



Sérgio D. J. Pena

GENE – Núcleo de
Genética Médica
de Minas Gerais e
Departamento de
Bioquímica e Imunologia
da Universidade Federal
de Minas Gerais

ROTEIRO CLÍNICO PARA IDENTIFICAÇÃO E ACONSELHAMENTO DE PORTADORAS DE MUTAÇÕES NOS GENES *BRCA1* E *BRCA2*

Rev bras Mastol 2006; 1:38-43

UNITERMOS

Câncer de mama;
Câncer de ovário;
Aconselhamento genético;
BRCA1;
BRCA2.

RESUMO

A síndrome hereditária de câncer de mama e ovário (SHCMO), causada por mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, é responsável por cerca de 4% de todos os casos de câncer de mama. A identificação das famílias com SHCMO e o aconselhamento da paciente sadia portadora de mutação em *BRCA1* ou *BRCA2* são de enorme importância na prevenção de novos casos de câncer de mama e ovário. Neste artigo, utilizando o exemplo de uma família real como modelo de conduta correta e bem-sucedida, fornecemos um guia clínico prático para que o mastologista possa lidar de forma efetiva com a SHCMO. Inicialmente, discutimos de maneira racional a identificação das famílias de alto risco, passamos para a explicação de como solicitar um teste genético de *BRCA1/BRCA2*, como interpretar os resultados laboratoriais e como fazer a testagem das familiares sadias com risco de serem portadoras de mutações e terminamos descrevendo o aconselhamento clínico e genético pós-teste. Finalmente, enfatizamos que há complexidades significativas inerentes ao processo, em especial na avaliação do significado clínico das mutações e no aconselhamento final. Assim, recomendamos que este trabalho seja feito por mastologistas e geneticistas em equipe.

O câncer de mama (CM) é a neoplasia mais comum no sexo feminino, com 180 mil novos casos diagnosticados anualmente nos Estados Unidos. O risco de uma mulher desenvolver câncer de mama até os 80 anos de idade é estimado em 10% a 12%. As causas exatas do CM são desconhecidas. Acredita-se que a vasta maioria dos casos seja devida a mutações genéticas e epigenéticas associadas à estimulação estrogênica do epitélio mamário.

A grande maioria dos tumores de mama é esporádica. Em 25% a 30% dos casos, existe uma agregação familiar inespecífica que pode ser devida a uma predisposição poligênica, a um compartilhamento ambiental ou a ambos. Em apenas 10% dos casos

pode-se formalmente dizer que o CM é hereditário. Destes, 40% (ou aproximadamente 4% do total) têm herança claramente autossômica dominante e estão associados a mutações específicas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. À primeira vista, essa porcentagem de 4% do total pode parecer pouco expressiva, entretanto, se considerarmos a alta frequência do CM na população, veremos que mutações de *BRCA1* ou *BRCA2* podem afetar até 1/300 a 1/500 mulheres, constituindo-se, assim, em uma das doenças mendelianas mais comuns da espécie humana. Além disso, há de se considerar que essas mutações predispoem também ao câncer de ovário (CO), causando, desta forma, a síndrome hereditária de câncer de mama e ovário (SHCMO)^{5,9}.

Este artigo tem por objetivo fornecer um roteiro clínico para que o mastologista possa entender o processo de identificação e aconselhamento da paciente portadora de mutações de *BRCA1* ou *BRCA2*. Não é nossa intenção discutir academicamente aspectos formais de genética médica nem de biologia molecular – já existe literatura abundante sobre tais temas. Pelo contrário, queremos manter este artigo o mais simples possível. Como modelo, utilizaremos o processo de avaliação, teste e aconselhamento de uma família real como modelo de conduta correta e bem-sucedida.

IDENTIFICAÇÃO DO RISCO E CONSULTA INICIAL

Descrição de caso clínico

Uma paciente casada, sadia, com dois filhos, foi encaminhada por um mastologista para aconselhamento genético por causa de história familiar de câncer de mama e de câncer de ovário. O heredograma está na figura 1, na qual a probanda (caso-índice) está indicada com uma seta. Observe que no heredograma as gerações sucessivas estão em algarismos romanos e as diferentes pessoas de cada geração, em algarismos arábicos. Esta é uma convenção internacional que permite a localização de qualquer pessoa no heredograma. Por exemplo, a probanda tem a coordenada IV-1. Uma irmã da probanda (IV-2) foi diagnosticada com câncer de mama aos 32 anos de idade e a outra (IV-3), também diagnosticada com CM aos 28 anos. A mãe de ambas (III-1) desenvolveu CO com 52 anos e dois anos depois foi diagnosticada com CM. Havia mais dois casos de CM de início tardio na família (I-1 e II-2, respectivamente bisavó e tia-avó da probanda) e um outro caso de CO (II-1, tia-avó da probanda).

Nesta família, há abundantes evidências da presença da SHCMO: múltiplos casos de câncer de mama e ovário na família, início precoce do CM em duas irmãs da probanda e presença concomitante de CM e CO na mãe da probanda. Mesmo assim, fizemos a análise da família utilizando o algoritmo *BRCAPRO*, que calcula a probabilidade de uma determinada pessoa ser portadora de uma mutação de *BRCA1* ou *BRCA2*.^{2,3} Para a probanda da família em tela, *BRCAPRO* calculou uma chance de 45,3% de uma mutação em *BRCA1* e 1,7% em *BRCA2*, ou seja, uma probabilidade total de 46,9%. Em geral, o teste molecular é solicitado quando a chance de encontrar uma mutação em um ou outro gene excede 10%.

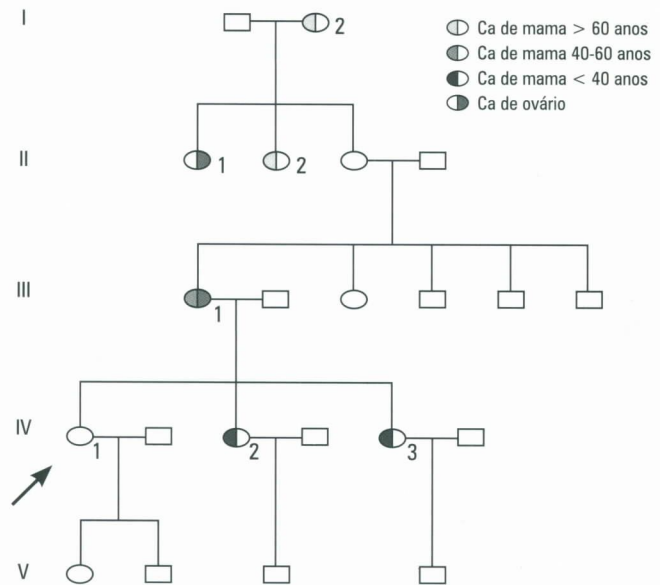


Figura 1. Heredograma da família estudada. As gerações estão numeradas verticalmente em algarismos romanos e as pessoas da mesma geração, horizontalmente com algarismos arábicos. A probanda (caso-índice) está indicada com uma seta.

Recapitulando, os elementos que levantam a suspeita de uma mutação de *BRCA1* ou *BRCA2* em uma família são: existência de CM ou CO de início precoce (< 40 anos), câncer de mama bilateral, múltiplos casos de CM e/ou CO, presença de câncer de mama e de ovário na mesma pessoa, presença de homens com CM e ancestralidade judia Asquenaze (ver a seguir). Vale lembrar que as mutações de *BRCA1* e *BRCA2* podem ser transmitidas tanto por mulheres quanto por homens na família. Assim, um levantamento completo da história familiar dos lados materno e paterno é indispensável.

A interpretação dos resultados de *BRCAPRO* demanda conhecimento de genética e de modelos matemáticos. Uma alternativa mais simples para o mastologista é o uso das tabelas de prevalência calculadas pela empresa Myriad Genetics, com base em estudo de mais de 10 mil mulheres⁴.

COMO SOLICITAR UM TESTE DE *BRCA1/BRCA2*

Qual teste solicitar?

Temos de manter em mente o nosso objetivo clínico principal, que é o de averiguar se existe uma mutação em *BRCA1* ou *BRCA2*, e utilizar esse conhecimento para testar pessoas em risco. Esse processo é dificultado pelo fato de cada família com câncer hereditário de mama e ovário em geral ter a sua própria

mutação privada em *BRCA1* ou *BRCA2*. Consequentemente, em cada família, é necessário pesquisar todo o gene por meio do sequenciamento de DNA à procura de uma mutação.

Há duas estratégias possíveis de testagem. A primeira é pedir de uma só vez o sequenciamento de ambos os genes, enquanto a segunda é fazer os dois genes de forma sequencial, começando com o mais provável. A diferença entre as estratégias é exclusivamente financeira. Como os exames são bastante dispendiosos (em torno de seis mil reais por gene), é economicamente justificável optar pela testagem sequencial, em especial em situações como a da família em pauta, na qual o algoritmo Bayesiano calculou uma probabilidade dezenas de vezes maior de uma mutação de *BRCA1* do que de *BRCA2*. Solicita-se então, de forma inicial, o exame de *BRCA1*. Caso nenhuma mutação seja encontrada, realizar-se, a seguir, o de *BRCA2*.

A quem testar?

O teste genético deve sempre ser realizado em uma pessoa que sabidamente teve CM e/ou CO. Lembremos que a nossa meta inicial é averiguar se existe na família uma mutação em *BRCA1* ou *BRCA2*. Desse modo, precisamos testar uma pessoa em que temos certeza que a mutação, caso exista na família, esteja presente. No caso em questão, optamos por fazer o sequenciamento de *BRCA1* na mãe da probanda (III-1 no heredograma), que tinha história de CM e CO. Foram colhidos 8 mL de sangue em EDTA (dois tubos Vacutainer de tampa roxa); o DNA foi extraído e enviado a um laboratório europeu conveniado.

Aconselhamento pré-teste

Uma etapa fundamental do teste de *BRCA1/BRCA2* é fazer um aconselhamento pré-teste. Neste, as pessoas interessadas são informadas da natureza dos testes genéticos e das várias eventualidades que podem ocorrer durante o seu processo.

Em primeiro lugar, a família tem de entender que, se o sequenciamento de *BRCA1* e *BRCA2* não mostrar nenhuma mutação, isso não significa que esta não exista. Tal eventualidade pode ocorrer por três razões principais:

1. a mutação pode estar presente, mas não ser detectada. Como a SHCMO é uma doença autossômica dominante, as mutações estarão sempre em estado heterozigoto, isto é, coexistindo com outra cópia normal do gene. Embora raro, pode acontecer de, por motivos técnicos, uma mutação passar despercebida;

2. o sequenciamento, embora dito “completo”, não é realmente feito em todo o gene, mas apenas em sua porção codificadora. Lembramos aqui que os genes humanos não são codificadores em toda a sua extensão: a mensagem é interrompida por longas porções chamadas de íntrons, que não trazem nenhuma informação genética. Como em geral o conjunto dos íntrons é muito maior que a região codificadora (os éxons), seria muito dispendioso e trabalhoso sequenciar tudo. Por exemplo, o gene *BRCA1* tem um total de 80 mil bases de comprimento, mas a região codificadora (composta por 22 éxons) tem apenas 5.500 bases. Assim, são apenas sequenciados os éxons e as fronteiras íntron-éxon. Entretanto, teoricamente, mutações no interior dos íntrons podem alterar o processo de edição do RNA mensageiro e levar ao mau funcionamento do gene;

3. em alguns casos, as mutações responsáveis pela doença são grandes deleções ou duplicações de éxons dos genes *BRCA1* ou *BRCA2*. Essas mutações não são detectáveis pelo sequenciamento, mas apenas por testes especiais de *Southern blot* ou *microarrays*. Estima-se que isso ocorra em 12% das famílias. Assim, os teste de detecção de deleções e duplicações devem ser solicitados sempre que mutações não forem observadas em *BRCA1* ou *BRCA2*.

Um segundo fato que a família precisa entender é que mesmo que uma mutação seja descoberta, podemos ficar na dúvida se ela é realmente a causa do câncer de mama. Esse ponto será discutido com maior detalhe a seguir, quando comentarmos a avaliação dos resultados.

Por fim, a família tem de estar psicologicamente preparada para lidar com a descoberta de uma mutação causando uma doença grave. O impacto dessa descoberta, que traz consigo sentimentos de culpa, inadequação e estigmatização, não deve ser minimizado.

É recomendável, para proteção da equipe clínica, que a pessoa a ser testada e os familiares presentes assinem um termo de consentimento informado para a realização dos testes de *BRCA1* e *BRCA2*.⁷

Qual teste não solicitar?

Como explicamos anteriormente, em geral, cada família com câncer hereditário de mama tem a sua própria mutação privada de *BRCA1*. Há, entretanto, exceções a tal regra, pois algumas populações apresentam mutações “fundadoras”. Entre os judeus Asquenazes, ou seja, os judeus originários da Europa Central e Oriental, há três mutações associadas ao câncer de mama que são bastante comuns: a mutação *BRCA1* 185delAG (vista em aproximadamente 1%

das pessoas), a mutação *BRCA1* 5382insC (observada em 0,15% delas) e a mutação *BRCA2* 6174delT (encontrada em 1,5% dos indivíduos). Em conjunto, então, as três mutações são percebidas em 2,65% das mulheres judias Asquenazes. Isso apresenta duas consequências importantes para os testes genéticos. Nas famílias judias com uma história sugestiva de SCHMO, tais mutações devem ser testadas inicialmente, em vez de fazer o seqüenciamento de DNA, muito mais dispendioso e lento. Em algumas comunidades Asquenazes, tem sido mesmo proposta a triagem de todas as mulheres para essas mutações.

Por outro lado, alguns laboratórios no Brasil têm oferecido testes das mutações *BRCA1* 185delAG, *BRCA1* 5382insC e *BRCA2* 6174delT mesmo para mulheres que não são judias. Alguns desses laboratórios omitem em seu *marketing* o fato essencial de que essas mutações são específicas de judeus Asquenazes. Tais práticas são enganosas e pouco éticas, prejudiciais às pacientes e devem ser repudiadas pela comunidade de mastologistas.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O resultado do seqüenciamento de *BRCA1* na mãe da probanda mostrou uma mutação C→A no terceiro nucleotídeo do íntron 23 do gene *BRCA1* (IVS23+3A>C), como mostrado na figura 2. A primeira pergunta que precisamos fazer é: esta mutação é responsável pelo câncer de mama nesta família?



Figura 2. Estrutura do gene *BRCA1* com seus múltiplos éxons. O local da mutação na família estudada está indicado com uma seta. Deve ser mencionado que, embora o *BRCA1* tenha 22 éxons, eles são numerados de 2 a 24, pulando o 4. Assim, mesmo havendo apenas 22 éxons, há 1 íntron 23.

Devemos lembrar aqui que variações inocentes nas seqüências dos genes – os chamados polimorfismos – são freqüentemente encontradas no processo de seqüenciamento dos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Mas como distinguir uma mutação patogênica de um polimorfismo ocasional? Há várias maneiras de se fazer isso. De início, pode ser consultado um banco de dados de mutações de *BRCA1*

e *BRCA2* para verificar se uma determinada mutação já é conhecidamente associada com o câncer de mama. O mais completo destes bancos é o Breast Cancer Information Core (BIC), que pode ser acessado no endereço eletrônico <http://research.nhgri.nih.gov/bic/>

O BIC lista 1.538 mutações em *BRCA1* e 1.887 em *BRCA2*. Se a mutação não estiver listada no BIC, então é necessário fazer uma avaliação criteriosa de seu potencial patogênico. Mutações de mudança de janela de leitura (*frameshift*) e de interrupção de síntese (*nonsense*) são quase sempre altamente patogênicas. Já as mutações do tipo de troca de aminoácido (*missense*) têm grande chance de ser polimorfismos. Em torno de 30% das mutações identificadas em *BRCA1* ou *BRCA2* incluem-se nesta última categoria. Em nosso caso específico, a mutação IVS23+3A>C não estava listada no BIC (embora as mutações IVS23+1G>A, IVS23+2T>G estivessem). Entretanto, pelo que sabemos da biologia molecular da expressão gênica de *BRCA1*, a mutação IVS23+3A>C é provavelmente patogênica porque deve interferir com o processo de edição do RNA mensageiro.

SEGUNDA ETAPA DOS TESTES DE *BRCA1/BRCA2* – INDIVÍDUOS DE ALTO RISCO

Após concluirmos que estamos lidando com uma mutação patogênica, esse fato é informado à família. Sabendo da natureza exata da mutação, é relativamente fácil montar um teste genético específico para ela. No caso em pauta, desenvolvemos um teste utilizando a técnica de amplificação alelo-específica (tecnicamente chamada de *amplification refractory mutation system* – ARMS). Na figura 3, mostramos os resultados que demonstram que tanto a probanda quanto suas duas irmãs, já afetadas pelo CM, eram portadoras da mutação IVS23+3A>C.

Temos agora de interpretar a informação de que a nossa probanda é portadora da mutação em termos clínicos. Em outras palavras, qual o risco de ela desenvolver um câncer de mama ou de ovário? Esse risco é chamado de “penetrância”. Uma metanálise de 22 estudos¹ calculou que a penetrância média até os 70 anos de idade para uma paciente com mutação de *BRCA1* é de 65% para CM e de 39% para CO, enquanto os riscos correspondentes para *BRCA2* são de 45% e 11%.

A penetrância variará com a natureza da mutação. Por exemplo, a mutação *BRCA1* 185delAG, típica de judeus Asquenazes, tem uma penetrância de

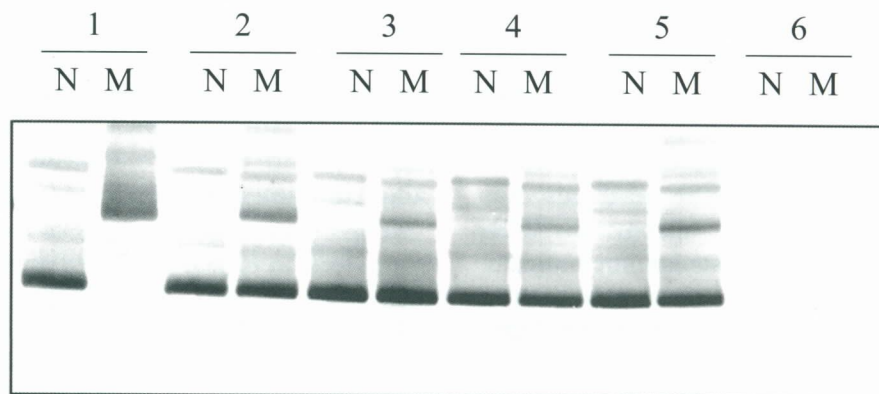


Figura 3. Teste de ARMS desenvolvido especificamente para identificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR) da mutação IVS23+3A>C observada na família estudada. Para cada pessoa, são feitas duas amplificações por PCR, sendo uma com iniciadores que permitem a amplificação do alelo normal (N) e outra com iniciadores que permitem a amplificação do alelo mutante (M). Os produtos da PCR foram separados em um gel de poliacrilamida e corados com sais de prata. As pessoas analisadas foram: 1) Controle normal; 2) Mãe da probanda (III-1 no heredograma) – controle positivo; 3) Probanda (IV-1); 4) Irmã da probanda (IV-2); 5) Irmã da probanda (IV-3); 6) Branco da PCR.

apenas 56% para câncer de mama. Além disso, há um importante fator pessoal, pois o risco do desenvolvimento do câncer de mama ou de ovário é variável mesmo em famílias do mesmo grupo étnico com a mesma mutação.

Na falta de dados de literatura sobre uma mutação específica, podemos tentar estimar a penetrância utilizando os próprios dados da família. No caso em pauta, o fato de a mãe da probanda ter desenvolvido câncer de mama e de ovário e de suas irmãs terem desenvolvido câncer de mama tão cedo sugere que estamos lidando com uma mutação de alta penetrância.

A filha da probanda e os filhos dela e de suas irmãs (figura 1) terão de ser testados no futuro. De maneira geral, recomenda-se esperar até que eles estejam adultos e possam dar seu próprio consentimento informado para o teste. Convém destacar que tanto *BRCA1* como *BRCA2* parecem predispor a tumores de próstata em homens. Além disso, há evidências de que mutações em *BRCA1* possam também ser um fator de risco para tumores colorretais. Mutações de *BRCA2* também têm sido definitivamente associadas com câncer de mama em homens.

ACONSELHAMENTO PÓS-TESTE

A discussão da conduta médica perante uma paciente sadia portadora de uma mutação em *BRCA1* ou *BRCA2* extrapola os objetivos dessa revisão.

Basta dizer que há opções de quimioprevenção e de prevenção cirúrgica. A quimioprevenção do CM é possível com o tamoxifeno, enquanto a pílula anticoncepcional reduz de forma significativa o risco de CO, além de contribuir também na prevenção do CM. Cirurgicamente, as opções são a mastectomia e/ou a ooforectomia preventiva. Ambas afetam a integridade física e psicológica da paciente. A ooforectomia preventiva deve ser feita após a paciente ter terminado seu período reprodutivo. Já a mastectomia preventiva tem-se tornado mais aceitável com as novas técnicas de ressecção subcutânea e os avanços com as próteses mamárias.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na figura 4, apresentamos o fluxograma das etapas envolvidas no processo de identificação e aconselhamento de portadoras de mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Os procedimentos são diretos e racionais. Entretanto, há também significativas complexidades, em especial na avaliação do significado clínico das mutações e do aconselhamento pós-teste. Assim, a nossa recomendação é que, em circunstâncias ideais, esse trabalho seja realizado por mastologistas e geneticistas em equipe. Desta maneira, as pacientes e as suas famílias poderão obter benefício máximo desses novos e importantes avanços em oncogenética.

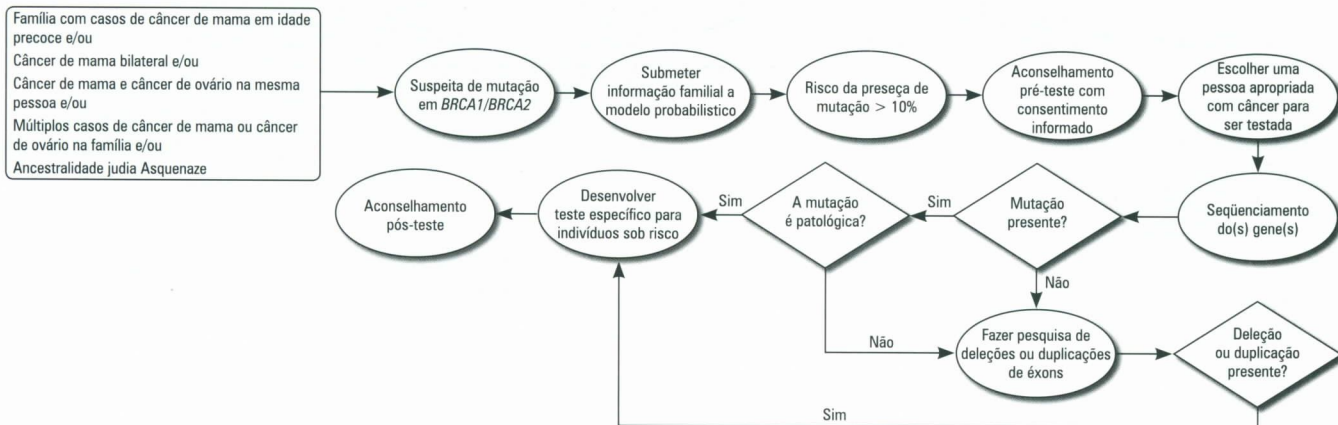


Figura 4. Fluxograma do processo de identificação e aconselhamento de portadoras de mutações dos genes *BRCA1* e *BRCA2*.

KEY WORDS

Breast cancer;
Ovarian cancer;
Genetic counseling;
BRCA1;
BRCA2.

ABSTRACT

CLINICAL GUIDE FOR THE IDENTIFICATION AND COUNSELING OF CARRIERS OF MUTATIONS IN THE *BRCA1* AND *BRCA2* GENES

The syndrome of hereditary breast and ovarian cancer (SHBOC), caused by mutations in the genes *BRCA1* e *BRCA2*, is responsible for approximately 4% of all cases of breast cancer. The ascertainment of families with SHBOC and counseling of the healthy carrier of a mutation in *BRCA1* or *BRCA2* have great importance in the prevention of new cases of breast and ovarian cancer. In this article, using a real case as an example of proper and efficient management, we provide a practical clinical guide for use by the breast specialist in dealing with the SHBOC. We first discuss the identification of high risk families, then we explain how to ask for a genetic test of *BRCA1/BRCA2*, how to interpret the laboratory results and how to do further testing in healthy family members at risk of carrying mutations and we move on to describe the process clinical and genetic post-test counseling. Finally, we emphasize that there are significant complexities inherent in the testing process, especially in the evaluation of the clinical meaning of mutations and in the final counseling of patients. Thus, we recommend that this evaluation be done by breast specialists and geneticists as a team.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTONIOU A, PHAROAH PD, NAROD S et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with *BRCA1* or *BRCA2* mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 1117-30.
- BERRY DA, IVERSEN ES Jr, GUDBJARTSSON DF et al. BRCAPRO validation, sensitivity of genetic testing of *BRCA1/BRCA2*, and prevalence of other breast cancer susceptibility genes. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2701-12.
- DOMCHEK SM, EISEN A, CALZONE K, STOPFER J, BLACKWOOD A, WEBER BL. Application of breast cancer risk prediction models in clinical practice. *J Clin Oncol* 2003; 21: 593-601.
- FRANK TS, MANLEY SA, OLOPADE OI et al. Sequence analysis of *BRCA1* and *BRCA2*: correlation of mutations with family history and ovarian cancer risk. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2417-25.
- LUX MP, FASCHING PA, BECKMANN MW. Hereditary breast and ovarian cancer: review and future perspectives. *J Mol Med* 2006; 84: 16-28.
- PALMA M, RISTORI E, RICEVUTO E, GIANNINI G, GULINO A. *BRCA1* and *BRCA2*: the genetic testing and the current management options for mutation carriers. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006; 57: 1-23.
- RIMER BK, SUGARMAN J, WINER E, BLUMAN LG, LERMAN C. Informed consent for *BRCA1* and *BRCA2* testing. *Breast Dis* 1998; 10: 99-114.
- U.S. PREVENTIVE SERVICES TASK FORCE. Genetic risk assessment and BRCA mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility: recommendation statement. *Ann Intern Med* 2005; 143: 355-61.
- WOOSTER R, WEBER BL. Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 2339-47.

Endereço para correspondência

Sérgio D. J. Pena
GENE – Núcleo de Genética Médica
Av. Afonso Pena, 3.111/9
30130-909 – Belo Horizonte/MG
E-mail: spena@gene.com.br