11</i>	c.102T>G	1014	<i>CDH1</i>	c.2076T>C

29	<i>TP53</i>	c.215C>G	563	<i>ATM</i>	c.5589T>C	1014	<i>CDH1</i>	c.2520C>T
29	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	563	<i>ATM</i>	c.8786+8A>C	1014	<i>MUT</i>	c.1014G>C
29	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	563	<i>PALB2</i>	c.1676A>G	1014	<i>YH</i>	
29	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	563	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1014	<i>NBN</i>	c.2016A>G
65	<i>NBN</i>	c.1222A>G	563	<i>CDH1</i>	c.531+10G>C	1014	<i>NBN</i>	c.1197T>C
65	<i>NBN</i>	c.1197T>C	563	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1014	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G
65	<i>ATM</i>	c.1636C>G	563	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1014	<i>TP53</i>	c.215C>G
65	<i>ATM</i>	c.2193C>T	563	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1024	<i>BARD</i>	
65	<i>ATM</i>	c.2614C>T	581	<i>MUTY</i>	c.1014G>C	1024	<i>1</i>	c.1518_1519delTGinsCA
65	<i>ATM</i>	c.2685A>G	581	<i>H</i>		1024	<i>BARD</i>	
65	<i>ATM</i>	c.3285-11CT>C	581	<i>NBN</i>	c.38-8T>A	1024	<i>1</i>	c.1134G>C
65	<i>ATM</i>	c.5557G>A	581	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1024	<i>MRE</i>	c.403-6G>A
65	<i>ATM</i>	c.6995T>C	593	<i>MUTY</i>	c.1014G>C	1024	<i>11A</i>	
						1024	<i>ATM</i>	c.5352C>T
						1024	<i>PALB</i>	
						1024	<i>2</i>	c.3300T>G
						1024	<i>PALB</i>	
						1024	<i>2</i>	c.2993G>A
						1024	<i>PALB</i>	c.2014G>C

65	<i>CDH1</i>	c.48+5C>G	593	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	1024	<i>PALB</i>	c.1676A>G
65	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	593	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	1024	2	
65	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	593	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1024	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
65	<i>CDH1</i>	c.2253C>T	593	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1024	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
65	<i>TP53</i>	c.215C>G	593	<i>TP53</i>	c.215C>G	1024	<i>TP53</i>	c.215C>G
65	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	593	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1024	<i>BRIP1</i>	c.3440delA
65	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	593	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1024	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
65	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	593	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1024	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
80	<i>MUTY</i>	c.1014G>C	593	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1024	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
80	<i>H</i>		598	<i>MUTY</i>	c.1014G>C	1046	<i>ATM</i>	c.378T>A
80	<i>BARD1</i>	c.1518T>C	598	<i>H</i>		1046	<i>ATM</i>	c.2119T>C
80	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	598	<i>BARD1</i>	c.1670G>C	1046	<i>ATM</i>	c.2119T>C
80	<i>RAD50</i>	c.572C>T	598	<i>BARD1</i>	c.1518_1519delTGinsCA	1046	<i>ATM</i>	c.9086G>A
80	<i>NBN</i>	c.2016A>G	598	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	1046	<i>BARD</i>	
80	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	598	<i>MRE11</i>	c.403-6G>A	1046	1	c.2212A>G
80	<i>NBN</i>	c.1197T>C	598	<i>A</i>		1046	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
			598	<i>ATM</i>	c.146C>G	1046	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
			598	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1046	<i>CDH1</i>	c.2076T>C



80	<i>NBN</i>	c.553G>C	598	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1046	<i>MRE11A</i>	c.1002C>G
80	<i>NBN</i>	c.102G>A	598	<i>TP53</i>	c.215C>G	1046	<i>NBN</i>	c.1197T>C
80	<i>NBN</i>	c.38-8T>A	598	<i>RAD51C</i>	c.244C>T	1046	<i>PALB2</i>	c.3300T>G
80	<i>MRE11A</i>	c.102T>G	598	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1046	<i>PALB2</i>	c.2993G>A
80	<i>ATM</i>	c.3118A>G	598	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1046	<i>PALB2</i>	c.1676A>G
80	<i>ATM</i>	c.3285-11CT>C	598	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1095	<i>MUTYH</i>	c.1014G>C
80	<i>ATM</i>	c.5557G>A	598	<i>CHEK2</i>	c.1407G>A	1095	<i>BARD1</i>	c.1053G>C
80	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	598	<i>CHEK2</i>	c.252A>G	1095	<i>NBN</i>	c.1197T>C
80	<i>CDH1</i>	c.531+10G>C	626	<i>ATM</i>	c.2637A>G	1095	<i>BARD1</i>	c.1518T>C
80	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	626	<i>CDH1</i>	c.2637A>G	1095	<i>PALB2</i>	c.1676A>G
80	<i>TP53</i>	c.215C>G	626	<i>CDH1</i>	c.2637A>G	1095	<i>ATM</i>	c.186-7C>T
80	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	633	<i>BARD1</i>	c.1933T>C	1095	<i>PALB</i>	c.2014G>C

80	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	633	<i>BARD1</i>	c.1518T>C	1095	<i>RAD50</i>	c.2025C>T
80	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	633	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	1095	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
85	<i>MUTYH</i>	c.1014G>C	633	<i>RAD50</i>	c.2910C>T	1095	<i>TP53</i>	c.215C>G
85	<i>BARD1</i>	c.1518_1519delTGinsCA	633	<i>NBN</i>	c.2016A>G	1095	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
85	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	633	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	1095	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
85	<i>NBN</i>	c.2016A>G	633	<i>NBN</i>	c.1197T>C	1095	<i>PALB2</i>	c.2993G>A
85	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	633	<i>NBN</i>	c.553G>C	1095	<i>CHEK2</i>	c.1036C>T
85	<i>NBN</i>	c.1197T>C	633	<i>NBN</i>	c.102G>A	1095	<i>PALB2</i>	c.3300T>G
85	<i>NBN</i>	c.553G>C	633	<i>MRE11A</i>	c.403-6G>A	1095	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
85	<i>NBN</i>	c.102G>A	633	<i>ATM</i>	c.186-7C>T	1095	<i>ATM</i>	c.378T>A
85	<i>MRE11A</i>	c.102T>G	633	<i>ATM</i>	c.378T>A	1095	<i>MRE11A</i>	c.403-6G>A
85	<i>ATM</i>	c.1810C>T	633	<i>ATM</i>	c.657T>C	1095	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T

85	<i>PALB2</i>	c.1676A>G	633	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1095	<i>TP53</i>	c.639A>G
85	<i>PALB2</i>	c.1001A>G	633	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1095	<i>ATM</i>	c.657T>C
85	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	633	<i>TP53</i>	c.215C>G	1096	<i>BARD1</i>	c.1134G>C
85	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	633	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1096	<i>BARD1</i>	c.1518_1519delTGinsCA
85	<i>TP53</i>	c.215C>G	633	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1096	<i>PALB2</i>	c.1676A>G
85	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	633	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1096	<i>RAD51</i>	c.2025C>T
85	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	633	<i>STK11</i>	c.920+7G>C	1096	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
85	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	638	<i>NBN</i>	c.1197T>C	1096	<i>TP53</i>	c.215C>G
133	<i>MUTYH</i>	c.64G>A	638	<i>ATM</i>	c.378T>A	1096	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
133	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	638	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1096	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
133	<i>NBN</i>	c.2016A>G	638	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1096	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
133	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	638	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1096	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
133	<i>NBN</i>	c.1197T>C	640	<i>MUTYH</i>	c.1014G>C	1109	<i>MUTYH</i>	c.1014G>C
133	<i>NBN</i>	c.553G>C	640	<i>BARD1</i>	c.2212A>G	1109	<i>NBN</i>	c.102G>A

133	<i>NBN</i>	c.102G>A	640	<i>BARD1</i>	c.1518T>C c.1518_1519delT GinsCA	1109	<i>BARD1</i>	c.1053G>C
133	<i>MRE11A</i>	c.482A>G	640	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	1109	<i>BARD1</i>	c.1134G>C
133	<i>ATM</i>	c.4709T>C	640	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	1109	<i>NBN</i>	c.1197T>C
133	<i>ATM</i>	c.8786+8A>C	640	<i>BARD1</i>	c.609A>C	1109	<i>BARD1</i>	c.1518T>C c.1518_1519del TGinsCA
133	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	640	<i>NBN</i>	c.1197T>C	1109	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G
133	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	640	<i>MRE11A</i>	c.403-6G>A	1109	<i>NBN</i>	c.2016A>G
133	<i>TP53</i>	c.215C>G	640	<i>ATM</i>	c.1254A>G	1109	<i>TP53</i>	c.215C>G
179	<i>MUTYH</i>	c.1014G>C	640	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1109	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
179	<i>BARD1</i>	c.2212A>G	640	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1109	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
179	<i>BARD1</i>	c.609A>C	640	<i>TP53</i>	c.215C>G	1109	<i>NBN</i>	c.553G>C
179	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	640	<i>RAD51C</i>	c.1009G>T	1109	<i>CHEK2</i>	c.715G>A
179	<i>TP53</i>	c.215C>G	640	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1122	<i>MUTYH</i>	c.64G>A
179	<i>STK11</i>	c.920+7G>C	640	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1122	<i>BARD1</i>	c.1518T>C

233	<i>BARD1</i>	c.185G>C	640	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1122	<i>BARD1</i>	c.1134G>C
233	<i>ATM</i>	c.5497-8T>C	640	<i>CHEK2</i>	c.252A>G	1122	<i>BARD1</i>	c.1053G>C
233	<i>ATM</i>	c.5557G>A	649	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	1122	<i>MRE11A</i>	c.403-6G>A
233	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	649	<i>NBN</i>	c.2016A>G	1122	<i>ATM</i>	c.544G>C
233	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	649	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	1122	<i>PALB2</i>	c.1676A>G
233	<i>BRIP1</i>	c.3026G>T	649	<i>NBN</i>	c.1197T>C	1122	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
233	<i>STK11</i>	c.1185A>G	649	<i>NBN</i>	c.553G>C	1122	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
241	<i>BARD1</i>	c.1072C>G	649	<i>NBN</i>	c.102G>A	1122	<i>TP53</i>	c.215C>G
241	<i>NBN</i>	c.2016A>G	649	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1122	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
241	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	649	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1122	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
241	<i>NBN</i>	c.1197T>C	649	<i>TP53</i>	c.215C>G	1122	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
241	<i>NBN</i>	c.553G>C	649	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1122	<i>STK11</i>	c.920+7G>C
241	<i>NBN</i>	c.102G>A	649	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1140	<i>NBN</i>	c.102G>A
241	<i>PALB2</i>	c.3300T>G	649	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1140	<i>BARD1</i>	c.1053G>C

241	<i>PALB2</i>	c.2993G>A	649	<i>STK11</i>	c.426C>T	1140	<i>NBN</i>	c.1197T>C
241	<i>PALB2</i>	c.2014G>C	689	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1140	<i>BARD</i>	c.1518T>C
241	<i>PALB2</i>	c.1676A>G	689	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1140	<i>1</i>	
241	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	689	<i>TP53</i>	c.215C>G	1140	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G
241	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	695	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	1140	<i>NBN</i>	c.2016A>G
241	<i>CDH1</i>	c.2439+10C>T	695	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	1140	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
241	<i>TP53</i>	c.215C>G	695	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1140	<i>TP53</i>	c.215C>G
241	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	695	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1140	<i>ATM</i>	c.2572T>C
241	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	695	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1140	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
241	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	695	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1140	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
241	<i>BRIP1</i>	c.584T>C	695	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1140	<i>ATM</i>	c.3161C>G
256	<i>MUTY</i>	c.1014G>C	695	<i>CDH1</i>	c.531+10G>C	1140	<i>ATM</i>	c.3161C>G
	<i>H</i>		695	<i>MUTY</i>		1140	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
256	<i>NBN</i>	c.2016A>G	695	<i>H</i>	c.1014G>C	1140	<i>MRE</i>	c.403-6G>A
256	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	695	<i>PALB2</i>	c.1676A>G	1140	<i>11A</i>	
256	<i>NBN</i>	c.1197T>C	695	<i>TP53</i>	c.215C>G	1140	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
256	<i>NBN</i>	c.553G>C	734	<i>ATM</i>	c.3161C>G	1140	<i>NBN</i>	c.553G>C
			734	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1151	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
						1151	<i>MUT</i>	
							<i>YH</i>	c.1014G>C

256	<i>NBN</i>	c.102G>A	734	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1151	<i>BARD</i> <i>1</i>	c.1134G>C
256	<i>MRE11</i> <i>A</i>	c.403-6G>A	734	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1151	<i>BARD</i> <i>1</i>	c.1518_1519delTGinsCA
256	<i>ATM</i>	c.3285-11CT>C	734	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1151	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
256	<i>ATM</i>	c.5557G>A	755	<i>BARD1</i>	c.2212A>G	1151	<i>TP53</i>	c.215C>G
256	<i>PALB2</i>	c.2256A>G	755	<i>BARD1</i>	c.1518_1519delTGinsCA	1151	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
256	<i>PALB2</i>	c.1676A>G	755	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	1151	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
256	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	755	<i>BARD1</i>	c.609A>C	1151	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
256	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	755	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1151	<i>CDH1</i>	c.531+10G>C
256	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	755	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1176	<i>MUT</i> <i>YH</i>	c.1014G>C
256	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	755	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1176	<i>BARD</i> <i>1</i>	c.1518_1519delTGinsCA
256	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	755	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1176	<i>BARD</i> <i>1</i>	c.1134G>C
256	<i>STK11</i>	c.920+7G>C	755	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1176	<i>NBN</i>	c.2016A>G
274	<i>MUTY</i> <i>H</i>	c.1014G>C	755	<i>MUTY</i> <i>H</i>	c.1276C>T	1176	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G
274	<i>RAD50</i>	c.281T>C	755	<i>MUTY</i>	c.1014G>C	1176	<i>NBN</i>	c.1197T>C

274	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	<i>H</i>	755	<i>STK11</i>	c.920+7G>C	1176	<i>NBN</i>	c.553G>C
274	<i>CDH1</i>	c.2076T>C		755	<i>TP53</i>	c.215C>G	1176	<i>NBN</i>	c.102G>A
275	<i>MUTY</i>	c.64G>A		779	<i>MUTY</i>	c.1014G>C	1176	<i>ATM</i>	c.3285-11CT>C
	<i>H</i>				<i>H</i>				
275	<i>BARD1</i>	c.1518T>C c.1518_1519delTGinsCA		779	<i>NBN</i>	c.102G>A	1176	<i>ATM</i>	c.5557G>A
275	<i>BARD1</i>	c.1134G>C		779	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	1176	<i>PALB</i> 2	c.1572A>G
275	<i>ATM</i>	c.4258C>T		779	<i>NBN</i>	c.1197T>C	1176	<i>PALB</i> 2	c.1010T>C
275	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T		779	<i>BARD1</i>	c.1518_1519delTGinsCA	1176	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
275	<i>CDH1</i>	c.2076T>C		779	<i>PALB2</i>	c.1676A>G	1176	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
275	<i>TP53</i>	c.510G>A		779	<i>CDH1</i>	c.1896C>T	1176	<i>TP53</i>	c.215C>G
275	<i>TP53</i>	c.215C>G		779	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	1176	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
275	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C		779	<i>NBN</i>	c.2016A>G	1176	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
275	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C		779	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1176	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
275	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G		779	<i>TP53</i>	c.215C>G	1209	<i>MUT</i> <i>YH</i>	c.1014G>C
289	<i>MUTY</i>	c.1014G>C		779	<i>CDH1</i>	c.2634C>T	1209	<i>BARD</i>	c.1134G>C



	<i>H</i>						<i>1</i>	
289	<i>BARD1</i>	c.185G>C	779	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1209	<i>MRE11A</i>	c.315-2A>G
289	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	779	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C	1209	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T
289	<i>NBN</i>	c.1197T>C	779	<i>ATM</i>	c.3383A>G	1209	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
289	<i>NBN</i>	c.553G>C	779	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C	1209	<i>TP53</i>	c.215C>G
289	<i>NBN</i>	c.102G>A	779	<i>MRE11A</i>	c.403-6G>A	1209	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
289	<i>ATM</i>	c.4578C>T	779	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1209	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
289	<i>ATM</i>	c.8786+8A>C	779	<i>NBN</i>	c.553G>C	1209	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
289	<i>PALB2</i>	c.1676A>G	779	<i>STK11</i>	c.920+7G>C	1209	<i>CHEK2</i>	c.1312G>T
289	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	825	<i>MUTYH</i>	c.64G>A	1325	<i>MUTYH</i>	c.1014G>C
289	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	825	<i>BARD1</i>	c.185G>C	1325	<i>BARD1</i>	c.1518_1519delTGinsCA
289	<i>TP53</i>	c.215C>G	825	<i>NBN</i>	c.1197T>C	1325	<i>BARD1</i>	c.1134G>C
289	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	825	<i>NBN</i>	c.553G>C	1325	<i>BARD1</i>	c.70C>T

306	<i>MUTY</i> <i>H</i>	c.1014G>C	825	<i>NBN</i>	c.102G>A	1325	<i>NBN</i>	c.2016A>G
306	<i>BARD1</i>	c.2212A>G	825	<i>MRE11</i> <i>A</i>	c.1783+5G>C	1325	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G
306	<i>BARD1</i>	c.1518_1519delTGinsCA	825	<i>ATM</i>	c.3118A>G	1325	<i>NBN</i>	c.1197T>C
306	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	825	<i>ATM</i>	c.6067G>A	1325	<i>NBN</i>	c.553G>C
306	<i>BARD1</i>	c.609A>C	825	<i>PALB2</i>	c.1676A>G	1325	<i>NBN</i>	c.102G>A
306	<i>NBN</i>	c.2016A>G	825	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1325	<i>MRE</i> <i>11A</i>	c.403-6G>A
306	<i>NBN</i>	c.1915-7A>G	825	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1325	<i>ATM</i>	c.3285-11CT>C
306	<i>NBN</i>	c.1197T>C	825	<i>TP53</i>	c.215C>G	1325	<i>ATM</i>	c.5557G>A
306	<i>NBN</i>	c.553G>C	825	<i>TP53</i>	c.108G>A	1325	<i>PALB</i> <i>2</i>	c.1010T>C
306	<i>NBN</i>	c.102G>A	825	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G	1325	<i>CDH1</i>	c.1896C>T
306	<i>NBN</i>	c.38-8T>A	869	<i>MUTY</i> <i>H</i>	c.1014G>C	1325	<i>CDH1</i>	c.2076T>C
306	<i>ATM</i>	c.8786+8A>C	869	<i>BARD1</i>	c.1518T>C	1325	<i>CDH1</i>	c.2440-6C>G
306	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	869	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	1325	<i>CDH1</i>	c.2634C>T
306	<i>CDH1</i>	c.531+10G>C	869	<i>BARD1</i>	c.1053G>C	1325	<i>TP53</i>	c.639A>G
306	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	869	<i>RAD50</i>	c.1397A>C	1325	<i>TP53</i>	c.215C>G

306	<i>TP53</i>	c.215C>G	869	<i>MRE11</i> A	c.403-6G>A	1325	<i>BRIP1</i>	c.3411T>C
306	<i>BRIP1</i>	c.316C>T	869	<i>PALB2</i>	c.3495G>A	1325	<i>BRIP1</i>	c.2755T>C
320	<i>BARD1</i>	c.1518_1519delTGinsCA	869	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1325	<i>BRIP1</i>	c.2637A>G
320	<i>BARD1</i>	c.1134G>C	869	<i>CDH1</i>	c.48+6C>T	1325	<i>STK1</i> 1	c.920+7G>C
320	<i>NBN</i>	c.2016A>G	869	<i>CDH1</i>	c.2076T>C	1325	<i>STK1</i> 1	c.920+7G>C

---

**ANEXO 6. Descrição e classificação das 55 variantes germinativas de acordo com os bancos de dados ClinVar e HGMD e classificação ACMG**

<b>Gene</b>	<b>cDNA</b>	<b>Proteína</b>	<b>ACMG</b>	<b>Tipo de Mutação</b>	<b>ClinVar</b>	<b>HGMD</b>
<b>ATM</b>	c.146C>G	p.ser49Cys	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>ATM</b>	c.1636C>G	p.Leu546Val	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	VUS
<b>ATM</b>	c.1810C>T	p.Pro604ser	Classe 3	Missense	Dados Conflitantes (classes 1-2-3)	Patogênica
<b>ATM</b>	c.2119T>C	p.ser707Pro	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>ATM</b>	c.2572T>C	p.Phe858Leu	Classe 2	Missense	Dados Conflitantes (classes 1-2-3)	Benigna
<b>ATM</b>	c.2614C>T	p.Pro872sEArg	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	VUS
<b>ATM</b>	c.3118A>G	p.Met1040Val	Classe 2	Missense	Benigna	NR
<b>ATM</b>	c.3383A>G	p.Gln1128Arg	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	Patogênica
<b>ATM</b>	c.378T>A	p.Asp126Glu	Classe 1	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	Benigna
<b>ATM</b>	c.4258C>T	p.Leu1420Phe	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>ATM</b>	c.4709T>C	p.Val1570Ala	Classe 2	Missense	Dados Conflitantes (classes 2-3)	VUS
<b>ATM</b>	c.544G>C	p.Val182Leu	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	VUS
<b>ATM</b>	c.5557G>A	p.Asp1853Asn	Classe 1	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	Benigna
<b>ATM</b>	c.6067G>A	p.Gly2023Arg	Classe 3	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	VUS
<b>ATM</b>	c.6995T>C	p.Leu2332Pro	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	VUS
<b>ATM</b>	c.9086G>A	p.Gly3029Asp	Classe 3	Missense	VUS	NR
<b>BARD1</b>	c.1072C>G	p.Pro358Ala	Classe 2	Missense	NR	NR

<b>BARD1</b>	c.1075_1095del21	p.Leu359_Pro365del	Classe 3	InFrameDeletion	Benigna	NR
<b>BARD1</b>	c.1134G>C	p.Arg378ser	Classe 1	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	Benigna
<b>BARD1</b>	c.1518_1519delinsCA	p.Val507Met	Classe 2	Missense	NR	NR
<b>BARD1</b>	c.1738G>A	p.Glylu580Lys	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>BARD1</b>	c.1933T>C	p.Cys645Arg	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>BARD1</b>	c.185G>C	p.Cys62sEArg	Classe 3	Missense	Classe 3	NR
<b>BARD1</b>	c.2212A>G	p.Ile738Val	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>BRIP1</b>	c.2755T>C	p.ser919Pro	Classe 1	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	Benigna
<b>BRIP1</b>	c.316C>T	p.Arg106Cys	Classe 2	Missense	VUS	NR
<b>BRIP1</b>	c.3440delA	p.Asn1147fs	Classe 4	Frameshift	NR	NR
<b>BRIP1</b>	c.584T>C	p.Leu195Pro	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>CDH1</b>	c.48+5C>G	.	Classe 2	IntronicSNV	Benigna	NR
<b>CHEK2</b>	c.1036C>T	p.Arg346Cys	Classe 3	Missense	VUS	NR
<b>CHEK2</b>	c.1312G>T	p.Asp438Tyr	Classe 3	Missense	Dados Conflitantes (classes 2-3)	VUS
<b>CHEK2</b>	c.715G>A	p.Glu239Lys	Classe 3	Missense	VUS	NR
<b>MRE11A</b>	c.1002C>G	p.ser334Arg	Classe 2	Missense	Benigna	NR
<b>MRE11A</b>	c.102T>G	p.Asn34Lys	Classe 3	Missense	NR	NR
<b>MRE11A</b>	c.1783+5G>C	.	Classe 3	IntronicSNV	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>MRE11A</b>	c.315-2A>G	.	Classe 5	SpliceAcceptorSNV	Provavelmente Patogênica	NR

<b>MRE11A</b>	c.482A>G	p.Lys161Arg	Classe 3	Missense	VUS	NR
<b>MUTYH</b>	c.1005G>C	p.Gln335His	Classe 1	Missense	Benigna	Benigna
<b>MUTYH</b>	c.1147delC	p.Ala385fs	Classe 5	Frameshift	Provavelmente Patogênica	Patogênica
<b>MUTYH</b>	c.1267C>T	p.Arg423Cys	Classe 3	Missense	Dados Conflitantes (classes 2-3)	Patogênica
<b>NBN</b>	c.1222A>G	p.Lys408Glu	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>NBN</b>	c.1396delA	p.Arg466Glyfs*18	Classe 5	Frameshift	Provavelmente Classe 5	NR
<b>NBN</b>	c.553G>C	p.Glu185Gln	Classe 1	Missense	Benigna	NR
<b>PALB2</b>	c.1001A>G	p.Tyr334Cys	Classe 2	Missense	VUS	NR
<b>PALB2</b>	c.1010T>C	p.Leu337ser	Classe 2	Missense	Dados Conflitantes (classes 1-2-3)	VUS
<b>PALB2</b>	c.1676A>G	p.Gln559Arg	Classe 1	Missense	Benigna	Benigna
<b>PALB2</b>	c.2014G>C	p.Glu672Gln	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	VUS
<b>PALB2</b>	c.2993G>A	p.Gly998Glu	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	Benigna
<b>RAD50</b>	c.1397A>C	p.Gln466Pro	Classe 3	Missense	NR	NR
<b>RAD50</b>	c.281T>C	p.Ile94Thr	Classe 3	Missense	VUS	NR
<b>RAD50</b>	c.572C>T	p.Thr191Ile	Classe 2	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	NR
<b>RAD51C</b>	c.1009G>T	p.Val337Leu	Classe 3	Missense	NR	NR
<b>RAD51C</b>	c.244C>T	p.His82Tyr	Classe 3	Missense	VUS	NR
<b>RAD51C</b>	c.859A>G	p.Thr287Ala	Classe 3	Missense	Benigna/Provavelmente benigna	VUS
<b>TP53</b>	c.215C>G	p.Pro72Arg	Classe 1	Missense	Benigna	Benigna

**NR:** não relatada; / **VUS:** variante significado incerto; / **D.C:** Dados Conflitantes (não há consenso entre os depositantes dos dados quanto ao significado clínico da variante). / **ACMG:** **Classe 1:** benígna, **Classe 2:** provavelmente benigna, **Classe 3:** VUS, **Classe 4:** provavelmente patogênica, **Classe 5:** patogênica.

**ANEXO 7. Classificação das 55 variantes germinativas de acordo com programas de predição *in silico***

Gene	cDNA	AlignGVGD	PANTHER	H .Splice Finder	SIFT	PolyPhen (HDIV)	Mutation Taster	PROVEAN	CADD	REVEL
<b>ATM</b>	c.146C>G	C15	Não prediz gene	Afeta splicing.	Danosa	Possivelmente Danosa	Polimorfismo	Deletéria	25.1	0.06
<b>ATM</b>	c.1636C>G	C0	Não prediz gene	Afeta splicing	Danosa	Possivelmente Danosa	Polimorfismo	Neutra	13.24	0.06
<b>ATM</b>	c.1810C>T	C0	Não prediz gene	Afeta splicing	Tolerada	Possivelmente Danosa	Danosa	Neutra	24.3	0.41
<b>ATM</b>	c.2119T>C	C0	Não prediz gene	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	15.8	0.24
<b>ATM</b>	c.2572T>C	C0	Não prediz gene	Afeta splicing	Danosa	Possivelmente Danosa	Polimorfismo	Deletéria	8.82	0.12
<b>ATM</b>	c.2614C>T	C0	Não prediz gene	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	7.49	0.12
<b>ATM</b>	c.3118A>G	C0	Não prediz gene	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	0.019	0.09
<b>ATM</b>	c.3383A>G	C0	Não prediz gene	Afeta splicing	Danosa	Possivelmente Danosa	Polimorfismo	Neutra	21.9	0.21
<b>ATM</b>	c.378T>A	C0	Não prediz gene	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	4.63	0.163



<b>ATM</b>	c.4258C>T	C15	Não prediz gene	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Danosa	Deletéria	15.68	0.14
<b>ATM</b>	c.4709T>C	C0	Não prediz gene	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	8.671	0.15
<b>ATM</b>	c.544G>C	C0	Não prediz gene	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	12.39	0.03
<b>ATM</b>	c.5557G>A	C15	Não prediz gene	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	23.2	0.11
<b>ATM</b>	c.6067G>A	C65	Não prediz gene	Afeta splicing	Danosa	Provavelmente Danosa	Danosa	Deletéria	31	0.51
<b>ATM</b>	c.6995T>C	C25	Não prediz gene	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	12.88	0.19
<b>ATM</b>	c.9086G>A	C65	Não prediz gene	Afeta splicing	Danosa	Benigna	Danosa	Neutra	15.83	0.23
<b>BARD1</b>	c.1072C>G	Não prediz gene	Benigna	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	0.007	0.08
<b>BARD1</b>	c.1075_1095de l21	Não prediz gene	Benigna	.	.	.	.	.	.	.
<b>BARD1</b>	c.1134G>C	Não prediz gene	Provavelmente Danosa	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	8.652	0.11
<b>BARD1</b>	c.1518_1519de linsCA	Não prediz gene	Benigna	Afeta splicing	.	.	.	.	.	.

<b>BARD1</b>	c.1738G>A	Não prediz gene	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	19.08	0.13
<b>BARD1</b>	c.1933T>C	Não prediz gene	Benigna	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	0.148	0.04
<b>BARD1</b>	c.185G>C	Não prediz gene	Benigna	Sem alteração	Tolerada	Possivelmente Danosa	Danosa	Deletéria	16.69	.
<b>BARD1</b>	c.2212A>G	Não prediz gene	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Danosa	Neutra	11.71	0.01
<b>BRIP1</b>	c.2755T>C	Não prediz gene	NR	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	0.195	0.08
<b>BRIP1</b>	c.316C>T	Não prediz gene	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	22.5	0.06
<b>BRIP1</b>	c.3440delA	Não prediz gene	NR	Afeta splicing	.	.	.	.	.	.
<b>BRIP1</b>	c.584T>C	Não prediz gene	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Danosa	Neutra	4.462	0.10
<b>CDH1</b>	c.48+5C>G	Não prediz gene	.	.	.	.	.	.	.	.

<b>CHEK2</b>	c.1036C>T	C65	Provavelmente Danosa	Afeta splicing	Danosa	Provavelmente Danosa	Danosa	Deletéria	33	0.78
<b>CHEK2</b>	c.1312G>T	C25	Possivelmente Danosa	Afeta splicing	Danosa	Provavelmente Danosa	Danosa	Deletéria	33	0.33
<b>CHEK2</b>	c.715G>A	C15	Possivelmente Danosa	.	Tolerada	Possivelmente Danosa	Danosa	Neutra	24.8	0.44
<b>MRE11A</b>	c.1002C>G	C0	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Danosa	Neutra	20.8	0.11
<b>MRE11A</b>	c.102T>G	C0	Provavelmente Danosa	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Danosa	Deletéria	16.14	0.310
<b>MRE11A</b>	c.315-2A>G	.	NR	Afeta splicing	.	.	.	.	.	.
<b>MRE11A</b>	c.482A>G	C0	Provavelmente Danosa	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Danosa	Neutra	12.82	0.342
<b>MRE11A</b>	c.1783+5G>C	.	.	Afeta splicing	.	.	.	.	.	.
<b>MUTYH</b>	c.1005G>C	Não prediz gene	NR	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	6.039	0.043
<b>MUTYH</b>	c.1147delC	Não prediz gene	NR	Afeta splicing	.	.	.	.	.	.

<b>MUTYH</b>	c.1267C>T	Não prediz gene	NR	.	Danosa	Provavelmente Danosa	Polimorfismo	Neutra	22.9	0.615
<b>NBN</b>	c.1222A>G	C0	NR	Afeta splicing	Tolerada	Possivelmente Danosa	Polimorfismo	Neutra	0.578	0.081
<b>NBN</b>	c.1396delA	Sem predição	NR	Afeta splicing	.	.	.	.	.	.
<b>NBN</b>	c.553G>C	C0	NR	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	6.326	0.103
<b>PALB2</b>	c.1001A>G	C0	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Deletéria	0.068	0.014
<b>PALB2</b>	c.1010T>C	C0	Provavelmente Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	5.275	0.041
<b>PALB2</b>	c.1676A>G	C0	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	0.001	0.023
<b>PALB2</b>	c.2014G>C	C0	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	8.057	0.029
<b>PALB2</b>	c.2993G>A	C65	Provavelmente Danosa	Sem alteração	Danosa	Provavelmente Danosa	Danosa	Deletéria	33	0.290
<b>RAD50</b>	c.1397A>C	C25	Provavelmente Danosa	Sem alteração	Danosa	Benigna	Danosa	Neutra	19.68	0.131
<b>RAD50</b>	c.281T>C	C25	Benigna	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Danosa	Deletéria	20.9	0.153

<b><i>RAD50</i></b>	c.572C>T	C15	Provavelmente Danosa	Sem alteração	Danosa	Possivelmente Danosa	Danosa	Neutra	27.9	0.119
<b><i>RAD51C</i></b>	c.1009G>T	Não prediz gene	NR	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Danosa	Neutra	22.5	0.190
<b><i>RAD51C</i></b>	c.244C>T	Não prediz gene	Provavelmente Benigna	Sem alteração	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	4.633	0.033
<b><i>RAD51C</i></b>	c.859A>G	Não prediz gene	NR	Afeta splicing	Danosa	Provavelmente Danosa	Danosa	Deletéria	26.6	0.145
<b><i>TP53</i></b>	c.215C>G	C0	Benigna	Afeta splicing	Tolerada	Benigna	Polimorfismo	Neutra	0.355	0.368

**NR: Não relatadas**

**ANEXO 8. Classificação das 55 variantes germinativas de acordo com os bancos populacionais gnomAD e ABraOM**

Gene	cDNA	Proteína	ABraOM %	gnomAD %	gnomAD F %
<i>ATM</i>	c.146C>G	p.Ser49Cys	0%	1%	0%
<i>ATM</i>	c.1636C>G	p.Leu546Val	1%	0%	0%
<i>ATM</i>	c.1810C>T	p.Pro604Ser	1%	0%	0%
<i>ATM</i>	c.2119T>C	p.Ser707Pro	1%	1%	1%
<i>ATM</i>	c.2572T>C	p.Phe858Leu	1%	1%	0%
<i>ATM</i>	c.2614C>T	p.Pro872Ser	1%	0%	0%
<i>ATM</i>	c.3118A>G	p.Met1040Val	1%	0%	0%
<i>ATM</i>	c.3383A>G	p.Gln1128Arg	0%	0%	0%
<i>ATM</i>	c.378T>A	p.Asp126Glu	5%	2%	4%
<i>ATM</i>	c.4258C>T	p.Leu1420Phe	1%	1%	1%
<i>ATM</i>	c.4709T>C	p.Val1570Ala	0%	0%	9%
<i>ATM</i>	c.544G>C	p.Val182Leu	1%	0%	0%
<i>ATM</i>	c.5557G>A	p.Asp1853Asn	9%	11%	24%
<i>ATM</i>	c.6067G>A	p.Gly2023Arg	0%	0%	0%
<i>ATM</i>	c.6995T>C	p.Leu2332Pro	1%	0%	0%
<i>ATM</i>	c.9086G>A	p.Gly3029Asp	NR	0%	0%
<i>BARD1</i>	c.1072C>G	p.Pro358Ala	NR	NR	NR
<i>BARD1</i>	c.1075_1095del21	p.Leu359_Pro365del	NR	3%	0%

<b>BARD1</b>	c.1134G>C	p.Arg378ser	49%	54%	69%
<b>BARD1</b>	c.185G>C	p.Cys62sEArg	,	1%	0%
<b>BARD1</b>	c.1518_1519delinsCA	p.Val507Met	NR	NR	NR
<b>BARD1</b>	c.1738G>A	p.Glylu580Lys	0%	0%	0%
<b>BARD1</b>	c.1933T>C	p.Cys645Arg	2%	1%	0%
<b>BARD1</b>	c.2212A>G	p.Ile738Val	2%	1%	0%
<b>BRIP1</b>	c.2755T>C	p.Ser919Pro	67%	60%	42%
<b>BRIP1</b>	c.316C>T	p.Arg106Cys	NR	0%	0%
<b>BRIP1</b>	c.3440delA	p.Asn1147fs	NR	NR	NR
<b>BRIP1</b>	c.584T>C	p.Leu195Pro	0%	0%	1%
<b>CHEK2</b>	c.1036C>T	p.Arg346Cys	NR	0%	0%
<b>CHEK2</b>	c.1312G>T	p.Asp438Tyr	NR	0%	0%
<b>CHEK2</b>	c.715G>A	p.Glu239Lys	NR	0%	0%
<b>MRE11A</b>	c.1002C>G	p.Ser334Arg	1%	0%	0%
<b>MRE11A</b>	c.102T>G	p.Asn34Lys	NR	NR	NR
<b>MRE11A</b>	c.315-2A>G	.	NR	NR	NR
<b>MRE11A</b>	c.482A>G	p.Lys161Arg	NR	1%	0%
<b>MUTYH</b>	c.1005G>C	p.Gln335His	32%	29%	22%
<b>MUTYH</b>	c.1147delC	p.Ala385fs	NR	0%	0%
<b>MUTYH</b>	c.1267C>T	p.Arg423Cys	NR	0%	0%
<b>NBN</b>	c.1396delA	p.Arg466Glyfs*18	0%	0%	0%

<b>NBN</b>	c.1222A>G	p.Lys408Glu	0%	0%	0%
<b>NBN</b>	c.553G>C	p.Glu185Gln	28%	35%	35%
<b>PALB2</b>	c.1001A>G	p.Tyr334Cys	NR	0%	0%
<b>PALB2</b>	c.1010T>C	p.Leu337Ser	1%	1%	5%
<b>PALB2</b>	c.1676A>G	p.Gln559Arg	14%	10%	10%
<b>PALB2</b>	c.2014G>C	p.Glu672Gln	2%	2%	2%
<b>PALB2</b>	c.2993G>A	p.Gly998Glu	2%	2%	2%
<b>RAD50</b>	c.1397A>C	p.Gln466Pro	NR	0%	0%
<b>RAD50</b>	c.281T>C	p.Ile94Thr	NR	0%	0%
<b>RAD50</b>	c.572C>T	p.Thr191Ile	0%	0%	0%
<b>RAD51C</b>	c.1009G>T	p.Val337Leu	NR	NR	NR
<b>RAD51C</b>	c.244C>T	p.His82Tyr	NR	NR	NR
<b>RAD51C</b>	c.859A>G	p.Thr287Ala	2%	1%	0%
<b>TP53</b>	c.215C>G	p.Pro72Arg	68%	67%	73%
<b>CDH1</b>	c.48+5C>G	.	2%	1%	0%
<b>MRE11A</b>	c.1783+5G>C	.	0%	0%	0%

**NR:** Não reportados / **#** Os valores foram convertidos para porcentagem/**\*gnomAD F:** Porcentagem específica para os Finlandeses.