Utilização dos *modelos BRCAPRO, BOADICEA e Tyrer-Cuzick como ferramentas na*referenciação  de utentes para testes genéticos BRCA no contexto de cancro da mama                                                                                                                                    Modelos de risco na referenciação de utentes para testes genéticos de mutações BRCA

Diogo Macedo

Gabriela Cavaz

Sara Amorim

# 

# Lista de Abreviaturas

* BOADICEA: Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm
* BRCA 1: Gene 1 de suscetibilidade para o cancro da mama
* BRCA 2: Gene 2 de suscetibilidade para o cancro da mama
* CM: Cancro da Mama
* Her2: Human Epidermal Growth Factor Receptor - tipo 2
* HR: Recombinação Homóloga
* IMC: Índice de Massa Corporal
* RE: Recetor de estrogénio
* RP: Recetor de Progesterona

# Resumo

 Em Portugal e no mundo, o cancro da mama,  caraterizado pela proliferação de células cancerígenas no tecido mamário, é a neoplasia com maior taxa de incidência no sexo feminino.

O mecanismo fisiopatológico desta neoplasia ainda não é consensual, no entanto, esta pode ser classificada como esporádica ou hereditária. As causas mais frequente de cancro da mama hereditário são mutações germinativas nos genes BRCA 1 e/ou 2.

Pretendeu-se com esta revisão de literatura, explicar o papel os principais fatores de risco e de proteção associados ao cancro da mama, identificar as estratégias de utilizadas em Portugal para referenciação para testes genéticos de indivíduos ou famílias suspeitos de possuírem uma mutação BRCA e por último avaliar o papel de modelos de instrumento de cálculo de probabilidade de mutação patogénica nos genes BRCA1 e BRCA2 (BOADICEA, BRCAPRO e Tyrer-Cuzick).

Em Portugal, a referenciação de um utente para um teste genético BRCA assenta em critérios que têm em conta a  história pessoal e familiar e em modelos de avaliação de risco de ter mutação BRCA como o  BOADICEA, BRCAPRO e Tyrer-Cuzick.  Pensa-se que este conjunto perfaz a melhor estratégia de referenciação, uma vez que a sensibilidade e especificidade estão aumentadas.

Recomendamos que na prática clínica, para calcular a probabilidade de um individuo possuir mutações BRCA, sejam usados preferencialmente os modelos BRCAPRO e BOADICEA. No entanto, quando o objetivo for calcular o risco de um individuo desenvolver cancro da mama, deve-se usar o modelo Tyrer-Cuzick.

## Palavras-chave:  BRCA1; BRCA2; cancro da mama hereditário; testes genéticos; modelos de cálculo de risco;

# Objetivos

* Identificar os principais fatores de risco e proteção associados ao cancro da mama
* Apontar as estratégias utilizadas, na atualidade, para referenciação de testes genéticos em Portugal
* Comparar a utilidade dos diferentes modelos de cálculo do risco de mutações BRCA

# Metodologia:

Para a realização desta revisão de literatura, recorreu-se à base de dados Pubmed, durante os meses de abril e maio de 2020, e obteve-se a literatura biomédica de interesse através da pesquisa de termos, sendo os mais recorrentes: BRCA 1, BRCA 2, Hereditary Breast Cancer, genetic test and risk assessment tools. Não se definiu limite temporal, no entanto, foram privilegiadas as fontes mais recentes e restringiu-se a pesquisa a artigos de língua inglesa e portuguesa. Quando nos artigos científicos selecionados foi feita referência a outros artigos considerados relevantes, esses foram também escolhidos.

Também foram consultados livros desenvolvidos por profissionais de saúde especializados e documentos elaborados por entidades portuguesas e internacionais relacionadas à área de oncologia mamária, que continham recomendações e guidelines sobre o assunto em estudo.

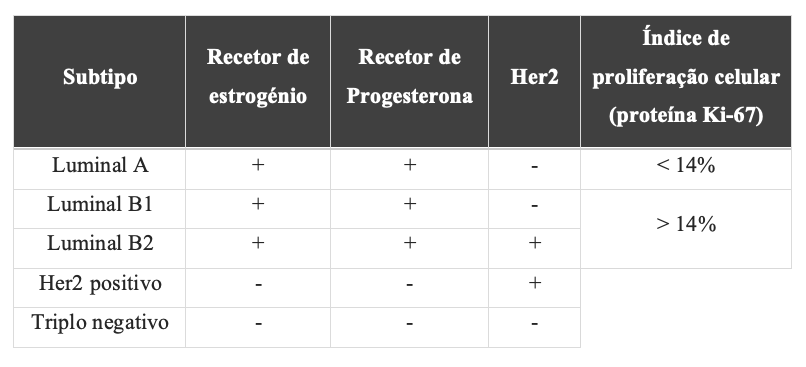
# Classificação do Cancro da Mama

Uma neoplasia, é originada por crescimento anormal e divisão não controlada de células. As neoplasias podem ser classificadas como benignas ou malignas, sendo que estas diferem na capacidade de evasão, as malignas têm a capacidade de mestatização (1; 2).

O cancro da mama é uma doença maligna caraterizada pela proliferação de células cancerígenas no tecido mamário. O mecanismo fisiopatológico desta neoplasia ainda não é consensual, no entanto, o cancro da mama pode ser dividido em dois grandes grupos: o cancro da mama esporádico (90%), que se desenvolve devido a uma acumulação de mutações não reparadas, causadas por fatores internos e externos em genes somáticos, e o cancro da mama hereditário (10%) que está relacionado como mutações germinativas em genes com importância na regulação do ciclo celular, genes supressores de tumores e promotores da apoptose (3).

A neoplasia mamária pode ser classificada em diferentes subtipos de acordo com as características morfológicas do tumor: carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, tubular, mucinoso, medular e carcinoma adenoide cístico. Por outro lado, o cancro da mama pode também ser dividido em 5 subtipos com base na expressão de recetores de estrogénio (RE) e de progesterona (RP) e do oncogene Her2 (4).

 O Luminal A e B1 são positivos para os recetores hormonais e negativos para o Her, mas apresentam índices de proliferação diferentes (medido através da expressão da proteína Ki-67). Valores abaixo de 14% correspondem ao Luminal A e acima de 14% ao Luminal B. O Luminal B2 é positivo para os recetores de estrogénio, progesterona e para o Her2 e apresenta um índice de proliferação celular  superior a 14%. O subtipo Her2 positivo não expressa o recetor de estrogénio nem de progesterona, sendo apenas positivo para o Her2. Os tumores que não expressam o RE, o PR e o Her2 são designados de triplos-negativos e, frequentemente, são maiores e apresentam fenótipos agressivos. (5; 4) .



Subtipos de cancros da mama com base na expressão de recetores hormonais e do oncogene Her2.

# 

# Epidemiologia do Cancro da mama

## Cancro no mundo

A incidência mundial do cancro da mama tem vindo a aumentar. Em 1980, foram diagnosticados cerca de 641,000 casos de cancro da mama, em 2010 mais de 1,6 milhões de casos novos e em 2018, estima-se que o número de novos diagnósticos de cancro da mama, em mulheres, foi de 2,1 milhões. A incidência desta doença varia entre zonas do mundo, sendo maior em regiões como a América do Norte, em comparação com a África Central e a Ásia Oriental. Estas variações advêm dos diferentes fatores de risco e disponibilidade e utilidade de meios de deteção, como a mamografia. Nas regiões com maior incidência, o cancro da mama é, frequentemente, diagnosticado nas fases iniciais, sendo o prognóstico favorável. O contrário acontece em regiões de médio/baixo rendimento, nas quais as taxas de mortalidade são maiores. Adicionalmente, a incidência do tipo de tumor também varia com a etnicidade, tendo as mulheres africanas e afro-americanas as taxas mais elevadas de tumores triplos-negativos e de metástases, estando estes associados a uma baixa sobrevivência (6).

## Cancro em Portugal

Em Portugal, o cancro da mama é o cancro com maior taxa de incidência em mulheres, surgindo cerca de 6000 novos casos por ano, sendo que o número de mortes anual, devido a esta doença, ronda os 1600 (7). As incidências em Portugal têm vindo a aumentar, em todas as idades e regiões do país, sendo que entre 1998 e 2011 foram diagnosticados 71 545 casos de cancro da mama em mulheres entre os 30 e os 84 anos. (8)

# Etiologia do Cancro da mama

## Fatores de risco genéticos

De todos os casos de cancro da mama hereditário, estima-se que 80 % representem cancros originados por uma ou mais mutações patogénicas nos genes BRCA1 e BRCA2. Estas mutações foram primeiramente associadas a maior incidência de cancro da mama há cerca de 25 anos (9; 10).

Desde então, foram identificadas cerca de 1600 mutações no gene BRCA1 e 1800 para o BRCA2, que consistem em deleções, inserções, polimorfismos de nucleotídeo único e *missense* (11).  Estas podem ser herdadas (linha germinativa) ou surgir como resultado de uma combinação de fatores genéticos e ambientais (somáticos) (12).

As mutações BCRA herdades geneticamente apresentam um padrão de transmissão autossómica dominante com penetrância incompleta, assim nem todos os portadores de uma mutação BRCA de alto risco em um ou ambos os genes BCRA, desenvolvem cancro, mostrando que existem outros fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida que conferem proteção ou risco (6).

Os genes BRCA1 (17q21) e BRCA2 (13q13) contêm a informação genética necessária para codificar duas proteínas com o mesmo nome e com função supressora de tumores. Quando o DNA é danificado por fatores internos (stress replicativo, metabolismo celular e radicais de oxigénio) e externos (vírus, quimioterapia, radiação UV) as proteínas BRCA1 e BRCA 2, mantém a estabilidade genómica através do reparo de quebras de fita dupla do DNA (DSBs, double-strand breaks) pelo mecanismo de recombinação homóloga do DNA (HR) (13; 14; 11).

Assim, quando os genes BRCA estão mutados, as proteínas disfuncionais que codificam não cumprem a função de reparação de DNA por HR e as células reparam essas lesões por mecanismos alternativos, mais propensos a erros. A acumulação de erros no material genético resulta na transformação oncogénica de células não tumorais em células iniciadoras de tumor ou células-estaminais cancerígenas (CSCs, Cancer stem cells) com posterior evolução tumoral (11).

Por mecanismos ainda não compreendidos, estes genes demonstram grande importância na reparação do DNA na mama feminina e masculina e por isso, mutações nestes, aumentam o risco de desenvolvimento de cancro neste tecido, em ambos os sexos. O gene BRCA 1 aumenta o risco em cerca 65-80% em mulheres e até 3% em homens e gene BRCA 2 50-75% no sexo feminino e até 12% no masculino (15).

Estas mutações estão associadas com um risco cumulativo de cancro da mama aos 80 anos, de 72% para BRCA1 e 69% para BRCA2 (6)

 A mutação BRCA que um indivíduo possui, também é indicativa do tipo de cancro da mama que pode vir a desenvolver. Cancros da mama com mutações no BRCA1 tendem a estar associados a cancros triplos negativos e, cerca de 60% de mulheres com mutações neste gene desenvolvem cancro da mama aos 70 anos. Por outro lado, os cancros com mutações no BRCA2 tendem a ser RE e PR positivos e Her2 negativos. Aos 70 anos, o risco de desenvolver cancro da mama, estando presente a mutação no BRCA2, é de 55% (16)

A identificação de mutações BRCA é extremamente importante, uma vez que, permite tomar medidas profiláticas e detetar o cancro da mama em fases precoces. Nos últimos anos, também é uma informação crucial na escolha do tratamento e definição do prognóstico (17).

## Fatores de risco / protetores não genéticos:

Existem diversos fatores que influenciam o desenvolvimento do cancro da mama, quer por aumentarem o risco do seu aparecimento ou por conferirem proteção. Estes fatores podem ser divididos em categorias, de forma a simplificar a sua abordagem.

### Informação pessoal:

* Idade: Diagnóstico mais frequente é em mulheres entre os 55 e os 64 anos, sendo que o risco aumenta com a idade (16). No entanto, outros estudos referem que mulheres mais novas apresentam um maior risco, desenvolvendo tumores maiores e de estádios mais avançados  (4).
* IMC: Valores de IMC entre 25 e 29,9 Kg/m2 refletem excesso de peso , e valores acima dos 30 Kg/m2 são indicativos de obesidade. Mulheres, em pós-menopausa, com sobrepeso ou obesidade a percentagem de tumores RE positivos é mais elevada, em comparação com mulheres com valores abaixo de 25.
* O excesso de massa gorda está associado a um aumento do risco de cancro da mama e pensa-se que esta relação tem como base a insulina e os IGF (*insulin-like growth factors*), ambas proteínas mitogénicas e anti-apoptóticas (16; 18).
* Consumo de álcool: Existe uma forte relação entre o consumo de álcool e o cancro da mama, sendo que quanto maior o consumo de álcool diário maior o risco (16).  Quer em mulheres em pós-menopausa ou pré-menopausa, por cada 10g de álcool diárias consumidas, o risco aumenta entre 7% a 10% (6).

### Fatores hormonais/reprodutivos:

* Menarca:  A menarca pode estar associada com o cancro da mama, na medida em que o aparecimento precoce desta aumenta o risco de desenvolvimento do cancro da mama, devido a uma exposição mais prolongada a estrogénios (19; 20).
* Gravidez:  O aparecimento de cancro da mama é comum em mulheres grávidas e pós-parto. Após a gravidez, o risco de cancro da mama aumenta devido às flutuações hormonais, que promovem a proliferação celular (16). No entanto, diversos estudos associam mulheres que engravidaram cedo com um risco diminuído de cancro da mama (19).
* Amamentação:  A amamentação é associada a uma diminuição do risco de cancro da mama, uma vez que confere um estado hipo-estrogénico à mulher. Vários estudos demonstraram que esta diminuição do risco apenas se reflete no cancro da mama triplo negativo  (16; 21).
* Menopausa:  A idade de aparecimento da menopausa tem também influência no risco de cancro da mama, sendo que o aparecimento mais tardio está associado a um maior risco. Por outro lado, mulheres em pré-menopausa têm também um maior risco de cancro da mama, quando comparadas com mulheres em pós-menopausa. (16; 4) .
* Terapia de substituição hormonal: O uso de terapia de substituição hormonal durante a menopausa está associado com um aumento do risco de cancro da mama, sendo que quanto mais longa for a duração desta terapia, maior será o risco. Para além disto, o tipo de progestina utilizada na terapia tem também influência no risco (19; 22).
* Contracetivos orais: A associação entre a toma de contracetivos orais e o risco de cancro da mama é ainda foco de investigação e permanece controversa. Apesar de alguns estudos demonstrarem que o uso de contracetivos orais aumenta o risco de cancro da mama, outros revelam que esta associação é baixa. No entanto, alterações nas formulações destes contracetivos, ao longo dos anos, podem fundamentar estas diferenças nos estudos (19; 23).

# 

# Critérios de elegibilidade para teste genético em Portugal

Atualmente, sabe-se que para diminuir a incidência de cancro da mama hereditário na população, a identificação de indivíduos e/ou famílias com mutações BRCA é crucial.  Se bem referenciado para um teste genético, o sujeito pode beneficiar de medidas profiláticas e de rastreio personalizadas, bem como de um diagnóstico precoce essencial, seguido de tratamentos direccionado e prognóstico apropriado, o que aumenta consideravelmente as taxas de cura.

Em Portugal, o processo de referenciação começa durante a consulta de Medicina Geral e Familiar, onde o clínico deve recolher o histórico pessoal e familiar do paciente relativamente a neoplasias.  Se os antecedentes forem sugestivos de síndrome hereditária, o indivíduo é direcionado para uma consulta de Oncogenética, cujo objetivo é oferecer o diagnóstico genético apropriado, proporcionar aconselhamento pré e pós-teste genético e identificar e referenciar os familiares portadores de risco.

Ainda que existam algumas variações de entre as entidades portuguesas, parece haver um consenso  relativamente aos critérios de elegibilidade para o teste genético por suspeita de cancro hereditário da mama:

1. Dois ou mais parentes de 1.º grau diagnosticados com cancro da mama ou do ovário;
2. Vários casos de cancro da mama em familiares de 1.º ou 2.º grau, cujas idades de diagnóstico da neoplasia sejam inferiores a  50 anos;
3. Antecedentes familiares ou pessoais de cancro da mama, cancro da mama bilateral e cancro do ovário;
4. CM triplo negativo;
5. CM em familiar do sexo masculino;
6. Ocorrência de outros cancros na mesma família (próstata, estômago, pâncreas ou coloretal) alguns deles diagnosticados antes dos  50 anos;
7. Ascendência Ashkenazi.

De modo complementar, é calculada a probabilidade de mutação BRCA1/BRCA2  através do uso de modelos matemáticos como o BRCAPRO, BOADICEA e oTyrer-Cuzick. Se a probabilidade de mutação for igual ou superior a 10%,  o paciente efectuará o teste genético para os genes BRCA1 e BRCA2  (15; 24; 25).

# 

# Modelos de calculo calculo de risco de mutação BRCA1 e BRCA2

A probabilidade de um paciente possuir uma mutação BRCA e a predição do risco de cancro da mama é feita através de modelos matemáticos. Existem vários modelos disponíveis, que possuem funções distintas e têm em conta fatores de risco diferentes.

Modelos como o Claus, Gail foram desenhados para estimar o risco de um indivíduo desenvolver cancro da mama durante a sua vida, enquanto outros modelos, além de calcularem este risco, também são capazes de estimar o risco de um indivíduo carregar uma mutação BRCA 1/2, o que pode ser útil na referenciação para testes genéticos.

Dos modelos dedicados a estimar a probabilidade de possuir mutação BRCA1 e/ou BRCA2, os modelos BRCAPRO (26), Tyrer-Cuzick (27) e o BOADICEA (28) são os mais utilizados, como tal serão o foco do nosso trabalho. Além destes, existem outros modelos como Manchester (29), Couch / Penn (30),  Penn II , Myriad II (31), FHAT (32). É possível ainda distinguir os modelos entre os que usam um sumário de dados familiares e os que consideram todos os indivíduos separadamente.

### BRCAPRO

Este modelo foi inicialmente proposto em 1998, 3 anos após identificação dos genes BRCA no genoma humano. Como este conjunto de mutações foram as primeiras associadas ao cancro da mama, modelos como o BRCAPRO e o Couch limitaram-se a ponderar o risco destas, característica que mantêm até hoje.  Paralelamente à introdução deste modelo, ficaram disponíveis testes laboratoriais que permitiam detetar a mutação BRCA 1 e 2 em pacientes, levantando-se a discussão sobre como escolher quem testar (26).

Este modelo recolhe a informação dos diagnósticos de cancro da mama e do ovário de familiares de primeiro e de segundo grau como também daqueles que não desenvolveram qualquer das patologias, para elaboração de um *pedrigree*. Neste processo o modelo calcula a probabilidade de cada evento de cancro ter sido causado por uma mutação BRCA com base na etnicidade, idade de diagnóstico e de morte. Para calcular a probabilidade cada individuo ser portador da mutação BRCA é utilizado então tanto a probabilidade dos progenitores serem portadores, caso esta esteja disponivel , e no caso de o individuo ter um cancro qual era a probabilidade de este estar relacionado com uma mutação BRCA, caculado da maneira anteriormente descrita. O processo computacional cumulativo do pedigree total seguindo esta lógica permite calcular a probabilidade do inviduo a ser acompanhado ser portador desta mutação.

Com base na probabilidade de a mutação ser passada à descendência por cada um dos familiares e assumindo um padrão autossómico dominante, o modelo calcula então a probabilidade do indivíduo em estudo ter a mutação BRCA.

O modelo para integrar estes dados usa vetores em que para cada *locus* pode-se ter tanto nenhum,  um ou dois alelos mutados. Este rácio não representa ainda a probabilidade de ser portador da mutação, uma vez que o modelo aplica o teorema *Bayes,* que se traduz na probabilidade do individuo ser portador, sabendo que ele teve um certo cancro, ou não, com os dados de frequência das mutações na população geral e pacientes com cancro(26).

Além disto, o modelo também calcula a probabilidade de desenvolver cancro durante a vida ou dentro dos próximos 5 anos, sendo que utiliza para este fim, a probabilidade calculada de o paciente ser portador de uma ou das duas mutações e a taxa de penetração do cancro da mama em portadoras. Este modelo no seu uso de informação populacional é capaz de receber novos dados, de forma a adequar o mesmo ao momento atual e não só no momento em que este foi originalmente criado (1998) (26). Em contra partida este modelo não tem conta muitos fatores de risco não hereditários no seu desenho (26; 33).

### Tyrer-Cuzick

Em muitos contextos é também identificados IBIS, devido ao nome do estudo do qual foram usados os dados para a sua calibração. De forma semelhante ao BRCAPRO, este modelo é tanto capaz de calcular a predisposição para a presença de mutações BRCA como o risco de cancro para fatores não hereditários. Este modelo inclui também na sua abordagem de modelagem elementos como a criação de um gene substituto. Este pretende representar o risco residual de genes ainda não conhecidos até ao momento, sendo considerado autossómico dominante e tratado como os BRCA na abordagem matemática. Os genes utilizados são processados  de forma semelhante ao BRCAPRO, utilizando o teorema de *Bayes* para conjugar a informação populacional e familiar em estudo. No entanto, este modelo diferencia-se na maneira como simplifica as duas mutações num único locus, de modo a ser mais simples, limitando as situações em que o portador têm os dois tipos de mutação. Os autores assumiram isto como um bom compromisso, pela rareza destes casos (27).

Dentro dos fatores não genéticos, este modelo recolhe inúmeras informações, porém estas são utilizadas para estimar o risco de cancro nos 10 anos seguintes ou no decorrer da vida, e não a probabilidade de ser portador de BRCA(27).

### BOADICEA

Este é um modelo focado em fatores hereditários, semelhante aos dois modelos previamente apresentados. Para além da informação recolhida pelos modelos anteriormente referidos, recolhe a informação de outros cancros que foram relacionados com mutações BRCA2, nomeadamente o cancro da próstata e pancreático. Além disso, procura identificar e compensar influências poligénicas, nomeadamente em famílias em que estima haver um número de casos de cancro agrupados superior aquele esperado pela existência de mutações BRCA. No estudo do pedigree familiar ele assume uma abordagem semelhante ao BRCAPRO dado que este é capaz de recolher a informação de pessoas afetadas ou não, sendo que recolhe a idade do primeiro diagnóstico e data de nascimento. Este também tem a capacidade de integrar informação de rastreios para BRCA que estes familiares possam ter feito, sendo que compensa para a sensibilidade do teste usado(28; 34; 35).

## Especificidade, Sensibilidade e o Ponto de corte do Risco (ELIMINAR TABELA?)

Sensibilidade e Especificidade recolhidos em estudos de validação de modelos de averiguação de risco de mutação de BRCA. Nestes foi utilizado um ponto de corte de risco de 10%, o standard atual (citar 5)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Estudo | População | Modelo | Sensibilidade | Especifidade |
| Selecting a BRCA risk assessment model for use in a familial cancer clinic | Canadian, including high amount of Ashkenazi Jewish | BRCAPRO | 0.75 | 0.62 |
|  |  | Manchester | 0.58 | 0.71 |
|  |  | Penn II | 0.93 | 0.31 |
|  |  | Myriad II | 0.71 | 0.63 |
|  |  | FHAT | 0.7 | 0.63 |
|  |  | IBIS | 0.2 | 0.74 |
|  |  | BOADICEA | 0.7 | 0.65 |
| Performance of BOADICEA and BRCAPRO genetic models and of empirical criteria based on cancer family history for predicting BRCA mutation carrier probabilities: A retrospective study in a sample of Italian cancer genetics clinics | Italian | BOADICEA | 0.76 | X |
|  |  | BRCAPRO | 0.77 | X |

### Limitações e possibilidades

Um dos principais argumentos formulados contra a utilização de modelos de risco para a gestão de indivíduos potencialmente portadores da mutação BRCA é a falta de sensibilidade (capacidade de detetar pessoas que sejam portadoras, de muitos dos modelos) problema partilhado pelos 3 modelos estudados. Estudos em que são comparados contra o uso de guidelines baseadas em critérios, as guidelines conseguem identificar um maior número de casos de mutações, porém nesta abordagem o número de testes que se realizaram foi mais elevado, o que resulta em níveis de especificidade (capacidade de dar negativo em pessoas que não são portadoras), mais baixos (36).

Dos estudos de valdidação obtidos e apresentados na tabela 2 (37; 33; 36; 38), os modelos BRCAPRO e BOADICEA têm um perfomance semelhante e tendencialmente superior aquela do Tyrer-Cuzick. A semelhança dos dois primeiros modelos versus a maior simplicidade do ultimo poderá ser a principal razão por de trás desta diferença. A mesmo tempo estes modelos mais sensiveis são menos especifcos, apesar de no estudo da população alemã , todos tiveram valores semelhantes. Mostrando a necessidade de haver um equilibrio entre as duas metricas.

Modelos como o BRCAPRO e e o BOADICEA também foram observados como sobrestimando probabilidade em grupos de risco e subestimando em grupos de menor risco (36). Por de trás disto pode estar o enviasamento dos grupos estudados, normalmente pessoas que estão a ser acompanhadas na clinica por questões relacionadas com cancro, com os quais estes modelos são calibrados e validados, versus a população geral.

Modelos como o BOADICEA-path, um desenvolvimento atual, procura adicionar dados patologicos mais completos, melhorou a sua sensibilidade versus a versão orginal apesar de ter tido o maior aumento na sua especificidade o que poderá contribuir para um impacto menor dos testes genéticos na peração do sistema de saude (38).

## 4.3 Teste genéticos usados em Portugal

O teste genético é um exame médico que deteta alterações em genes (teste genético molecular), cromossomas (teste genético cromossómico) e proteínas (teste genético bioquímico). Um teste genético molecular para o cancro da mama identifica a presença ou ausência de genes que aumentam o risco de um indivíduo desenvolver a patologia.

Em Portugal, após a verificação de cumprimento dos critérios de elegibilidade, existem duas  abordagens principais para testar a presença de mutações BRCA 1 e/ou BRCA 2, a execução do teste genético de índice ou o teste de portador.

O teste genético de índice é usado quando, apesar das suspeitas de cancro da mama hereditário, a nenhum membro sintomático ou assintomático da família foi confirmada a presença de uma mutação BRCA específica. Neste caso existem várias entidades e clínicas que, com uma requisição médica e consentimento informado assinado pelo utente , executam uma pesquisa detalhada das possíveis mutações causados de cancro familiar (24).

Esta pesquisa é idealmente feita através do DNA obtido a partir do sangue recolhido do familiar sobrevivente de cancro que foi diagnosticado em idade mais jovem (paciente índex), uma vez que um membro que ainda não desenvolveu a neoplasia, pode testar falso negativo (39)

Nestas instituições lusas, as mutações em genes associados a uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento do cancro da mama podem ser identificadas por dois métodos principais: a sequenciação e os painéis genéticos.

Há dois tipos principais de mutações que podem ocorrer na sequência dos genes em análise. Mutações que envolvem uma ou um número reduzido de bases, como inserções, deleções e substituições ou grandes mutações como deleções/duplicações no(s) gene(s) em estudo.

Se o objetivo for o estudo de um gene com mutações pontuais, o especialista poderá pedir um estudo genético com bases na sequenciação convencional ou sequenciação de Sanger. Se o número de genes a estudar for superior a 3 genes, este método torna-se dispendioso e moroso e o método de sequenciação a preferir é a sequenciação de nova geração (NGS, Next Generation Sequencing), que permite a sequenciação de um grande número de genes e a deteção de pequenas alterações.

Uma limitação destas técnicas é que não permitem a deteção de grandes duplicações ou deleções, estando por isso associadas à técnica Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA) ou outras equivalentes (40; 39).

Como alternativa a estes processos existem painéis genéticos que podem testar simultaneamente vários genes distintos. Em Portugal, existem painéis que testam concomitantemente  21 a 28 genes mutados associados à neoplasia mamária (genes de elevada penetrância e genes BRCA) e painéis genéticos de 2 genes (Gene BRCA 1 e 2).  Numerosos estudos recentes têm demonstrado que o teste em painel além de ter uma relação  custo-benefício superior ao método de sequenciação, aumentam significativamente a taxa de identificação de mutações patogénicas, pois incluem as mutações mais frequentes (BRCA 1 e BRCA2) e as menos comuns (41).

A segunda abordagem é o Teste genético de Portador. Quando uma mutação BRCA específica já está confirmada na família, ao indivíduo em aconselhamento genético é indicado o Teste de Portador que apenas testa a presença/ausência dessa mutação  (24).

Recentemente, estes dois testes podem ser utilizados de modo complementar, depois da mutação familiar ser identificada no paciente índice pelo teste genético de índice, os restantes familiares apenas executam o teste de portador,  maximizando assim os benefícios clínicos e melhorando a relação custo-benefício (42; 24).

# Discussão

O cancro da mama é uma neoplasia com grande incidência a nível global. A fisiopatologia desta doença ainda não é totalmente conhecida, tornando-se, assim, importante estudar fatores que estejam envolvidos no aumento ou diminuição do risco do seu aparecimento.

A neoplasia mamária pode ter origem esporádica ou hereditária. Sabe-se que,  a causa mais frequente de cancro da mama hereditário são mutações germinativas nos genes BRCA 1 e/ou 2.    Desta forma, é extremamente importante identificar indivíduos e/ou famílias que apresentem estas mutações, através de testes genéticos. Os sujeitos referenciados para estes testes beneficiam de um acompanhamento médico personalizado, que diminui a probabilidade de aparecimento do cancro e/ou aumenta da expectativa de cura.

Como referido anteriormente, em Portugal, a referenciação de um utente para um teste genético BRCA assenta em critérios que têm em conta a  história pessoal e familiar e em modelos de avaliação de risco de ter mutação BRCA como o  BOADICEA, BRCAPRO e Tyrer-Cuzick. Pensa-se que este conjunto perfaz a melhor estratégia de referenciação, uma vez que a sensibilidade e especificidade estão aumentadas.

Pensamos que os modelos de calculo de risco assumem elevada importância na referenciação, uma vez que complementam os critérios pessoais e familiares. As orientações enumeradas na secção “Critérios de elegibilidade para teste genético em Portugal” possuem boa sensibilidade (capacidade de detetar indivíduos que possuem a mutação BRCA) mas baixa especificidade (referenciar um número alto de indivíduos para teste genético que não possuem mutação BRCA ), o que pode resultar em prejuízo material e monetário para o sistema de saúde. Ao usar-se de modo complementar os modelos de cálculo de risco no processo de encaminhamento, a especificidade aumenta sem resultar em perda de sensibilidade, e a relação custo-benefício aumenta. Supomos que o contrário também se verificaria, se apenas fossem usados os modelos matemáticos na prática clínica portuguesa, a sensibilidade e a especificidade não seriam as ideais.

No que diz respeito ao calculo da probabilidade de um paciente possuir uma mutação BRCA, os três modelos em análise têm em conta fatores genéticos e familiares. Os modelos BRCAPRO e BOADICEA, por vezes superestimam ou subestimam a probabilidade de mutação BRCA, no entanto têm valor de especificidade e sensibilidade altos o que os coloca em vantagem em comparação com o modelo Tyrer-Cuzick. O modelo Tyrer-Cuzick calcula de um modo simplificado esta probabilidade, fazendo com que o valor de sensibilidade diminua. Sugerimos que os modelos de calculo sejam aprimorados.

No futuro, para que a performance deste modelo seja superior, poderia ser incluídos fatores proteção na recolha dos dados para o pedigree. Isto resultaria num aumento da sensibilidade, sem que haja um impacto negativo ao nível da especificidade.

Por outro lado, estes modelos também predizem o risco de cancro da mama.

O modelo Tyrer-Cuzick, neste aspeto, é o modelo mais completo, uma vez que tem em conta fatores familiares e fatores de risco para predizer o risco de esse paciente ter cancro mamário, sendo portanto, na teoria, o melhor modelo matemático para se utilizar na prática clínica.

Os modelos BRCAPRO e BOADICEA ao calcularem o risco de um utente desenvolver a neoplasia mamária, utilizam apenas fatores familiares no cálculo. Sugere-se que sejam incluídos fatores de risco não genéticos.

Nos três modelos, não são considerados fatores de proteção, propomos que estes sejam tomados em consideração, uma vez que nem todos os indivíduos portadores de mutações BRCA desenvolvem a patologia.

# Conclusão

Atualmente, em Portugal, a referenciação de indivíduos para testes genéticos BRCA baseia-se em critérios que remetem para história pessoal e familiar. Associado a estes, são utilizados modelos de avaliação de risco de ter mutação BRCA. Consideramos que esta combinação reflete a melhor estratégia de referenciação, pois tem uma sensibilidade e especificidade elevadas.

Em suma, recomendamos que na prática clínica, para calcular a probabilidade de um indivíduo possuir mutações BRCA, sejam usados preferencialmente os modelos BRCAPRO e BOADICEA.

No entanto, quando o objetivo for calcular o risco de um indivíduo desenvolver cancro da mama, deve-se usar o modelo Tyrer-Cuzick.

Pensamos que um modelo que incluísse no calculo do risco de desenvolver cancro da mama, fatores de risco e fatores de proteção genéticos e não genéticos, seria o modelo ideal para responder à  pergunta, sem resposta, mais colocada por estes indivíduos ao clínico “Vou ou não ter cancro, sabendo que tenho uma mutação BRCA?”.

# References

1. NCI Dictionary of Cancer Terms [Internet]. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/neoplasm;> Available at: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms>

2. William Kemp TGB Dennis K. Burns. Pathology: The Big Picture. McGraw Hill Professional; 2007.

3. A systematic review of the international prevalence of BRCA mutation in breast cancer. Clinical Epidemiology [Internet]. July 2019;Volume 11:543–61. Available at: <https://doi.org/10.2147/CLEP.S206949>

4. Tao ZQ, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast Cancer: Epidemiology and Etiology. Cell Biochemistry and Biophysics [Internet]. December 2014;72(2):333–8. Available at: <https://doi.org/10.1007%2Fs12013-014-0459-6>

5. Subtipos moleculares do câncer de mama. FEMINA. 2011;39.

6. Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, Gnant M, Houssami N, Poortmans P, et al. Breast cancer. Nature Reviews Disease Primers [Internet]. September 2019;5(1). Available at: <https://doi.org/10.1038%2Fs41572-019-0111-2>

7. Oncologia e cancro da mama em Portugal – Fundo IMM Laço [Internet]. <https://fundoimmlaco.pt/estatisticas/;> Available at: <https://fundoimmlaco.pt/estatisticas/>

8. Lacerda GF de, Kelly SP, Bastos J, Castro C, Mayer A, Mariotto AB, et al. Breast cancer in Portugal: Temporal trends and age-specific incidence by geographic regions. Cancer Epidemiology [Internet]. June 2018;54:12–8. Available at: <https://doi.org/10.1016%2Fj.canep.2018.03.003>

9. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. Nature [Internet]. December 1995;378(6559):789–92. Available at: <https://doi.org/10.1038%2F378789a0>

10. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal P, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science [Internet]. October 1994;266(5182):66–71. Available at: <https://doi.org/10.1126%2Fscience.7545954>

11. Gorodetska I, Kozeretska I, Dubrovska A. BRCA Genes: The Role in Genome Stability Cancer Stemness and Therapy Resistance. Journal of Cancer [Internet]. 2019;10(9):2109–27. Available at: <https://doi.org/10.7150%2Fjca.30410>

12. Armstrong N, Ryder S, Forbes C, Ross J, Quek RGW. A systematic review of the international prevalence of BRCA mutation in breast cancer. Clinical Epidemiology [Internet]. July 2019;Volume 11:543–61. Available at: <https://doi.org/10.2147%2Fclep.s206949>

13. BRCA1 gene [Internet]. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA1;> Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA1>

14. BRCA2 gene [Internet]. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA2;> Available at: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA2>

15. As mutações BRCA e o cancro [Internet]. <https://www.ligacontracancro.pt/www/uploads/sede/campanha-brca/guia-brca-2019-vf-16.pdf;> Available at: <https://www.ligacontracancro.pt/www/uploads/sede/campanha-brca/guia-brca-2019-vf-16.pdf>

16. ROJAS KRISTIN, STUCKEY ASHLEY. Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. Clinical Obstetrics and Gynecology [Internet]. December 2016;59(4):651–72. Available at: <https://doi.org/10.1097%2Fgrf.0000000000000239>

17. Paris I, Giorgio DD, Palluzzi E, Garganese G, Terribile DA, Fragomeni SM, et al. Management of BRCA mutation carriers. Translational Cancer Research [Internet]. April 2018;7(S3):S329–S338. Available at: <https://doi.org/10.21037%2Ftcr.2018.01.23>

18. Biglia N, Peano E, Sgandurra P, Moggio G, Pecchio S, Maggiorotto F, et al. Body mass index (BMI) and breast cancer: impact on tumor histopatologic features cancer subtypes and recurrence rate in pre and postmenopausal women. Gynecological Endocrinology [Internet]. November 2012;29(3):263–7. Available at: <https://doi.org/10.3109%2F09513590.2012.736559>

19. Kamińska M, Ciszewski T, Łopacka-Szatan K, Miotła P, Starosławska E. Breast cancer risk factors. Menopausal Review [Internet]. 2015;3:196–202. Available at: <https://doi.org/10.5114%2Fpm.2015.54346>

20. Hsieh C-C, Trichopoulos D, Katsouyanni K, Yuasa S. Age at menarche age at menopause, height and obesity as risk factors for breast cancer: Associations and interactions in an international case-control study. International Journal of Cancer [Internet]. November 1990;46(5):796–800. Available at: <https://doi.org/10.1002%2Fijc.2910460508>

21. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. The Lancet [Internet]. July 2002;360(9328):187–95. Available at: <https://doi.org/10.1016%2Fs0140-6736%2802%2909454-0>

22. Ban KA, Godellas CV. Epidemiology of Breast Cancer. Surgical Oncology Clinics of North America [Internet]. July 2014;23(3):409–22. Available at: <https://doi.org/10.1016%2Fj.soc.2014.03.011>

23. Hunter DJ, Colditz GA, Hankinson SE, Malspeis S, Spiegelman D, Chen W, et al. Oral Contraceptive Use and Breast Cancer: A Prospective Study of Young Women. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention [Internet]. August 2010;19(10):2496–502. Available at: <https://doi.org/10.1158%2F1055-9965.epi-10-0747>

24. Guia de Orientação Terapêutica CANCRO HEREDITÁRIO [Internet]. <http://www.ipoporto.pt/dev/wp-content/uploads/2018/12/Normas-de-orienta%C3%A7%C3%A3o-Oncogen%C3%A9tica.pdf;> Available at: <http://www.ipoporto.pt/dev/wp-content/uploads/2018/12/Normas-de-orienta%C3%A7%C3%A3o-Oncogen%C3%A9tica.pdf>

25. Almada-Lobo F MC. Cancro da Mama - Recomendações do Núcleo de Actividades Preventivas da APMCG. Núcleo de Actividades Preventivas da APMCG.

26. Parmigiani G, Berry D, Aguilar O. Determining carrier probabilities for breast cancer-susceptibility genes BRCA1 and BRCA2.. Am J Hum Genet. 1998;62:145–58.

27. Tyrer J, Duffy SW, Cuzick J. A breast cancer prediction model incorporating familial and personal risk factors. Statistics in Medicine [Internet]. 2004;23(7):1111–30. Available at: <https://doi.org/10.1002%2Fsim.1668>

28. Antoniou AC, Pharoah PPD, Smith P, Easton DF. The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancer. British Journal of Cancer [Internet]. September 2004;91(8):1580–90. Available at: <https://doi.org/10.1038%2Fsj.bjc.6602175>

29. Evans DG, Eccles DM, Rahman N, Young K, Bulman M, Amir E, et al. A new scoring system for the chances of identifying a BRCA1/2 mutation outperforms existing models including BRCAPRO.. J Med Genet. 2004;41:474–80.

30. Couch FJ, DeShano ML, Blackwood MA, Calzone K, Stopfer J, Campeau L, et al. BRCA1Mutations in Women Attending Clinics That Evaluate the Risk of Breast Cancer. New England Journal of Medicine [Internet]. May 1997;336(20):1409–15. Available at: <https://doi.org/10.1056%2Fnejm199705153362002>

31. Frank TS. Clinical Characteristics of Individuals With Germline Mutations in BRCA1 and BRCA2: Analysis of 10,000 Individuals. Journal of Clinical Oncology [Internet]. March 2002;20(6):1480–90. Available at: <https://doi.org/10.1200%2Fjco.20.6.1480>

32. Gilpin CA, Carson N, Hunter AGW. A preliminary validation of a family history assessment form to select women at risk for breast or ovarian cancer for referral to a genetics center. Clinical Genetics [Internet]. December 2001;58(4):299–308. Available at: <https://doi.org/10.1034%2Fj.1399-0004.2000.580408.x>

33. Panchal SM, Ennis M, Canon S, Bordeleau LJ. Selecting a BRCA risk assessment model for use in a familial cancer clinic. BMC Medical Genetics [Internet]. December 2008;9(1). Available at: <https://doi.org/10.1186%2F1471-2350-9-116>

34. Antoniou AC, Cunningham AP, Peto J, Evans DG, Lalloo F, Narod SA, et al. The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancers: updates and extensions. British Journal of Cancer [Internet]. March 2008;98(8):1457–66. Available at: <https://doi.org/10.1038%2Fsj.bjc.6604305>

35. Lee AJ, A P Cunningham and, Kuchenbaecker KB, Mavaddat N, Easton DF, and ACA. BOADICEA breast cancer risk prediction model: updates to cancer incidences tumour pathology and web interface. British Journal of Cancer [Internet]. December 2013;110(2):535–45. Available at: <https://doi.org/10.1038%2Fbjc.2013.730>

36. Varesco L, Viassolo V, Viel A, Gismondi V, Radice P, Montagna M, et al. Performance of BOADICEA and BRCAPRO genetic models and of empirical criteria based on cancer family history for predicting BRCA mutation carrier probabilities: a retrospective study in a sample of Italian cancer genetics clinics.. Breast. 2013;22:1130–5.

37. Antoniou AC, Hardy R, Walker L, Evans DG, Shenton A, Eeles R, et al. Predicting the likelihood of carrying a BRCA1 or BRCA2 mutation: validation of BOADICEA BRCAPRO IBIS Myriad and the Manchester scoring system using data from UK genetics clinics. Journal of Medical Genetics [Internet]. May 2008;45(7):425–31. Available at: <https://doi.org/10.1136%2Fjmg.2007.056556>

38. Fischer C, Kuchenbäcker K, Engel C, Zachariae S, Rhiem K, Meindl A, et al. Evaluating the performance of the breast cancer genetic risk models BOADICEA IBIS BRCAPRO and Claus for predictingBRCA1/2mutation carrier probabilities: a study based on 7352 families from the German Hereditary Breast and Ovarian Cancer Consortium. Journal of Medical Genetics [Internet]. April 2013;50(6):360–7. Available at: <https://doi.org/10.1136%2Fjmedgenet-2012-101415>

39. Teste Genético [Internet]. <https://www.evitacancro.org/cancro-hereditario/teste-preditivo/;> Available at: <https://www.evitacancro.org/cancro-hereditario/teste-preditivo/>

40. Fátima Cardoso Eal. 100 perguntas chave no Cancro da Mama [Internet]. PERMANYER PORTUGAL. PERMANYER PORTUGAL; 2017. Available at: <https://www.sponcologia.pt/fotos/editor2/publicacoes/2_100_mama.pdf>

41. Manahan ER, Kuerer HM, Sebastian M, Hughes KS, Boughey JC, Euhus DM, et al. Consensus Guidelines on Genetic Testing for Hereditary Breast Cancer from the American Society of Breast Surgeons. Annals of Surgical Oncology [Internet]. July 2019;26(10):3025–31. Available at: <https://doi.org/10.1245%2Fs10434-019-07549-8>

42. Tuffaha HW, Mitchell A, Ward RL, Connelly L, Butler JRG, Norris S, et al. Cost-effectiveness analysis of germ-line BRCA testing in women with breast cancer and cascade testing in family members of mutation carriers. Genetics in Medicine [Internet]. January 2018;20(9):985–94. Available at: <https://doi.org/10.1038%2Fgim.2017.231>