

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA NO CANCRO

Cancro da Mama Hereditário

Victor Ciorici

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA NO CANCRO

Cancro da Mama Hereditário

VICTOR CIORICI

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientadora: Doutora Ana Rita Estrela Rodrigues Conde Silva Melo,
Professora Auxiliar da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa**

2019

Resumo

O cancro é uma das principais causas de mortalidade no mundo. É a segunda doença que mais mortes causa globalmente, sendo responsável por 9.6 milhões de óbitos em 2018. Mundialmente 1 em cada 6 mortes são devidas ao cancro. É produto de um processo complexo envolvendo a interação de fatores endógenos, assim como de fatores exógenos. O aparecimento e a formação do cancro (oncogénese) são processos que possuem uma base genética, resultante da acumulação de mutações que causam uma desregulação nos processos de diferenciação, proliferação e morte celular. Em todos os tipos de cancro, existe uma proliferação anormal de células disfuncionais (material genético danificado) que inicialmente vai dar origem à formação do tumor (iniciação). Estas células imortalizadas que ultrapassaram os mecanismos de morte celular, continuam a proliferar de uma maneira não controlada (progressão), até que passam a invadir outros tecidos, sendo característico nos últimos estadios da doença. Quando o cancro possui transmissibilidade vertical (hereditário), significa que a mutação inicial que o originou situa-se numa das células da linha germinativa estando, portanto, presente em todas as células do corpo. Na maioria dos cancros, no entanto, a mutação é esporádica pois ocorre numa célula somática, que posteriormente irá dividir-se e evoluir para o cancro.

Apesar de os indivíduos que possuem um cancro hereditário representarem apenas 5% da população oncológica, a identificação da base genética subjacente à doença tem uma grande importância clínica, assim como na compreensão dos cancros numa perspetiva mais geral. Nesta monografia, vai ser abordado o cancro da mama hereditário e vão ser debatidas questões como a carcinogénese, origem genética e principais genes intervenientes. Os painéis genéticos e a sua importância na atualidade também são um tema muito relevante já que grandes avanços foram feitos na área da sequenciação. Além disso serão referenciadas medidas de rastreio de acordo com guidelines que melhor se adequam para cada mutação, pois a deteção precoce oferece sempre um melhor prognóstico. Tudo isto em prol da diminuição da mortalidade e da melhoria da qualidade de vida da população em risco.

Palavras-chave: Cancro da Mama Hereditário; Mutações; Sequenciação; Painéis Genéticos; Suscetibilidade Genética.

Abstract

Cancer death is one of the major causes of mortality worldwide. It's the second leading cause of death globally and is responsible for an estimated 9.6 million deaths in 2018. Globally, about 1 in 6 deaths is due to cancer. It's the product of a process involving complex interactions between environmental and endogenous factors. The development of cancer (oncogenesis) is a genetic disease that results from the accumulation of mutations which cause deregulation in cellular differentiation, proliferation, and/or survival. In all cancers, an abnormal and ongoing division of damaged/dysfunctional cells initially leads to the formation of a tumor (initiation), where the immortalized cells that have avoided cell death continue to proliferate in an unregulated manner (progression) and then ultimately invade other tissues at later stages in the disease (metastasis). When cancer occurs as part of a hereditary cancer syndrome, the initial cancer-causing mutation is inherited through the germline and is therefore already present in every cell of the body. Most cancers, however, are sporadic because the mutations occur in a single somatic cell, which then divides and proceeds to develop into cancer.

Although individuals with a hereditary cancer syndrome account for less than 5% of all patients with cancer, identification of a genetic basis for their disease has great importance both for clinical management of these families and for understanding cancer in general.

In this paper, the hereditary breast cancer will be addressed and topics such as carcinogenesis, genetic origin and key intervening genes will be discussed. The genetic panels and their importance nowadays are also a very relevant topic as great advances have been made in the sequencing technology. It will be described screening measures according to international guidelines that best suit for each mutation, as early detection always offers a better prognosis. All this for the sake of lower mortality rates and the quality of life improvement for the population at risk.

Keywords: Hereditary Breast Cancer; Mutations; Sequencing; Gene Panels; Genetic Susceptibility.

Dedicatória/Agradecimentos

Primeiramente queria iniciar a minha dedicatória à pessoa que mais dedicou a vida dela para os filhos: a minha mãe. Mãe és uma pessoa extraordinária, aliás uma super-mãe, pois sempre foste a única a apoiar-me e a ver me crescer ao longo destes anos todos. Fizeste de pai e de mãe e sei muito bem o esforço que tiveste e aquilo que lutaste para chegarmos onde estamos hoje. És a pessoa a que mais devo agradecer por estar onde estou hoje. Espero um dia ser um farmacêutico tão bom como tu o és.

Um grande, mas grande obrigado à minha orientadora e querida professora Ana Rita Conde por ter sempre uma simpatia e uma disponibilidade incomparável. Foi minha professora desde o primeiro ano, e tenho agora o prazer de o seja nesta minha última etapa. És daquelas docentes que ficarão sempre na nossa memória e no nosso coração.

Obrigado à minha família que apesar de longe está sempre perto no nosso coração, sempre com o seu apoio incondicional. À minha maninha pequenota que apesar de me moer o juízo às vezes, é um doce de pessoa... impossível de resistir aquelas bochechas.

Ao longo dos anos descobri que a palavra família é muito mais abrangente do que aquilo que pensamos. Esta palavra não define pessoas que partilham o mesmo laço de sangue, mas sim as pessoas que partilham o amor, a felicidade e todos os bons e maus momentos entre elas. A essas pessoas que fazem parte da minha vida, à minha numerosa família, obrigado.

Aos meus amigos, aqueles que ficam para a vida, um grande obrigado também por tornarem a minha vida muito melhor e por tornarem a faculdade mais suportável, até mesmo naqueles tempos mais difíceis. Sem dúvida são um dos pilares da minha vida. Tenho muito orgulho em vocês.

Aos meus professores também quero deixar um grande obrigado por me guiarem e por me darem forças para seguir o caminho que achei ser o mais certo. Foram eles de certo modo a chave e sempre o serão para o nosso sucesso e o nosso futuro. Uma profissão que deveras tenho muito respeito. Obrigado a todos vós. O tempo passa, mas a vossa marca fica sempre.

Por fim, mas não menos importante, a minha namorada. Obrigado, obrigado, obrigado!! Obrigado por estares sempre ao meu lado, pelo teu apoio, pelo teu amor, pela tua dedicação. És a minha vida e o meu cantinho de felicidade e paz nesta vida conturbada.

Finalizo deste modo a apresentação dos pilares que sustentam a minha vida, a minha felicidade e que me guiam por este mundo fora. Obrigado a todos.

Índice

| | |
|--|----|
| Resumo | 3 |
| Abstract | 4 |
| Dedicatória/Agradecimentos | 5 |
| Símbolos e Abreviaturas | 9 |
| Terminologia | 10 |
| 1. Introdução | 12 |
| 1.1. Suscetibilidade genética hereditária | 14 |
| 1.2. Regulação exercida pelo ciclo celular nas células normais vs células mutadas..... | 14 |
| 2. Objetivos | 16 |
| 3. Materiais e Métodos | 17 |
| 4. Resultados e Discussão | 17 |
| 4.1. Cancro da Mama | 17 |
| 4.1.1. Genes responsáveis pelo cancro da mama e a sua penetrância relativa..... | 19 |
| 5. Diagnóstico (Testes Genéticos) | 21 |
| 5.1. Painéis Genéticos:..... | 22 |
| 5.1.1. Resultados dos painéis genéticos... como interpretar ?..... | 22 |
| 5.1.2. Métodos de Sequenciação: | 23 |
| 5.1.3. Quais os genes que devem constar num painel genético? | 24 |
| 6. Rastreio | 25 |
| 6.1. Medidas de gestão do risco para mulheres suscetíveis ao cancro da mama..... | 25 |
| 6.1.1. Alterações do estilo de vida: | 27 |
| 7. Terapêutica | 27 |
| 7.1. Cirurgia de remoção mamária: | 27 |
| 7.2. Ooforectomia:..... | 27 |
| 7.3. Tamoxifeno, inibidores da aromatase e outras terapêuticas hormonais: | 27 |
| 7.4. Uso de agentes de Quimioterapia: | 29 |
| 7.4.1. Taxanos:..... | 29 |
| 7.4.2. Compostos de Platina: | 29 |
| 7.5. Inibidores da PARP para o tratamento do cancro da mama metastático:..... | 30 |
| 7.6. Participação em ensaios clínicos: | 31 |
| 8. Conclusão e Considerações Futuras | 31 |
| 9. Bibliografia: | 32 |

Índice de Figuras

| | |
|---|-----------|
| Figura 1 – Incidência e Mortalidade dos cancros mais comuns a nível mundial para ambos os sexos e em todas as idades no ano de 2018..... | 12 |
| Figura 2 – Incidência e Mortalidade dos cancros mais comuns em Portugal para ambos os sexos e em todas as idades no ano de 2018..... | 13 |
| Figura 3 – Incidência e Mortalidade dos cancros mais comuns em Portugal para as <u>mulheres</u> , em todas as idades no ano de 2018..... | 13 |
| Figura 4 – Representação esquemática do ciclo de replicação celular em todas as suas fases e com os respetivos pontos de controlo (<i>checkpoints</i>)..... | 15 |
| Figura 5 – Mecanismo de indução da divisão celular pelo recetor HER-2..... | 18 |
| Figura 6 – Proporção de mutações genéticas detetadas nos genes BRCA1, BRCA2 e outros 13 genes que pertencem ao painel genético do cancro da mama..... | 24 |
| Figura 7 – Prevalência das variantes de significância desconhecida (VUS) identificadas em 15 genes do painel genético em estudo..... | 24 |
| Figura 8 – Protocolo para gestão do risco em doentes com elevada predisposição para HBOC..... | 26 |
| Figura 9 – Modelo representativo das vias autócrinas e parácrinas da aromatase e da COX no cancro da mama hormono-dependente (RE+)..... | 28 |
| Figura 10 – Modelo representativo do papel da PARP na reparação do DNA e do mecanismo de ação dos iPARP – “Letalidade sintética” das células com mutação nos genes BRCA..... | 30 |

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Subdivisão dos vários tipos de cancro de acordo com as suas características bioquímicas.....**17**

Tabela 2 – Critérios da NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) para a avaliação de risco de HBOC.....**21**

Símbolos e Abreviaturas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

GWAS - genome wide association studies

SNP's – Single nucleotide polymorphisms

HBOC – Hereditary Breast and Ovarian Cancers

MSRE – Modulador Seletivo dos Recetores de Estrogénio

RE – Recetores de Estrogénio

CYP450 – Citocromo P450

PARP – Poli-(ADP-ribose) polimerase

iPARP – Inibidores da Poli-(ADP-ribose) polimerase

pCR – Pathological Complete Response

NCCN - National Comprehensive Cancer Network

SNG – Sequenciação de Nova Geração

VUS – Variantes de significância desconhecida (*Variants of Unknown Significance*)

THS – Terapêutica Hormonal de Substituição

HER-2 - Recetor do tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano

Terminologia

Ácido desoxirribonucleico (ADN) – Molécula constituída por cadeias antiparalelas de nucleótidos, sendo o principal transportador da informação genética.

Alelos – São formas alternativas de um gene ou uma sequência de DNA, normalmente gerados por mutações, num determinado locus.

Bioinformática – Consiste no uso de computadores e de programas informáticos para adquirir, guardar, analisar, processar e visualizar informação da genómica.

Farmacogenética – Ramo da genética dedicada à identificação de proteínas variantes subjacentes a uma alteração da resposta farmacológica a determinados fármacos.

Farmacogenómica – Ramo da genética que analisa os genes e as proteínas pra identificar alvos para a terapêutica farmacológica.

Gene – Unidade fundamental da hereditariedade e unidade básica estrutural e funcional da genética. É uma porção do DNA que codifica uma determinada proteína.

Genes Supressores de Tumores – Genes que codificam proteínas que suprimem a divisão celular.

Genome-wide Association Studies (GWAS) – Análise das variações genéticas no genoma inteiro, procurando por associações entre variações em sequências do ADN e regiões que codificam para determinado fenótipo.

Locus – Posição que um gene ocupa num determinado cromossoma.

Loss of Heterozigoty (LOH) – Perda de função de um alelo num gene, onde o outro já estava inativado devido a uma mutação.

Mosaico – Indivíduo ou tecido com pelo menos duas linhas de células diferindo no genótipo ou no cariótipo, derivado do mesmo zigoto.

Oncogenes – Genes que induzem ou mantêm uma proliferação celular descontrolada, derivados de uma mutação dos proto-oncogenes. Mutações, amplificações ou sobre expressões do gene nas células somáticas podem levar a uma transformação neoplásica das mesmas.

Oncogénese – Conjunto de alterações genéticas ou cromossómicas que induzem o posterior desenvolvimento de cancro.

Penetrância – Probabilidade de aparecimento de uma doença quando o genótipo para essa doença está presente. Muitas vezes associado à transmissão de genes defeituosos que induzem patologia num determinado seio familiar.

Proto-oncogenes – Genes que induzem e mantêm a replicação celular normal. Quando mutados dão origem a oncogenes, diretamente relacionados com a oncogénese.

Quimioterapia Adjuvante – Administração de agentes de quimioterapia antes de um procedimento principal. O seu objetivo é diminuir o tamanho ou a extensão do cancro de modo a que facilite o seu tratamento/intervenção pelo procedimento que se segue.

Rastreio Genético – Testes genéticos realizados a uma população alvo para identificar indivíduos que estejam sob risco de desenvolver ou transmitir uma determinada patologia.

Sequenciação do ADN – Conjunto de técnicas aplicadas para a determinação das sequências de nucleótidos de uma molécula de ADN.

Single Nucleotide Polymorphism (SNP) – Diferenças de um nucleótido entre indivíduos de uma mesma população ou espécie.

Terapêutica Hormonal de Substituição – Terapêutica que visa a administração de hormonas de modo a minimizar ou prevenir as alterações decorrentes da menopausa ou pós-menopausa.

Valor Terapêutico Acrescido – Medicamento com maior eficácia e segurança relativamente a um comparador, que deve ser a melhor alternativa terapêutica existente.

1. Introdução

O cancro é uma das principais causas de mortalidade no mundo. É a segunda doença que mais mortes causa globalmente, sendo responsável por 9.6 milhões de óbitos em 2018. Mundialmente 1 em cada 6 mortes são devidas ao cancro (1). Não é ao acaso que o cancro já é considerado a doença do século XXI. Muitos dos esforços de hoje em dia são focados nesta área pelo impacto que causa a nível social, mas também a nível pessoal. Pelos anos que se seguirão adiante será uma das áreas de maior importância daí ser necessário muito esforço na investigação de novas alternativas para tratar ou melhorar a qualidade de vida da população oncológica. É uma realidade que, infelizmente, não é alheia a ninguém. Os tipos de cancros mais comuns a nível mundial são:

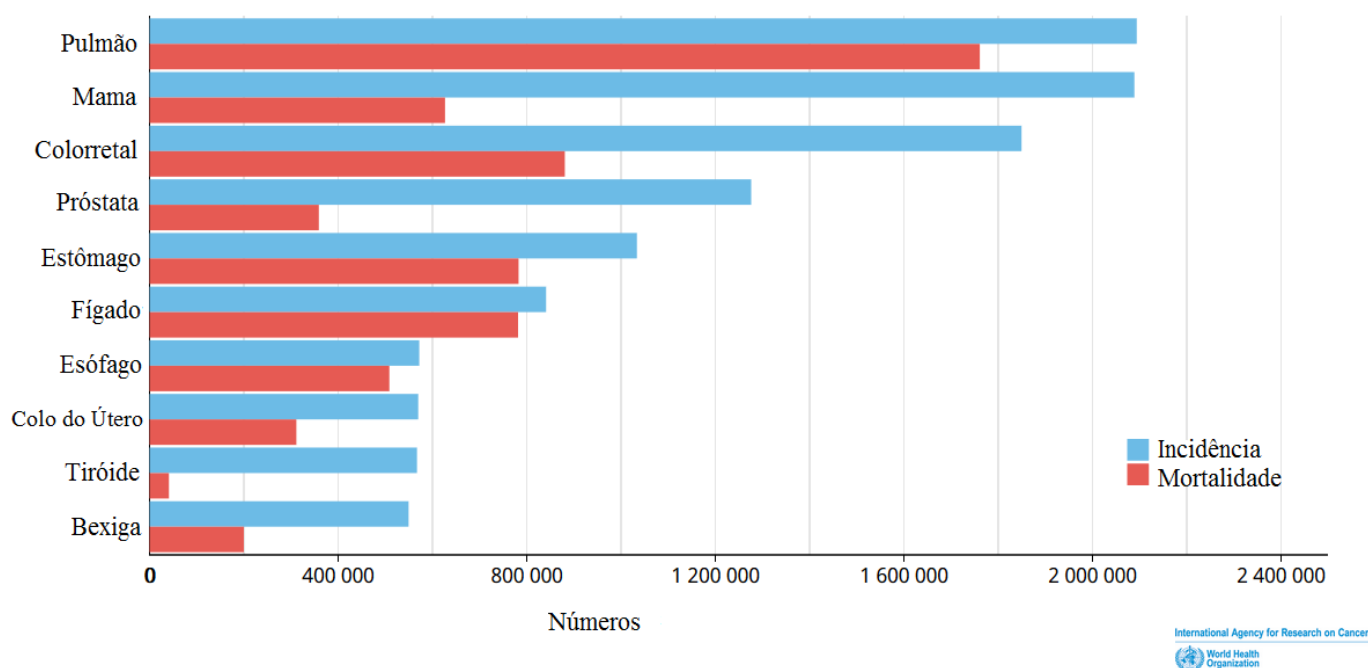


Figura 1 – Incidência e Mortalidade dos cancros mais comuns a nível mundial para ambos os sexos e em todas as idades no ano de 2018. Adaptado de Global Cancer Observatory (2).

De acordo com a Figura 1 o cancro do pulmão é o cancro mais incidente a nível mundial (2.093.876 novos casos), seguido do cancro da mama com valores muito próximos (2.088.849 novos casos). Verifica-se que o cancro da mama ocupa uma posição muito significativa sendo 2º cancro mais incidente e o 5º cancro com maior taxa de mortalidade.

Ao observarmos a Figura 2 podemos ter uma perspetiva de como estão as coisas em Portugal: de um ponto de vista geral da população, o cancro da mama mantém-se como o 2º mais incidente e como o 4º cancro com maior taxa de mortalidade.

Mas se restringirmos os dados apenas à população feminina, segundo a Figura 3, verifica-se que o cancro da mama é o que possui maior incidência (6,974 novos casos) e a 2º maior taxa de mortalidade (1.748), ligeiramente ultrapassada pela taxa de mortalidade do cancro colorretal (1.764) (2). É um problema de saúde que afeta muitas mulheres em Portugal e para o qual se deve dedicar toda a atenção e apostar em campanhas de consciencialização para o autoexame da mama e medidas de rastreio.

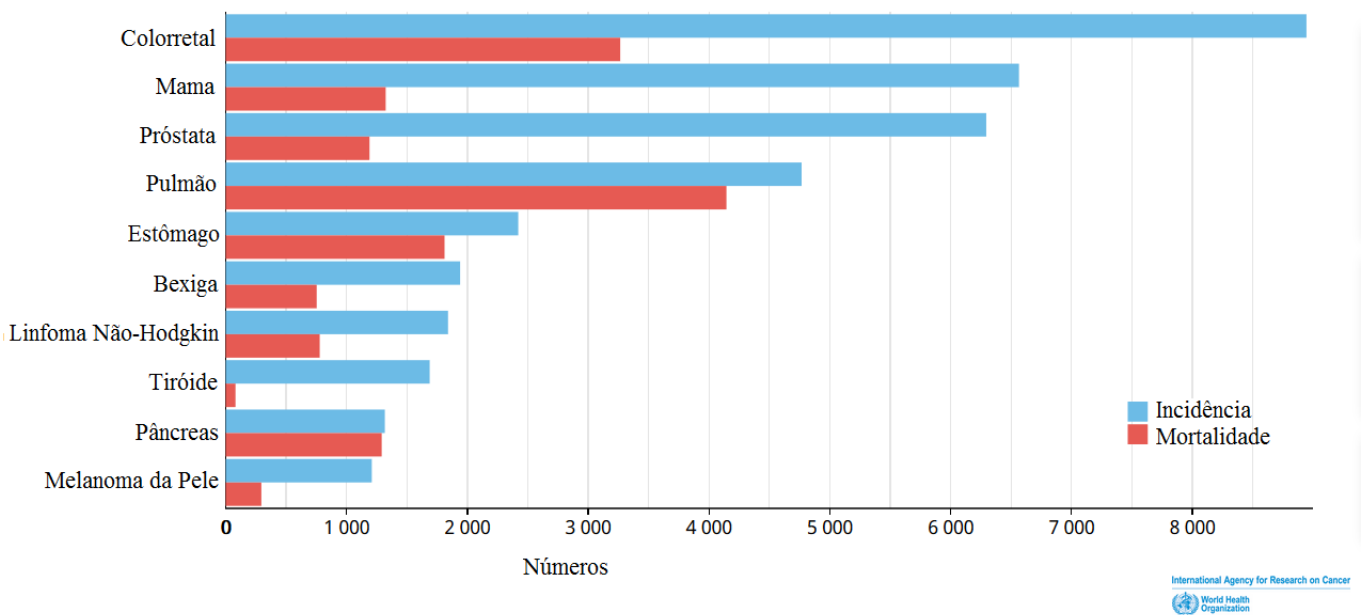


Figura 2 - Incidência e Mortalidade dos câncros mais comuns em Portugal para ambos os sexos e em todas as idades no ano de 2018. Adaptado de Global Cancer Observatory (2).

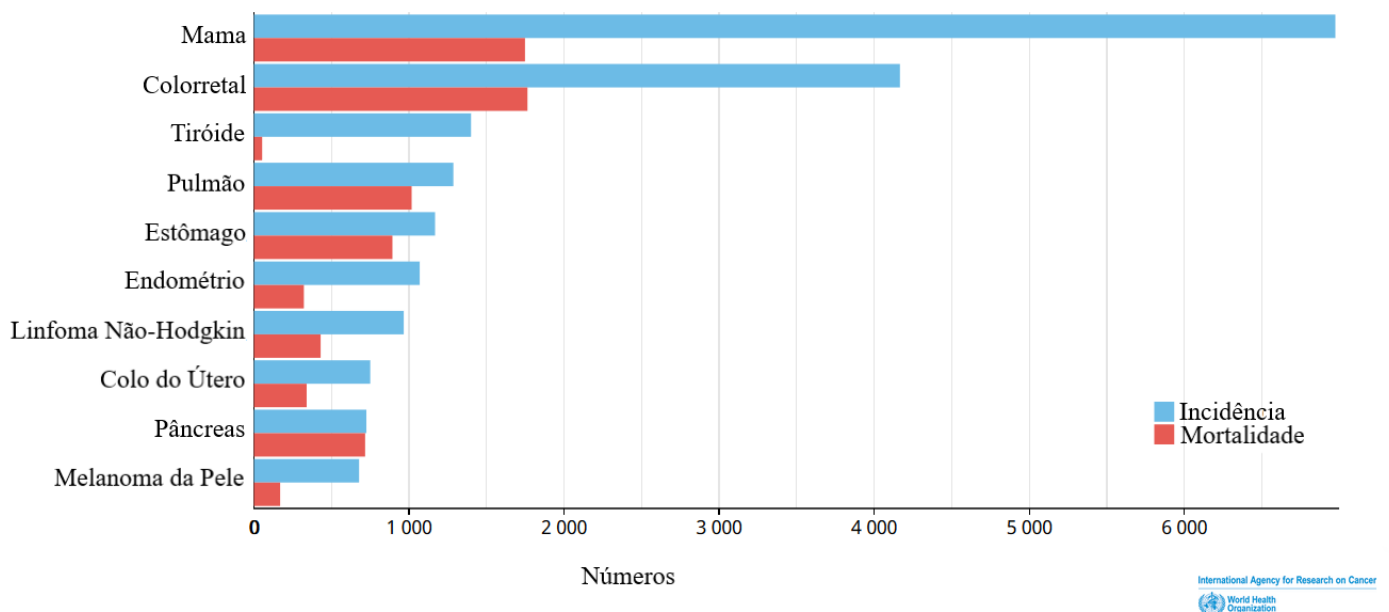


Figura 3 - Incidência e Mortalidade dos câncros mais comuns em Portugal para as mulheres, em todas as idades no ano de 2018. Adaptado de Global Cancer Observatory (2).

O cancro é uma doença genética multifatorial causada não só por fatores endógenos, mas também por fatores exógenos. O aparecimento e a formação do cancro (oncogénese) são processos que possuem uma base genética, resultante da acumulação de mutações que causam uma desregulação nos processos de diferenciação, proliferação e morte celular (3). Em todos os tipos de cancro, existe uma proliferação anormal de células disfuncionais (material genético danificado) que inicialmente vai dar origem à formação do tumor (**iniciação**). Estas células imortalizadas que ultrapassaram os mecanismos de morte celular, continuam a proliferar de uma maneira não controlada (**progressão**), até que passam a invadir outros tecidos

(**metastização**), sendo característico nos últimos estadios da doença (4). Inicialmente quando as células dividem-se rapidamente formam um tumor benigno, já que este é localizado e pode ser removido com cirurgia de rotina. Se as células tumorais crescerem continuamente, eventualmente adquirem a capacidade de se desprenderem do tumor primário, invadindo a circulação periférica. Passam então a invadir outros tecidos, sendo este tipo de tumor, já considerado um tumor maligno (5). Quando o cancro possui transmissibilidade vertical (hereditário), significa que a mutação inicial que o originou situa-se numa das células da linha germinativa estando, portanto, presente em todas as células do corpo. Na maioria dos cancros, no entanto, a mutação é esporádica pois ocorre numa célula somática, que posteriormente irá dividir-se e evoluir para o cancro (6). Existem estímulos ambientais e endógenos que levam a diferentes mecanismos associados à carcinogénese: quanto aos estímulos ambientais, estão incluídos a exposição a diferentes tipos de agentes provenientes de alimentos, radiação natural e artificial, agentes químicos e vírus. Por outro lado, os fatores endógenos podem estar associados à falha no mecanismo de reparação do ADN, ativação de oncogenes (mutação com ganho de função), inativação de um proto-oncogene (mutação com perda de função), translocação cromossómica que causa uma redução da expressão de certos genes ou formação de genes quiméricos que codificam proteínas com diferentes propriedades funcionais (6).

1.1. Suscetibilidade genética hereditária

Porque é que em determinadas famílias a incidência de cancro é maior do que noutras? Quanto falamos em suscetibilidade genética, antevê-se a presença de um fator que pode ser ou não transmitido aos restantes membros da mesma família (transmissão vertical), que está diretamente relacionado com um maior risco de desenvolver determinado tipo de cancros. Uma pequena porção das famílias carrega um alelo mutante de um gene responsável pela predisposição ao cancro, estando esta alteração presente nas células germinativas, que ao se desenvolverem, vão estar presentes em todas as células somáticas do ser humano.

Os genes possuem ligeiras variações que contribuem para as diferenças entre os seres humanos, sendo que genes com essas diferenças são chamados de alelos. Nestes alelos, heterozigóticos (2 variações do mesmo gene), existe a presença do alelo mutado e de um alelo normal. Quando ocorre uma mutação no alelo normal, o alelo mutado passa a ser expresso, sendo este o passo crucial para a transformação da célula cancerosa. Esta mutação é denominada de *Loss of Heterozygosity* (LOH). Na LOH um grupo de genes é acidentalmente perdido e já não estão presentes dentro da célula afetada, possivelmente associado a um erro de uma subsequente replicação/divisão celular. Portanto em vez de existir duas cópias desse mesmo gene (heterozigóticas), temos apenas uma cópia. Por vezes mutações em outros genes para além dos referidos são necessárias para transformar uma célula normal numa célula cancerígena (5). Apenas 5% dos cancros são hereditários, sendo a maioria esporádicos e resultantes da acumulação de mutações em genes cruciais de determinadas células.

1.2. Regulação exercida pelo ciclo celular nas células normais vs células mutadas

A maioria das células somáticas do nosso corpo são estruturalmente e funcionalmente especializadas e não possuem a capacidade de se dividirem (p.ex. células do sistema nervoso, células musculares, entre outras). No entanto algumas destas células (do fígado, dos rins) podem receber estímulos que promovem a divisão celular e que regeneram células já mortas ou danificadas (5). As células que mais sofrem esse tipo de regeneração são as que se situam mais a superfície de órgãos e que revestem os ductos e as cavidades do corpo humano, incluindo a

pele. Sofrem mais agressões e, portanto, são propícias a mais danos sendo necessário uma permanente regeneração. Estas células são denominadas de células epiteliais e é daqui que partem cerca de 80% de todos os câncros, incluindo o câncro da pele, mama, próstata, cólon e pulmão (5). Desde modo é necessário um mecanismo de controlo do crescimento e divisão celular para impedir que células anómalas possam-se desenvolver. Não é incomum o aparecimento de erros de replicação em células em permanente divisão como é o caso das células epiteliais, daí a importância destes mecanismos de controlo ou *checkpoint*. Um ciclo de replicação celular é constituído por 3 fases cruciais:

- ✓ Interfase (Fases G1, S, G2) – Crescimento celular e preparação para a divisão;
- ✓ Fase Mitótica (Prófase, Metáfase, Anáfase, Telófase) – Separação do material genético;
- ✓ Citocinese – Ruptura da membrana plasmática e finalização do processo de divisão.

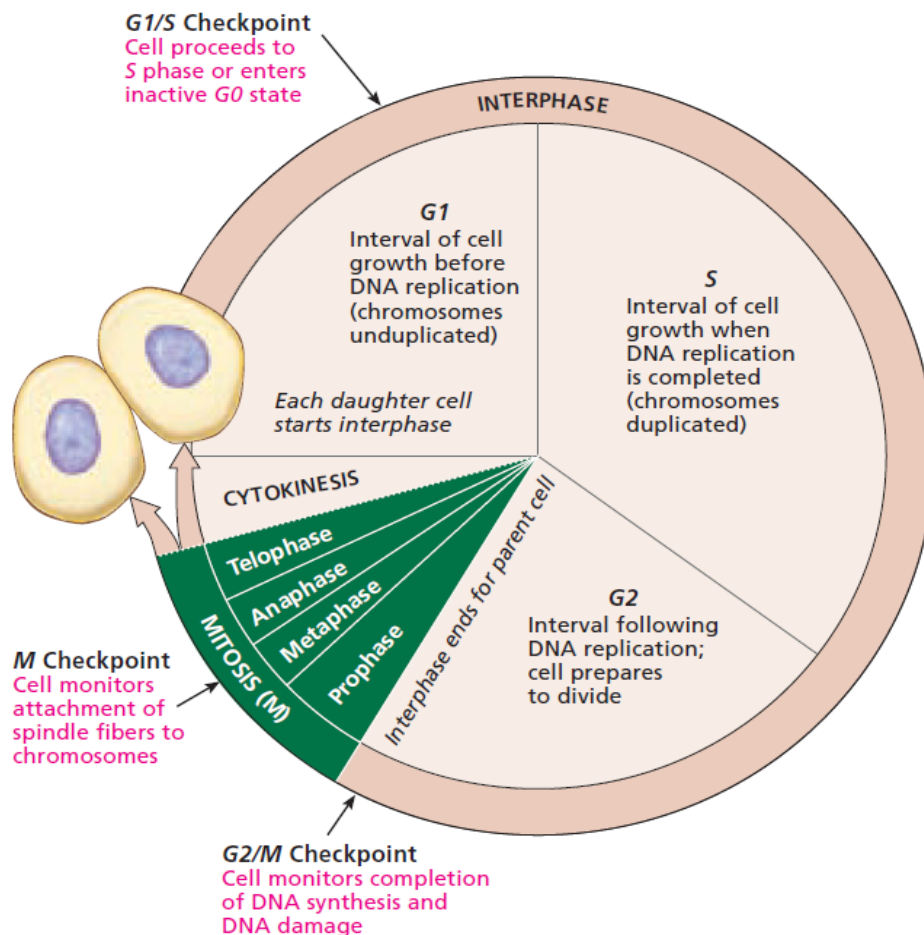


Figura 4 – Representação esquemática do ciclo de replicação celular em todas as suas fases e com os respetivos pontos de controlo (*checkpoints*). Adaptado de Human Heredity Principles and Issues 9th ed (Pág.273) (5).

A célula é regulada em três *checkpoints* principais: em G1 logo antes de entrar na fase S (G1/S Checkpoint), na transição fase G2 para a M (G2/M Checkpoint) e na fase tardia da metáfase (M Checkpoint) (5). Em cada *checkpoint*, a combinação de sinais externos e vias de regulação internas determinam se a célula pode ou não prosseguir para o próximo estágio de desenvolvimento. O *checkpoint* da fase G2/M verifica se a replicação do ADN ocorreu de forma correta e que, na possível ocorrência de um erro, este foi reparado corretamente. Caso tenha ocorrido um erro irreversível, a proteína P-53 induz a célula em apoptose. O *Checkpoint M* é

responsável por controlar se o fuso mitótico está corretamente ligado aos cromossomas, para que ocorra uma normal separação do material genético na anáfase (Figura 4).

Mutações nos genes que regulam estes checkpoints são um fator crítico para oncogénese. Existem duas classes de genes que regulam os checkpoints: os **genes supressores de tumores** e os **proto-oncogenes**. De uma forma simples, os genes supressores de tumores são responsáveis pela codificação de proteínas que inibem o crescimento/replicação celular, enquanto que os proto-oncogenes são responsáveis pela codificação de proteínas que induzem ou mantêm a replicação celular. Mutações nestes dois genes levam a um descontrolo da replicação celular, ou seja, células abnormais conseguem escapar aos mecanismos de controlo endógeno (*checkpoints*), tornando-se imortais, pois evadem constantemente aos mecanismos de apoptose e de morte celular programada (7).

O **oncogene** é então um gene mutado que possui a sua função alterada, estimulando de uma forma não controlada a divisão/proliferação celular, podendo-se enquadrar este tipo de mutação como uma *gain of function mutation*. Os oncogenes a nível celular possuem um efeito dominante, já que quando é ativado ou sobre expresso, é suficiente um alelo mutado para desencadear uma alteração fenotípica da célula, passando esta de uma forma normal para uma mutada.

Os **genes supressores de tumores (TSG)** também contribuem para a malignidade do tumor, mas por um mecanismo de ação diferente. Quando existe a perda de ambos os alelos do gene, ocorre uma *loss of function mutation*, impedindo o normal funcionamento dos genes no controlo da replicação celular. Esta família de genes é muito heterogénea, já que exercem variadas funções. Uns TSG suprimem diretamente o tumor regulando o ciclo celular ou inibindo o crescimento celular através do contacto célula com célula (*gatekeepers*).

Outros TSG estão envolvidos na reparação do ADN e na manutenção da integridade genómica (*caretakers*). As perdas dos dois alelos do gene levam ao desenvolvimento indireto do cancro, já que o organismo permite que ocorra o acumular de mutações, sem que estas sejam devidamente reparadas, quer em proto-oncogenes, quer em outros TSG. Como os produtos resultantes da expressão destes genes são por natureza protetores contra o cancro, é esperado que ao compreendermos melhor os seus mecanismos de ação possamos melhorar o nosso arsenal terapêutico contra o cancro (6).

2. Objetivos

Esta monografia tem como objetivo a caracterização do cancro da mama hereditário, principalmente a nível genético, procurando identificar os principais genes responsáveis pelo aumento do risco de cancro tanto nas mulheres como nos homens. Vão ser abordados os diferentes subtipos de cancro da mama, a penetrância dos principais genes que resultam na oncogénese e a sua inclusão nos painéis genéticos em conjunto com as principais técnicas de sequenciação utilizadas pelos laboratórios na atualidade. A descrição dos métodos de diagnóstico, rastreio e a terapêutica farmacológica também vão ser tópicos a ser abordados, visando que para quem leia a monografia tenha um acesso mais vasto a todo um conjunto de informações. Por último as conclusões e a perspetiva para o futuro de aquilo que se espera da evolução para os próximos anos.

3. Materiais e Métodos

Para a realização da monografia foram utilizados artigos científicos de diferentes fontes de pesquisa bibliográfica como o *PubMed*, *Science Direct*, *Google Scholar* e o *Scopus*. Foram utilizados os livros de genética humana que serviram de suporte para a pesquisa de conceitos e construção da monografia. Não foram aplicados critérios de exclusão, mas na pesquisa dos artigos científicos foi dada maior preferência a artigos mais recentes. A consulta de artigos e livros mais antigos (anteriores a 2008) cingiu-se a informação e conhecimento consolidado, que não sofreu alterações ao longo dos anos. Recorreu-se a *websites* como o Infomed onde foram consultados RCM's, *World Health Organization* e o Globocan para a obtenção de dados estatísticos e alguns outros *websites* de empresas e laboratórios que se dedicam à área da genética. Os principais conceitos pesquisados foram “*Hereditary Breast Cancer*”; “*Susceptible Genes in Hereditary Breast Cancer*”; “*Screening Hereditary Breast Cancer*”; “*Guidelines for Hereditary Breast Cancer*” e “*Hereditary Breast Cancer Treatment*”.

4. Resultados e Discussão

4.1. Cancro da Mama

O cancro da mama é o segundo tipo de cancro com mais incidência no mundo, e de longe, o mais prevalente entre as mulheres. É a maior causa de morte por cancro em mulheres de países subdesenvolvidos, e a segunda maior causa em países desenvolvidos. O cancro da mama é caracterizado pela sua heterogeneidade quer a nível molecular como a nível clínico. Os estudos dos perfis genéticos categorizaram o cancro da mama em 4 subtipos: luminal A, luminal B, sobre-expressão de HER-2 e basal-like (8–10):

Tabela 1 – Subdivisão dos vários tipos de cancro de acordo com as suas características bioquímicas. Adaptado de Dai 2015 (10). *Os cancros invasivos classificam-se em grau 1 ou bem diferenciados, grau 2 ou moderadamente diferenciados e grau 3 ou pouco diferenciados (11).

| Subtipo Intrínseco | Marcadores | Grau* | Resultado | Prevalência |
|-------------------------------------|---------------------------------|-------|------------|-------------|
| <i>Luminal A</i> | [ER+ PR+] HER2-KI67- | 1 2 | Bom | 23,7% |
| <i>Luminal B</i> | [ER+ PR+] HER2-KI67+ | 2 3 | Intermédio | 38,8% |
| | [ER+ PR+] HER2+KI67+ | | Fraco | 14% |
| <i>Sobre expressão de HER-2</i> | [ER-PR-] HER2+ | 2 3 | Fraco | 11,2% |
| <i>Triplo Negativo (Basal-like)</i> | [ER-PR-] HER2-, marcador basal+ | 3 | Fraco | 12,3% |

O cancro da mama influenciado por fatores hormonais que variam com a idade, paridade, idade com que se teve o primeiro filho, amamentação e terapêutica de substituição hormonal, que tem uma forte correlação com o cancro do tipo luminal. O subtipo luminal B comparativamente ao A, possui uma maior taxa de proliferação celular e uma maior expressão de genes e proteínas (p.ex: KI-67 → Marcador de proliferação celular), conferindo a estes um desenvolvimento mais rápido e um menor grau de diferenciação, como representado na Tabela 1 (10,12). Ao nível do ADN o subtipo luminal A apresenta menos mutações no seu genoma assim como um menor

número de mutações no gene *TP53*, que codifica para uma proteína supressora de tumores (12). Os tumores luminais respondem bem à hormonoterapia, sendo que os do subtipo B, como são mais proliferativos, beneficiam mais com uma terapêutica combinada (hormonoterapia + quimioterapia) (10).

Os tumores com a sobre-expressão de *HER-2*, como o próprio nome indica, expressam o recetor do tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano em quantidades superiores às normais. O gene *HER-2* é um proto-oncogene, que codifica para proteína *HER-2* que induz e mantêm a replicação celular (13).

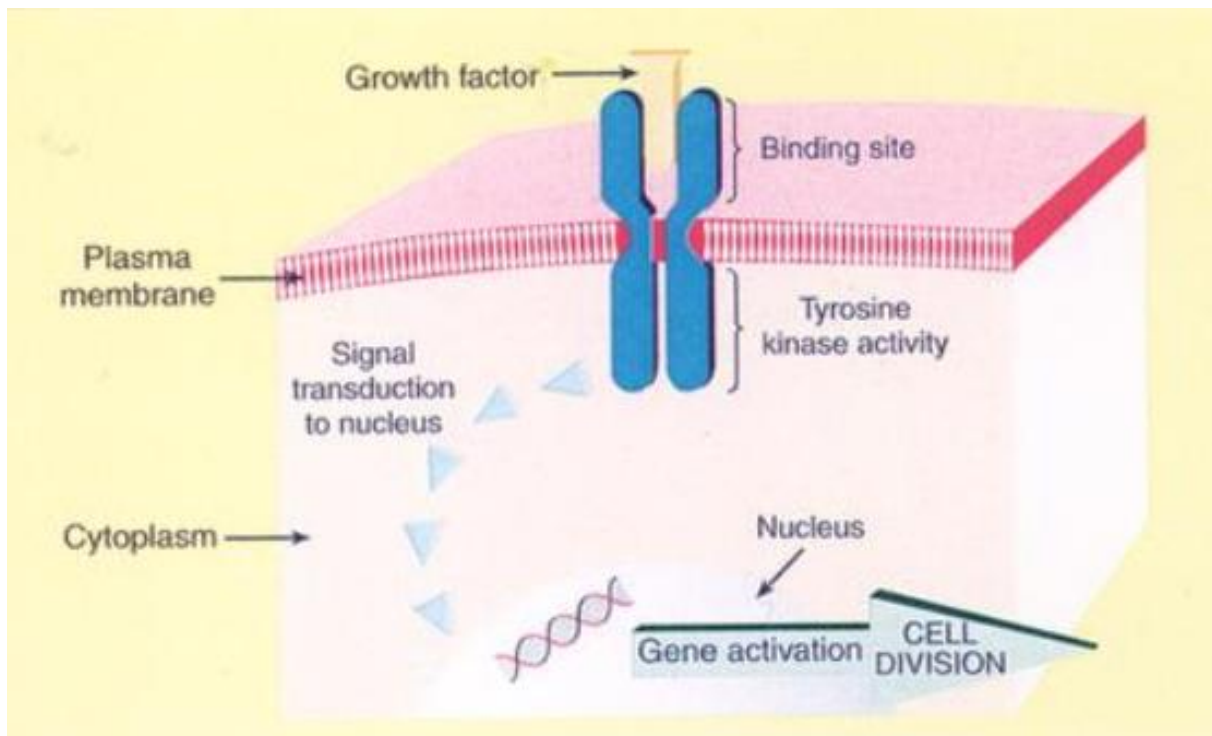


Figura 5 – Mecanismo de indução da divisão celular pelo recetor *HER-2*. Adaptado de Roche (13).

Normalmente existem duas cópias do gene *HER-2* em cada célula, mas neste subtipo de tumor o gene encontra-se amplificado, produzindo uma quantidade excessiva da proteína que vai ser expressa nas células epidérmicas (células do tecido mamário). Como consequência são enviados mais sinais que induzem o crescimento e multiplicação celular, ocorrendo uma replicação a uma velocidade superior à das células normais (Figura 5). Tendencialmente estes tumores apresentam um baixo grau de diferenciação (Tabela 1), tornando o prognóstico menos favorável. Este subtipo de tumor beneficia de uma terapêutica com quimioterapia ou então de terapêutica com anticorpos monoclonais (p.ex: trastuzumab) (10,13).

O Subtipo de cancro triplo negativo (*basal-like*) está associado à obesidade, particularmente em mulheres na pré-menopausa (9). Este subtipo é assim designado pois reflete a ausência de expressão dos recetores de estrogénio (RE), recetores de progesterona (RP) e a ausência de sobre-expressão da proteína transmembranária *HER-2*. Possui no entanto uma elevada expressão de marcadores basais (citoqueratina 5, 6, 14 e 17). Este tipo de cancro é importante pois é biologicamente mais agressivo e não possui um alvo terapêutico identificado, sendo a quimioterapia a principal opção (11).

4.1.1. Genes responsáveis pelo cancro da mama e a sua penetrância relativa

Os genes que predis põem para o cancro da mama podem ser categorizados de acordo com o risco relativo associado à causalidade da doença, ou seja, o quanto a sua presença condiciona a probabilidade de aparecimento do cancro ou não.

➤ Genes de elevada Penetrância:

- ✓ BRCA1 – Codifica para uma fosfoproteína nuclear, que atua como um gene supressor de tumor através da manutenção da estabilidade genómica. A proteína codificada combina com outros supressores de tumores, elementos que detetam danos ao nível do ADN e transdutores de sinal, formando um grande complexo proteico com inúmeras subunidades. As variações genéticas que induzem o encurtamento prematuro da proteína do gene *BRCA1* levam a um aumento do risco de cancro da mama e do ovário, em 80% e 40% respetivamente, sendo também responsável pelo elevado risco de aparecimento destes cancros em idades mais jovens (14,15). As recentes abordagens terapêuticas para o tratamento de carcinomas com deficiência no gene *BRCA1* aumentaram a utilidade clínica da análise genética como método de diagnóstico. Os inibidores das PARP (Poly-ADP ribose polymerase) – família de proteínas responsáveis pela estabilidade genómica e reparação celular – possuem seletividade para as células deficientes em *BRCA1* e *BRCA2* sendo particularmente úteis no tratamento deste tipo de cancros (16).
- ✓ BRCA2 – Codifica uma proteína que repara quebras na cadeia dupla de ADN, encontrando-se profundamente envolvida na estabilidade genómica, mais especificamente na recombinação homóloga. Os portadores homens desta mutação possuem um risco acrescido de cancro de próstata, mama e pâncreas em torno de 20%, 6%, e 3%, respetivamente, enquanto que as portadoras mulheres da mutação *BRCA2* possuem um risco acrescido de 26 – 84% de cancro da mama e 20% para o cancro do ovário. De acordo com as guidelines, indivíduos portadores destas mutações devem ser submetidos a uma vigilância anual. Imagem por ressonância magnética / mamografia são métodos recomendados a partir dos 30 anos, já que são processos de deteção mais sensíveis. Cirurgias profiláticas podem incluir mastectomia bilateral, e farmacologicamente a administração concomitante de tamoxifeno pode ajudar em tumores hormono-dependentes (14,15).
- ✓ TP53 – Gene supressor de tumor que codifica uma proteína em resposta ao stress celular que regula a expressão de inúmeros genes, responsáveis pela regulação do ciclo celular, senescência, reparação do ADN, apoptose e alterações no metabolismo celular. Associado à síndrome de *Li-Fraumeni* quando há mutação. Gene altamente penetrante que predis põe a um amplo espetro de tumores, incluindo o cancro da mama de início muito precoce com uma incidência de 5% antes dos 30 anos de idade. Indivíduos portadores da mutação *TP53* possuem um risco de cancro ao longo da vida de 90%, e um risco de 18-60 vezes maior de incidência de cancro da mama antes dos 45 anos (14,15,17).
- ✓ PTEN – Gene que codifica para uma proteína que regula a proliferação, sobrevivência e metabolismo celular. Mutações na linha germinativa do gene supressor de tumor *PTEN* são a causa da síndrome de *Cowden*, uma doença autossómica dominante com um elevado risco de tumores benignos e malignos da tiroide, da mama e do endométrio.

Indivíduos que possuem este tipo de mutação têm um aumento da probabilidade em 50% de desenvolvimento de cancro da mama no decurso da sua vida (14,15).

- ✓ *STK11* – Gene supressor de tumor importante na mediação da apoptose e na regulação do ciclo celular. Mutações na linha germinativa de um aminoácido serina/treonina causam a síndrome de *Peutz-Jeghers*, autossômica dominante, que possui uma elevada incidência de neoplasias gastrointestinais, e um aumento do risco de outros tipos de cancro como a mama, o intestino delgado, pâncreas ovário, útero, estômago, colo do útero, pulmão e testículo. Para estes indivíduos é necessário fazer um acompanhamento estrito com endoscopias e imagem de ressonância magnética (mama) (14).
- ✓ *CDH1* – O gene da caderina-E (*CDH1*) expressa uma molécula de adesão célula-célula nas junções entre células epiteliais. Mutações neste gene estão associados a um carcinoma gástrico difuso, e um aumento do risco de cancro da mama lobular e cancro colorretal. A incidência do cancro da mama nesta mutação é de 40 – 54% (14).

➤ **Genes de Penetrância Intermédia:**

- ✓ *CHEK2* – *Checkpoint kinase 2*, proteína resultante da transcrição do gene *CHEK2*, é uma serina/treonina cinase que é ativada em resposta ao dano ao nível do ADN, possuindo um papel importante na interpretação do estímulo recebido e posterior reparação do ADN. Certas mutações ao nível deste gene estão frequentemente associadas ao aparecimento do cancro da mama na mulher, havendo uma em particular na linha germinativa, a *CHEK2 c.1100delC*, que aumenta o risco para o dobro. Em homozigotia, existe um risco aumentado em 6x mais, comparativamente a um indivíduo heterozigótico (14).
- ✓ *PALB2* – Também conhecido como *FANCN*, é um gene associado à anemia *Fanconi* que codifica para uma proteína que interage com o *BRCA2* durante a recombinação homóloga. Este gene confere uma suscetibilidade para o cancro da mama e o cancro do ovário. Em mutações raras na linha germinativa do gene *PALB2*, parentes do familiar, em primeiro grau, demonstram um aumento do risco de cancro da mama em 5,6 vezes, comparativamente aos familiares não portadores desta mutação (14).

Para além destes genes existem outros genes como o *ATM*, *XRCC2*, *NBS1*, *RAD50*, *MRE11*, *BARD1*, *ABRAXAS* e *RAD51D*.

➤ **Loci de baixa Penetrância:**

Vários loci que foram identificados como comuns no cancro da mama estão associados a um aumento ou uma diminuição do risco de cancro. Estes atuam sinergicamente com um conjunto de fatores externos e com o estilo de vida de cada pessoa, explicando assim um pequeno conjunto de casos de cancro em que genes de elevada ou intermédia penetrância não se encontram mutados. Muitos destes loci com baixa suscetibilidade foram descritos por estudos abrangentes do genoma humano (GWAS), e na avaliação de risco final seis *SNPs* demonstravam uma associação estatisticamente significativa: *MAP3K1*, *FGFR2*, *LSP1*, *TNRC19* e *H19*. Apesar da contribuição destes loci de baixa penetrância ainda ser objeto de debate, é claro que o acumular destas mutações induz a um aumento do risco do aparecimento do cancro da mama, e que alguns casos podem ser explicados pela presença destes mesmos elementos (14).

5. Diagnóstico (Testes Genéticos)

Os testes genéticos para a predisposição do cancro hereditário representaram um importante avanço para a área da saúde. São exames que utilizam uma amostra biológica e analisam a existência ou ausência de mutações num gene em específico ou num conjunto de genes (p.ex: sequenciação, painéis genéticos). Desempenham atualmente um papel fundamental na deteção do risco e no possível diagnóstico de uma determinada patologia. Na área da oncologia, os testes genéticos são utilizados maioritariamente para:

- ✓ Identificação de defeitos nos genes que aumentam a predisposição de um indivíduo para o cancro e avaliação de outras variações genéticas de baixo risco, com testes que normalmente utilizam sangue ou saliva (18);
- ✓ Confirmação de um diagnóstico caso seja identificada uma mutação tipicamente associada a uma determinada patologia;
- ✓ De forma preditiva ou pré sintomática se existe um histórico familiar de um cancro com elevada incidência, permitindo analisar se a pessoa apresenta risco de vir a desenvolver a patologia numa perspetiva futura;
- ✓ Determinação das características genéticas de um determinado cancro quando este já está instalado, permitindo caracterizá-lo e sequenciá-lo, implementando uma terapêutica mais orientada e eficaz (farmacogenética) (19).

A descoberta inicial dos genes *BRCA1/2* suscetíveis para o cancro da mama iniciou uma nova era para os testes preditivos. Desde então foi observado que a maioria das mulheres com cancro da mama não apresentavam uma predisposição genética, mas que 20% das mulheres com um histórico familiar de cancro, eram portadoras de uma mutação que aumentava para o risco de desenvolvimento da doença (20). Isto leva-nos para o seguinte tópico: para quem se destinam estes testes genéticos? As guidelines que nos orientam para os critérios de pré-seleção encontram-se sumarizadas na seguinte tabela:

Tabela 2 – Critérios da NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) para a avaliação de risco de HBOC. Adaptado de Cobain 2016 (20);

| |
|--|
| A avaliação de risco para o HBOC deve ser realizada em doentes que cumprem um ou mais dos seguintes critérios: |
| <ul style="list-style-type: none">✓ Cancro da mama na mulher diagnosticado a uma idade ≤ 50 anos✓ Cancro da mama triplo negativo diagnosticado a uma idade ≤ 60 anos✓ Cancro ovárico evasivo, das trompas de Falópio ou peritoneal primário✓ Cancro da mama no homem✓ Quaisquer cancros associados ao HBOC, independentemente da idade a que foram diagnosticados✓ Dois ou mais cancros da mama primários |
| A avaliação de risco deve ser realizada em pacientes com cancro da mama e a familiares de 1º, 2º e 3º grau que cumpram um dos seguintes critérios: |
| <ul style="list-style-type: none">✓ Cancro da mama diagnosticado a uma idade ≤ 50 anos em um ou mais familiares✓ Cancro ovárico evasivo, das trompas de Falópio ou peritoneal primário em um ou mais familiares✓ Cancros da mama, próstata ou pancreático diagnosticados em qualquer idade em um ou mais familiares |

É de grande importância a existência destes critérios de pré-seleção, porque mesmo com o desenvolvimento atual da ciência, e com métodos cada vez mais eficientes e de menor custo, ainda não é economicamente viável para nenhum sistema de saúde fazer rastreios a toda a população. É possível construir uma árvore genealógica (com 3 ou mais gerações) a partir da informação gerada permite observar a prevalência da doença (história familiar), sendo uma ferramenta que ajuda a clarificar o doente do risco potencial que possui.

5.1. Painéis Genéticos:

Atualmente, com o avanço das tecnologias de sequenciação, melhorou-se a habilidade para detetar múltiplas mutações germinativas e somáticas num curto período de tempo. Tais progressos devem-se à chegada de uma nova técnica denominada de sequenciação de nova geração (SNG) que tem vindo gradualmente a substituir a sequenciação de Sanger (21). Este avanço tem permitido a sequenciação de cada vez mais genes, com um custo cada vez menor. Apesar dos genes *BRCA1/2* serem os genes mais prováveis de estarem mutados numa família com elevado risco de cancro do ovário e da mama, o painel genético tem englobado um maior número de genes, com uma importância muito significativa na oncogénese (22).

Contudo, temos que abordar a temática dos painéis genéticos da mesma maneira que qualquer teste de diagnóstico é abordado: examinando a sua validade analítica (precisão na deteção da presença ou ausência de uma determinada mutação); validade clínica (habilidade de segregar doentes em grupos com riscos bem definidos de cancro) e acima de tudo a utilidade clínica (habilidade para orientar as pessoas para medidas concretas e bem definidas) (21).

Em Portugal, o laboratório GENETYCA ICM disponibiliza um teste chamado FEEL para análise dos genes *BRCA1/2*, os mais comuns associados a mutação do cancro da mama. Para um painel genético mais abrangente o laboratório oferece o teste FEEL PLUS, em que examinam um painel de 26 genes regularmente associados ao aparecimento de cancro da mama e dos ovários, assim como a outro tipo de patologias (23). Os genes que o painel genético abrange são os seguintes:

| | | |
|----------------|------------------|-----------------|
| ✓ <i>BRCA1</i> | ✓ <i>FAM175A</i> | ✓ <i>PMS2</i> |
| ✓ <i>BRCA2</i> | ✓ <i>MEN1</i> | ✓ <i>PTEN</i> |
| ✓ <i>ATM</i> | ✓ <i>MLH1</i> | ✓ <i>RAD50</i> |
| ✓ <i>BARD1</i> | ✓ <i>MRE11A</i> | ✓ <i>RAD51C</i> |
| ✓ <i>BLM</i> | ✓ <i>MSH2</i> | ✓ <i>RAD51D</i> |
| ✓ <i>BRIP1</i> | ✓ <i>MSH6</i> | ✓ <i>STK11</i> |
| ✓ <i>CDH1</i> | ✓ <i>MUTYH</i> | ✓ <i>TP53</i> |
| ✓ <i>CHEK2</i> | ✓ <i>NBN</i> | ✓ <i>XRCC</i> |
| ✓ <i>EPCAM</i> | ✓ <i>PALB2</i> | |

5.1.1. Resultados dos painéis genéticos... como interpretar ?

- **Resultado Negativo:** quanto é testada uma mutação e o resultado veio negativo do laboratório significa que o indivíduo tem uma probabilidade idêntica, ou inferior ao da população em geral de vir a desenvolver um cancro da mama ou dos ovários. No entanto é preciso ter sempre em conta o histórico familiar e fazer uma vigilância constante e rastreios periódicos para o despiste do cancro, já que a não presença da mutação, não significa a isenção da doença em si.

- **Resultado Positivo:** Um resultado positivo para uma mutação não implica um diagnóstico do cancro da mama ou dos ovários. Estas pessoas estão mais suscetíveis de vir a desenvolver esta doença no futuro, mas nada garante que a desenvolvam efetivamente. Este resultado indica-nos que precisamos de implementar medidas mais apertadas de vigilância e rastreio. Medidas essas particularmente importantes já que um diagnóstico precoce do cancro tem uma probabilidade de cura entre 70 a 90% dos casos (23).

5.1.2. Métodos de Sequenciação:

São utilizados maioritariamente 2 métodos: o método de teste tradicional, que envolve a sequenciação direta do ADN (Sequenciação de Sanger), utilizando amostras de sangue ou células resultantes da raspagem da cavidade bucal. É um processo dispendioso que consome tempo e possui algumas limitações, já que não se pode analisar grandes sequências de ADN (18). Por outro lado, temos a sequenciação de nova geração (SNG), que é uma tecnologia que se encontra em rápido crescimento. Pode ser usada para sequenciar genomas inteiros ou genes em específico, incluindo todos os 22,000 genes codificantes presentes no nosso genoma.

➤ **Como se processa então esta análise através da SNG?**

Existem diversas plataformas que utilizam diferentes tecnologias de sequenciação, mas todas têm em comum o facto de sequenciar milhões de fragmentos de ADN em paralelo. Posteriormente são usadas análises bioinformáticas que vão unir todos os fragmentos sequenciados, sendo que cada leitura individual tem como referência o genoma humano completo introduzido no sistema informático (24). Fazendo uma analogia, seria como montar peças de um puzzle com a imagem de referência na caixa. Cada uma das 3 biliões de bases do genoma humano é sequenciada inúmeras vezes, fornecendo uma recolha de dados precisa e eficiente, e uma maior perspetiva para a deteção de variações genéticas inesperadas.

➤ **Vantagens da utilização da SNG na prática clínica:**

- ✓ A SNG capta um maior espectro de mutações em comparação com o Método de Sanger: o espectro de variações de ADN no genoma humano engloba pequenas alterações de bases (substituições), inserções e deleções, grandes deleções genómicas de exões ou de genes por inteiro e rearranjos como inversões ou translocações.
- ✓ Os genomas podem ser analisados sem viés de informação: a sequenciação por capilaridade depende do conhecimento prévio do gene ou do locus a ser investigado. No entanto a SNG é completamente não seletiva, podendo analisar genomas inteiros e facilitar a descoberta de novas mutações ou genes que estão mutados e induzem doença (24).
- ✓ A elevada sensibilidade da SNG permite a deteção de mutações em mosaico: o mosaicismo genético refere-se quando a pessoa é um mosaico, ou seja, possui mais que um genótipo. Aquando do diagnóstico de cancro, as pessoas são consideradas um mosaico já que possuem dois genomas distintos: o genoma com que nasceram e o genoma que involuntariamente adquiriram como consequência do desenvolvimento das células cancerígenas. A SNG permite uma leitura de maior sensibilidade e a deteção de variações presentes num número ínfimo de células, incluído as variações em mosaico (24,25).

5.1.3. Quais os genes que devem constar num painel genético?

Num estudo em que se englobou 10.745 pacientes (Figura 6) foi obtido a seguinte prevalência de mutações:

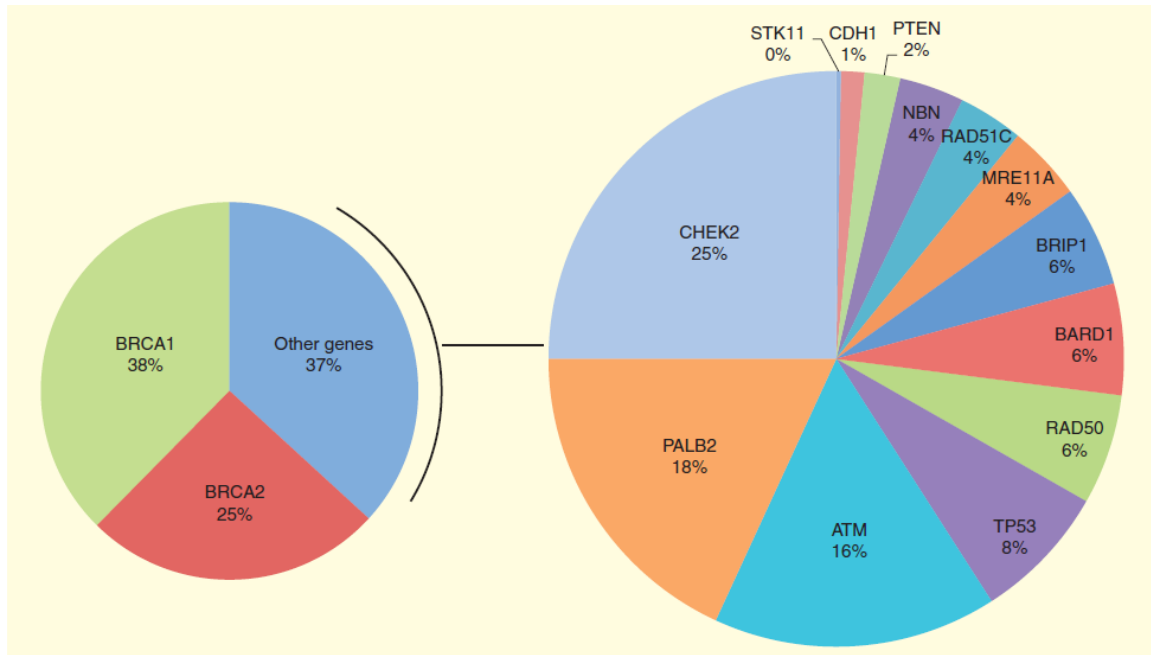


Figura 6 – Proporção de mutações genéticas detetadas dos genes *BRCA1/2* e outros 13 genes que pertencem ao painel genético do cancro da mama. Adaptado de: Lerner-Ellies 2015 (26).

Os genes *BRCA1/2* são exemplos de genes com grandes dimensões e que existem centenas de variações em cada um, sendo de grande importância a correta identificação das variantes que são benignas, prejudiciais ou as de impacto clínico desconhecido. Estas últimas são denominadas de variantes de significância desconhecida (VUS – *Variants of Unknown Significance*).

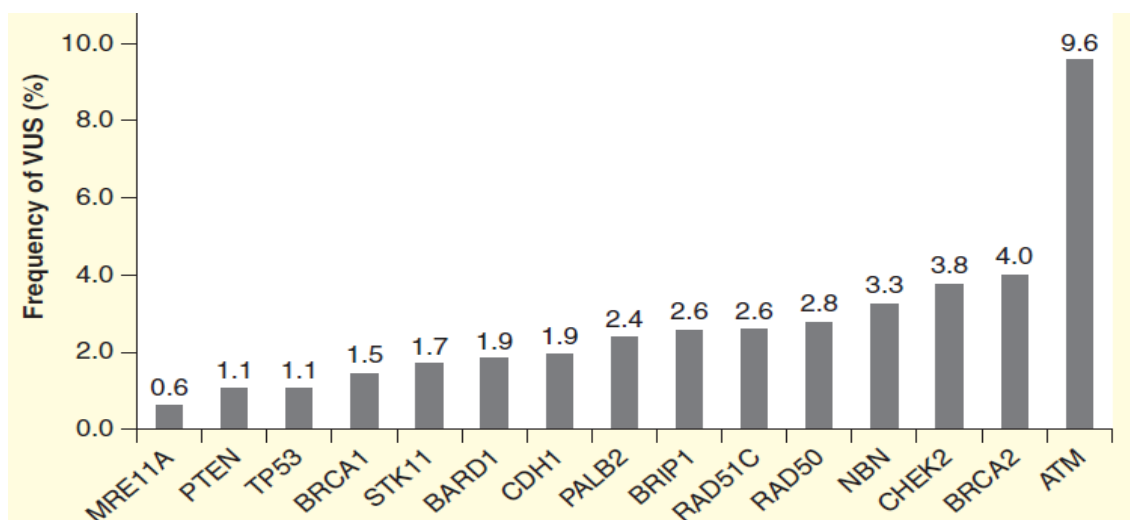


Figura 7 – Prevalência das variantes de significância desconhecida (VUS) identificadas em 15 genes do painel genético em estudo. Adaptado de: Lerner-Ellies 2015 (26).

Com a rápida introdução clínica dos painéis genéticos levantaram-se algumas questões, nomeadamente sobre o teste de alguns genes de penetrância moderada ou de baixa penetrância. Um dos aspetos mais importantes a ter em conta na inclusão de genes num painel genético é a relevância clínica dos mesmos (se possuem ou não possuem patogenicidade associada às variantes detetadas). A utilidade do teste diminui quando não podemos associar estas alterações a um significado clínico, que indique que daqui a alguns anos o portador possa ou não ter maior risco de desenvolver um cancro.

Na figura 7 podemos observar que o gene *ATM* é dos que mais possui variantes de significância desconhecida (VUS). Apesar das mutações neste gene serem relativamente comuns, o risco associado ao aparecimento do cancro da mama é baixo e exerce pouca influencia na gestão clínica do cancro da mama. Atualmente, apenas uma mutação no gene *ATM* está associada com um risco relativamente alto de aparecimento de cancro da mama, que pode levar a um maior acompanhamento por parte do médico ou a medidas de redução de risco. No entanto a prevalência desta mutação é muito baixa, e juntamente com a sua baixa penetrância e a dificuldade de interpretação das VUS, faz com que o potencial do gene na inclusão nos painéis genéticos seja muito baixo (26,27).

Ter o cuidado de fazer uma inclusão de genes com bom valor preditivo aumenta a utilidade do nosso teste, incluindo genes que comprovadamente exercem um papel importante na oncogénese e que permitem com alguma segurança dar orientações precisas para os pacientes, quer seja a nível preventivo ou terapêutico (28).

6. Rastreio

A gestão clínica das mulheres que são portadoras de uma mutação genética para o cancro da mama depende do risco que este apresenta para o paciente ao longo da vida (idade de início, patologia do tumor, mortalidade, entre outros fatores). Foram estabelecidas guidelines com medidas de rastreio e prevenção direcionadas para portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*, sendo estas abordagens similares para outros genes que induzem suscetibilidade de cancro (26).

Os portadores das mutações *BRCA1/2* possuem um elevado risco de desenvolvimento de cancro, sendo estes indivíduos incluídos numa categoria denominada *Hereditary Breast and Ovarian Cancers* (HBOC). Para pessoas com HBOC existem formas de rastrear ou reduzir o risco como por exemplo: um melhor *follow-up* das pessoas com rastreios mais frequentes para uma deteção mais precoce, medicação preventiva (p.ex: tamoxifeno) ou uma mastectomia profilática em pessoas com elevado risco de cancro.

Esta gestão do risco é multidisciplinar existindo uma importante interação entre o médico, o cirurgião e o geneticista (28). As recomendações para os portadores das mutações *BRCA1/2* são frequentemente extrapoladas para outras mutações associadas ao cancro da mama que não possuem guidelines pré-estabelecidas.

6.1. Medidas de gestão do risco para mulheres suscetíveis ao cancro da mama

O rastreio precoce é aconselhado a partir dos 18 anos, através da auto examinação da mama (palpação) para detetar possíveis alterações. A partir dos 25 já é necessário um acompanhamento médico a cada 6 meses.

Entre os 25 e os 29 anos, é necessário proceder a radiografias anuais com ressonância magnética de contraste associada, ou mamografia (quando a ressonância magnética não é fazível) (28). A ressonância magnética está estabelecida como o método de rastreio mais sensível para análise da população em risco (29).

A partir dos 30 e até aos 75 é necessário fazer anualmente a ressonância magnética e a mamografia. A utilização destes 2 métodos permite duplicar a hipótese de deteção de um tumor, comparativamente há utilização de apenas 1 método, podendo por vezes ser detetado tumores nos seus estadios iniciais de desenvolvimento (28).

A ultrassonografia pode ser considerada como método de rastreio complementar à ressonância magnética em qualquer idade (29). As abordagens apresentadas para os genes *BRCA1/2* são similares às medidas aplicadas para os outros tipos de genes (Figura 8), sendo estes os passos principais a seguir.

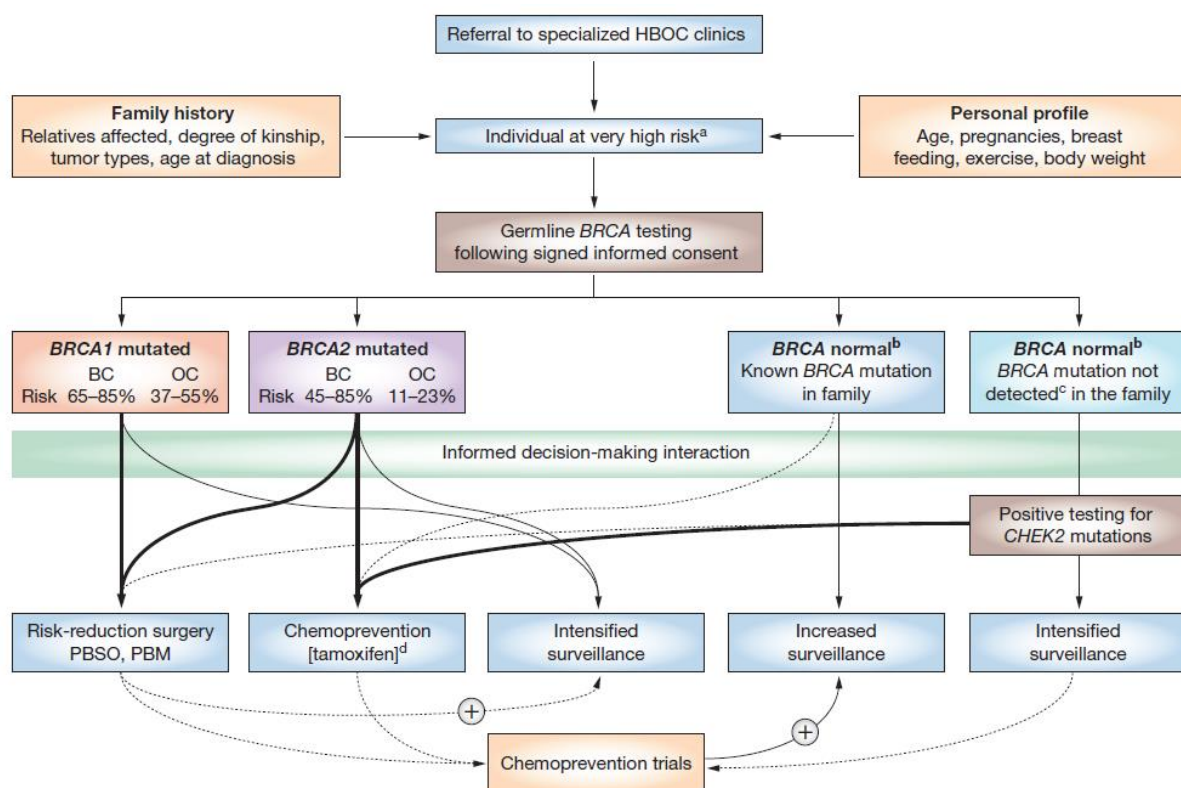


Figura 8 – Protocolo para gestão do risco em doentes com elevada predisposição para HBOC. Adaptado de: Roukos 2007 (30). **Legenda:** As setas a negrito (de maior espessura) representam as recomendações de 1º escolha com base na evidência existente. As setas mais finas representam as recomendações de 2º escolha com base na evidência existente. As setas a tracejado representam opções alternativas. O símbolo (+) indica que as opções devem ser complementadas uma com a outra. ^a Membro de uma família com uma mutação *BRCA1/2* ou uma mulher com um histórico familiar de cancro: pelo menos 3 parentes próximos com cancro do ovário ou da mama, ou 2 ou menos parentes com cancro, se um deles tiver cancro do ovário ou da mama masculino. Parentes próximos incluem os de 1º, 2º e 3º grau. ^b Um teste negativo para a mutação *BRCA1/2* não deve levantar as suspeitas que num futuro próximo a pessoa não desenvolva cancro já que em média estas mutações são responsáveis apenas por 25% dos casos de cancro. ^c No caso de uma mulher não portadora da mutação *BRCA1/2*, pertencente a uma família de elevado risco, mas sem antecedentes familiares desta mutação, deve ser proposto o

teste para o gene *CHEK2*. ^d O Raloxifeno pode ser considerado como alternativa terapêutica caso a mulher apresente um elevado risco de trombose ou uma osteopénia acentuada. **Abreviaturas:** BC: cancro da mama; HBOC: Cancro hereditário da mama e do ovário; PBSO: salpingooforectomia profilática bilateral; OC: cancro do ovário; PBM: Mastectomia profilática bilateral.

6.1.1. Alterações do estilo de vida:

Foi observado que a amamentação pode reduzir o risco de cancro da mama nos portadores da mutação *BRCA1/2*. Portanto se possível a amamentação deve sempre ser encorajada. O exercício físico regular, a manutenção de um peso saudável e a redução do consumo de álcool também são fatores que influenciam o risco de cancro. Ter o cuidado de evitar também a terapêutica hormonal de substituição (THS), já que os cancros da mama hormono-dependentes têm o seu crescimento estimulado por este tipo de fármacos (29).

7. Terapêutica

O cancro da mama hereditário dá uma visão global diferente daquilo que pode ser o esquema terapêutico a seguir comparativamente aos cancros esporádicos. As guidelines respetivamente ao tratamento do cancro da mama não nos dão um algoritmo específico ou uma linha de tratamento para as pessoas com mutação no gene *BRCA* ou com um risco elevado de cancro da mama hereditário (31). Existem, portanto, alternativas terapêuticas a ser consideradas:

7.1. Cirurgia de remoção mamária:

Devido ao elevado risco de aparecimento de um segundo diagnóstico de cancro de mama para mulheres que foram testadas como positivas para uma mutação hereditária, pode ser escolhida como opção a mastectomia bilateral (remoção dos 2 seios). As mulheres que optaram por esta alternativa apresentam um menor risco de desenvolvimento de um segundo cancro, já que o tecido suscetível de sofrer alterações foi removido (32).

7.2. Ooforectomia:

Mulheres com mutações nos genes *BRCA* possuem um elevado risco de desenvolver cancro nos ovários. Existe a alternativa de fazer uma injeção para inibir a produção de estrogénios ou uma ooforectomia que funciona como preventivo do cancro do ovário e redutor do risco de cancro da mama em mulheres que não tenham sido submetidas à mastectomia bilateral (32).

7.3. Tamoxifeno, inibidores da aromatase e outras terapêuticas hormonais:

O tamoxifeno é um modulador seletivo dos recetores de estrogénio (MSRE) que compete com estrogénios como o estradiol, na ligação aos recetores estrogénicos em vários tecidos, inclusive na mama (33). O estradiol ao ligar-se aos recetores de estrogénio (RE) vai induzir a sua fosforilação, alterando a sua conformação e promovendo a dimerização dos recetores. Este processo vai facilitar a ligação do complexo proteico (recetor dimerizado) à região promotora de alguns genes promovendo a sua transcrição (Figura 9). Por outro lado, quando existe a ligação com os MSRE aos RE, estes favorecem o recrutamento de repressores que inibem a atividade transcricional. Os RE podem gerar sinais de crescimento celular tanto dentro como

fora do núcleo, promovendo um aumento dos fatores de crescimento, aumentando o número de RE e outros sinais de crescimento, estimulando a proliferação e a sobrevivência celular. Deste modo o tamoxifeno funciona como um importante antagonista e modulador do crescimento celular em doentes que sejam RE+ (33,34).

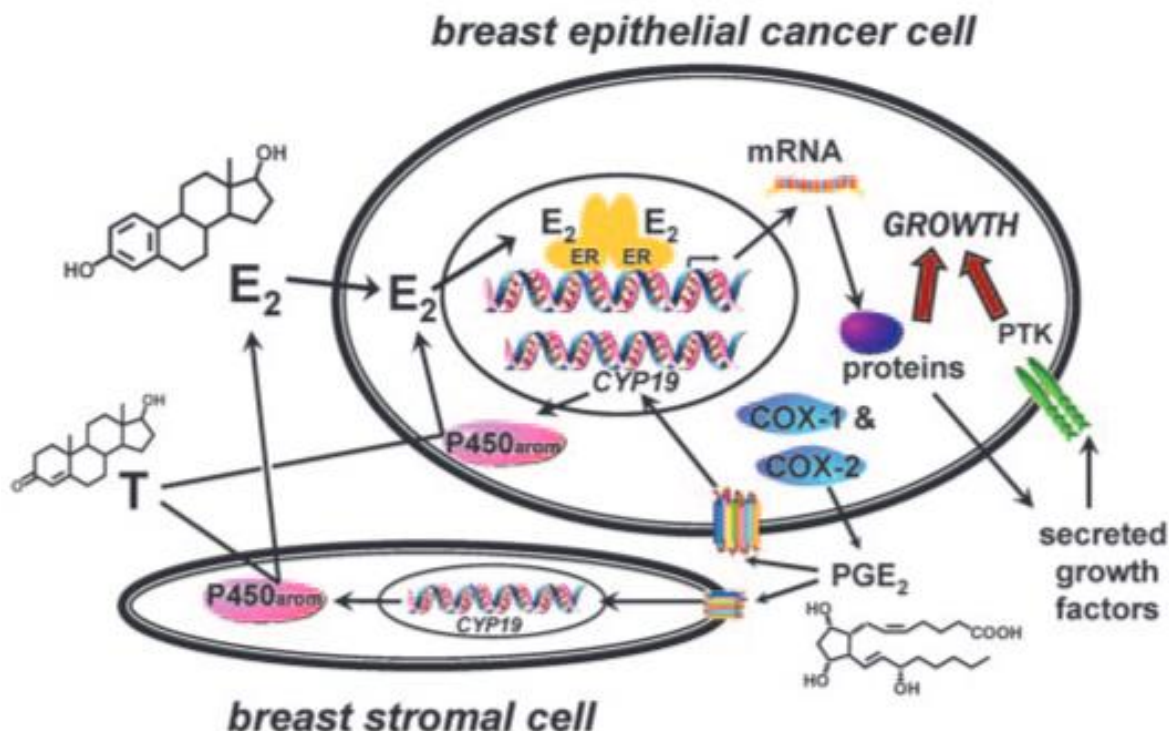


Figura 9 – Modelo representativo das vias autócrinas e parácrinas da aromatase e da COX no cancro da mama hormono-dependente (RE+). E₂, Estradiol; T, Testosterona; ER, Recetor de Estrogénio; PTK, Enzima Tirosina Cinase. Adaptado de Aromatase “Inhibitors in the Treatment of Breast Cancer” (35).

Os inibidores da aromatase são prescritos para mulheres pós-menopausa com cancro da mama para reduzir a produção de estrogénios pelos adipócitos e as glândulas suprarrenais. Estes são divididos em inibidores de primeira e segunda geração (não esteroides) e os inibidores de terceira geração (esteroides). Os de 1^o e 2^o geração possuem um heteroátomo como uma característica química comum e interferem na hidroxilação dos esteroides através da ligação do heteroátomo ao Fe do grupo heme do citocromo P450. Como exemplo temos a Aminoglutetimida (1^o geração), que eram menos específicos, já que inibiam outros CYP450, sendo posteriormente removida por causar muitos efeitos adversos e o Fadrozole (2^o geração) apresenta uma maior seletividade que os de 1^o geração, mas que ainda assim possui alguma atividade inibitória inespecífica com a aldosterona e a progesterona. Os fármacos de 3^o geração possuem 2 mecanismos distintos: através da inibição competitiva da enzima, em que os inibidores competem com o substrato e formam uma ligação não covalente no centro ativo da enzima, diminuindo a quantidade de produto formado ou através da inibição direta da enzima, em que um composto que mimetiza o substrato liga-se ao centro ativo da enzima, sendo convertido num metabolito que inibe diretamente a atividade enzimática (inibidores suicidas). A utilização destes fármacos faz com que diminua a reincidência de cancro em mulheres que possuam HE+ ou cancros hormono-dependentes (32,35).

7.4. Uso de agentes de Quimioterapia:

Mulheres com mutações no gene *BRCA1* tendem a desenvolver câncros da mama mais agressivos do que mulheres com câncros da mama esporádicos. Existem diferentes características que podem definir a resposta biológica de um indivíduo a uma patologia, portanto, diferentes genótipos e diferentes abordagens terapêuticas que podem ser exercidas para o controlo do cancro da mama dependendo das diferentes mutações. Podemos de uma maneira geral definir as abordagens que são exercidas para as mutações mais comuns que afetam as mulheres com cancro da mama hereditário ao nível dos genes *BRCA1/2* (36,37):

7.4.1. Taxanos:

Taxanos são agentes utilizados em quimioterapia (derivados dos alcaloides) como inibidores dos microtúbulos que bloqueiam a mitose celular em metáfase/anáfase, levando a célula a mecanismos de morte celular (apoptose) (36,37). Os taxanos mais comuns utilizados no tratamento do cancro da mama são o docetaxel e o paclitaxel, aprovados para uso médico em 1993 e 1995 respetivamente. Indivíduos que possuem câncros com mutação no gene *BRCA1* e não tendo expressão de recetores hormonais, mostraram uma menor sensibilidade à quimioterapia com taxanos do que indivíduos sem mutação no gene *BRCA1* e sem expressão de recetores hormonais.

Por outro lado, nos câncros hereditários e esporádicos, com expressão de recetores hormonais, apresentam uma sensibilidade similar à terapia com taxanos. Na tentativa de obter melhores resultados foi utilizada uma combinação de antraciclina e taxanos para o tratamento de estadios mais avançados do cancro da mama, mas estudos recentes revelam que os resultados produzidos pela combinação dos 2 componentes são similares à monoterapia com taxanos, não acrescentando valor terapêutico. O tratamento apenas com taxanos apresenta benefícios em relação à combinação dos 2 componentes já que existe menor toxicidade para o paciente (36).

7.4.2. Compostos de Platina:

Os compostos de platina são elementos bastante utilizados em quimioterapia pois estes ligam-se diretamente ao ADN, formando aductos. Estes aductos intercalam-se com as cadeias duplas de ADN provocando uma elevada instabilidade genómica com consequente quebra das cadeias. Foi demonstrado que a quimioterapia neoadjuvante promove uma maior resposta aos fármacos à base de platina e uma menor resposta aos taxanos em pessoas que apresentam cancro da mama com a mutação *BRCA1* (36).

Esta resposta é quantificada por um marcador denominado pCR (resposta patológica completa), bastante utilizado para medir a eficácia a longo termo da quimioterapia adjuvante no cancro da mama. pCR é então definido como a ausência de cancro evasivo na mama e nos nódulos linfáticos após o tratamento, podendo ser medido em semanas após o início da terapêutica (38). É referido num estudo que doentes tratados com cisplatina apresentavam um pCR de 83%, e mulheres tratadas com doxorubicina e docetaxel apresentavam um pCR de 8%, comprovando que a terapêutica neoadjuvante promove uma melhor resposta dos agentes de platina.

Em câncros com mutação *BRCA1* presente e triplo-negativos é também verificada que os agentes de platina possuem uma maior eficácia, observando-se um aumento do pCR quer com o tratamento com cisplatina, quer na adição destes elementos à terapêutica neoadjuvante (36).

7.5. Inibidores da PARP para o tratamento do cancro da mama metastático:

Estratégias modernas para o desenvolvimento de novas terapias incluem agentes direcionados para defeitos moleculares específicos que caracterizam certas células cancerígenas, com o objetivo de aumentar a eficácia do tratamento e diminuir a toxicidade.

A descoberta da família de enzimas nucleares poli-(ADP-ribose) polimerases (*PARPs*) e o seu papel nas vias de reparação do ADN, originaram o desenvolvimento de uma nova classe de medicamentos antineoplásicos, com a habilidade de interferir no sistema de reparação do ADN das células cancerígenas (Inibidores da *PARP*).

Uma das características dos cancros com origem numa mutação *BRCA* é o mau funcionamento desse sistema de reparação (via de recombinação homóloga), tornando os *PARP* particularmente eficazes em pessoas com cancro proveniente de uma mutação hereditária (células mutadas mais suscetíveis aos *PARP* que as células normais) (32,39).

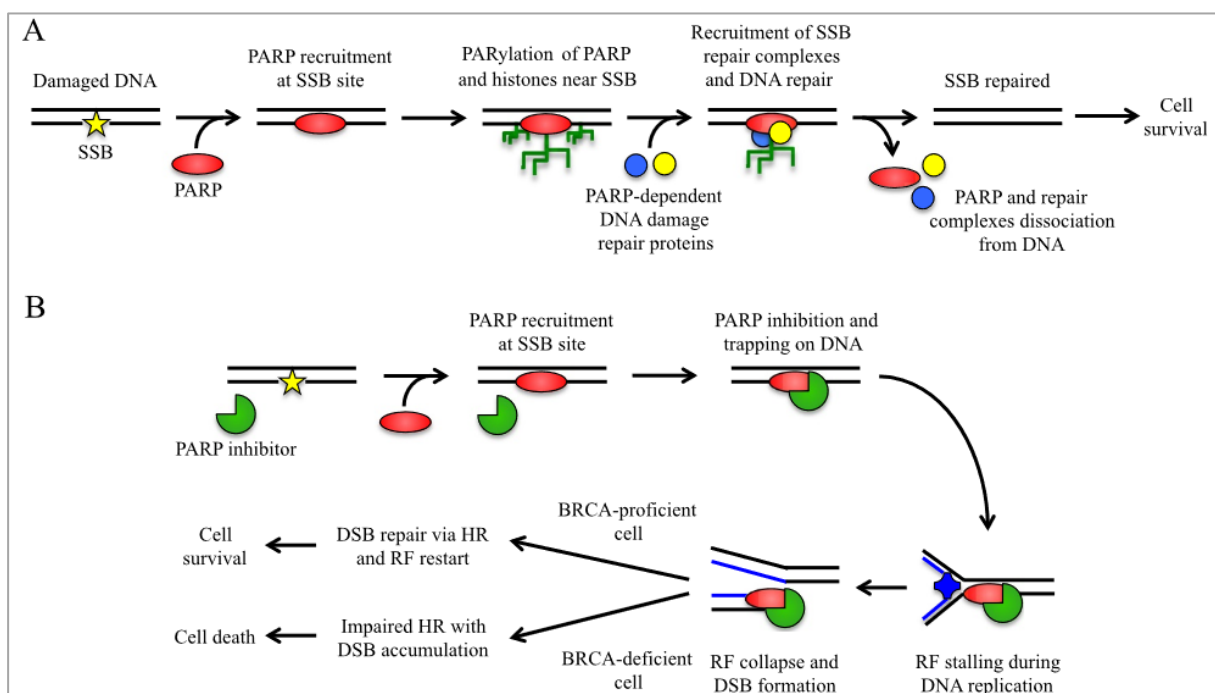


Figura 10 – Modelo representativo do papel da PARP na reparação do ADN e do mecanismo de ação dos *iPARP* – “Letalidade sintética” das células com mutação nos genes *BRCA*. Adaptado de Livraghi 2015 (39).

Para manter a integridade do ADN, as células deficientes em RE dependem de mecanismos de reparação secundários como por exemplo a reparação por excisão de bases, quebra de cadeia simples ou união de extremidades não homólogas. Quando estes mecanismos dependentes da PARP são disfuncionais, as células dependem da via de recombinação homóloga para restabelecer a integridade genómica. As proteínas dos genes *BRCA1* e *BRCA2* são elementos chave na via de recombinação homóloga e a deficiência de qualquer uma delas (LOH ou deleção de 1 das cópias) resulta na ativação disfuncional desta via.

Na Figura 10 quando uma quebra na cadeia simples é detetada (via A), existe uma ativação das *PARP* mediada pelo dano no ADN, ocorrendo a ADP-ribosilação das histonas e o recrutamento de enzimas remodeladoras da cromatina que criam uma cromatina descondensada propícia para reparação. Existe o recrutamento de proteínas de reparação do ADN dependentes da *PARP*, e

ao formar-se o complexo, dá-se a reparação do ADN com posterior dissociação desse complexo. O ADN pode então sofrer processos de replicação, determinando assim a sobrevivência celular.

Na via B, na presença de inibidores da *PARP*, estas não conseguem recrutar as proteínas que formam o complexo de reparação do ADN, nem conseguem dissociar-se da cadeia de ADN (devido a inibição da atividade catalítica ou por aprisionamento direto), ocorrendo o bloqueio do garfo de replicação. Eventualmente o garfo de replicação colapsa criando uma quebra da cadeia dupla. Esta quebra pode ser corrigida pela recombinação homóloga, mas nas células com o gene *BRCA* mutado, este mecanismo de reparação é deficiente. No seu lugar, são ativadas vias alternativas e propensas a erros, como a via de união de extremos não-homólogos, que origina maior instabilidade genómica. Após várias rondas de replicação, existe um acumular de cadeias duplas quebradas que são altamente inviáveis para a sobrevivência celular (39,40).

Como exemplos dos *iPARP* temos o Olaparib (Lynparza) e o Talzenna, indicados em monoterapia para o tratamento de doentes adultos com mutações *BRCA 1/2* (linha germinativa ou somática) que são *HER2* negativos, com um cancro da mama local ou em fase metastática. Pode ser indicado também em combinação com outras quimioterapias estabelecidas (40–42).

7.6. Participação em ensaios clínicos:

Outro método alternativo e também recorrente atualmente é a promover a participação dos pacientes em ensaios clínicos, caso estes se enquadrem nos critérios de pré-seleção. Existem tratamentos que se encontram ainda em desenvolvimento especificamente para mutações hereditárias do cancro da mama (32). Há uma grande variedade de ensaios, que podem testar novos fármacos, ou combinações de fármacos pré-existentes, que possam oferecer algum valor terapêutico acrescido (melhoria/benefício maior da terapêutica). O médico informa o paciente sobre os ensaios clínicos, explica os benefícios e os riscos que a terapêutica apresenta e caso exista acordo, procede-se à realização da documentação e a inserção do paciente nos ensaios clínicos.

8. Conclusão e Considerações Futuras

Nos últimos anos, a rápida evolução das tecnologias moleculares e de sequenciação permitiram a identificação de novos genes que induzem suscetibilidade para o cancro e a criação de diferentes perfis genéticos do cancro da mama. A análise destes perfis é crucial para a descoberta de novos alvos terapêuticos e para a subdivisão dos tumores em diferentes categorias de acordo com as suas características bioquímicas. Diferentes características permitem uma abordagem mais especializada e eficiente para cada um.

Sabe-se que a origem da maioria dos casos de cancro da mama hereditários deve-se a uma mutação nos genes de elevada penetrância assim como nos genes responsáveis pela reparação do ADN (9). Ainda que as VUS e os genes de baixa penetrância sejam pouco considerados, foi verificado em alguns doentes, que a presença de uma acumulação significativa destas mutações induzia a patologia. Deste modo, e como ainda pouco sabemos da relação causal entre as VUS e o aparecimento de cancro, estes detalhes não devem ser ignorados.

Com uma correta gestão e vigilância dos doentes, é possível prevenir e detetar cancros em estadios iniciais de desenvolvimento, quando há uma maior hipótese de sucesso no tratamento. O objetivo mais importante a longo prazo é diminuir progressivamente a mortalidade associada

ao cancro da mama hereditário (9). A construção de modelos de previsão de risco que incluem o histórico familiar, estilos de vida e as informações genéticas disponíveis permitem uma gestão preventiva mais adequada.

Por outro lado, os custos cada vez mais reduzidos dos testes genéticos e os avanços na bioinformática vão permitir construir métodos de diagnóstico cada vez mais eficazes e entender melhor a relação entre as variações genéticas e a doença. A progressiva implementação dos painéis genéticos na parte clínica terá um papel crucial sendo que, quantos mais genes forem abrangidos, maior será a sua utilidade clínica (14,26).

Ainda assim, nesta era de novas descobertas para a suscetibilidade genética, é preciso ter muito cuidado. O aconselhamento genético para estes genes pode ser muito complicado, pois é difícil reunir dados suficientes que suportem, por exemplo, uma mastectomia preventiva. O impacto dos testes falsos positivos ou falsos negativos é um sério risco a ser considerado, que podem trazer por vezes consequências profundas a nível físico e psicológico. Ainda existe muito trabalho pela frente em reunir dados mais concretos sobre o impacto de certos genes mutados na carcinogénese, assim como na melhoria progressiva dos testes genéticos, que precisam de indicar resultados mais precisos e fidedignos.

9. Bibliografia:

1. Organization WH. Cancer Details [Internet]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. Global Cancer Observatory. Cancer Today [Internet]. 2018. Available from: <https://gco.iarc.fr/>
3. Mcgee RB, Nichols KE. Introduction to cancer genetic susceptibility syndromes. *Am Soc Hematol Educ Progr.* 2016;2016(1):293–301.
4. Narayanan KB, Ali M, Barclay BJ, Cheng QS, Abronzo LD, Dornetshuber-fleiss R, et al. Disruptive environmental chemicals and cellular mechanisms that confer resistance to cell death. 2015;36:89–110.
5. Cummings MR. *Human Heredity - Principles and Issues.* 9th ed. Brooks/Cole CL, editor. Belmont; 2010.
6. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Genetics in Medicine.* 7th ed. Elsevier S, editor. Philadelphia; 2007.
7. Zhang BN, Venegas AB, Hickson ID, Chu WK. DNA replication stress and its impact on chromosome segregation and tumorigenesis. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2018;55:61–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.04.005>
8. Godone RLN, Leitão GM, Araújo NB, Castelletti CHM, Lima-Filho JL, Martins DBG. Clinical and molecular aspects of breast cancer: Targets and therapies. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2018;106:14–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.066>
9. Alshammari FD. Breast cancer genetic susceptibility: With focus in Saudi Arabia. *J Oncol Sci* [Internet]. 2019;1–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jons.2019.02.001>

10. Dai X, Li T, Bai Z, Yang Y, Liu X, Zhan J, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification , clinical use and future trends. *Am J Cancer Res.* 2015;5(10):2929–43.
11. Pinto AC, André S, Ferreira AR, Sousa B, Pulido C, Loewenthal CS, et al. 100 Perguntas Chave no Cancro da Mama. Permanyer, editor. Lisboa; 2015.
12. Prat A, Pineda E, Adamo B, Galv P, Gaba L, Díez M, et al. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast.* 2015;24(Supplement 2):S26-35.
13. Roche. Cancro da Mama HER2+: O que é o HER2? [Internet]. Available from: https://www.roche.pt/sites-tematicos/her2/index.cfm/her2_e_o_cancro/o-que-e-o-her2
14. Apostolou P, Fostira F. Hereditary Breast Cancer : The Era of New Susceptibility Genes. *Biomed Res Int.* 2013;2013.
15. Gómez-flores-ramos L, Álvarez-gómez RM, Villarreal-garza C, Wegman-ostrosky T, Mohar A. Breast cancer genetics in young women : What do we know ? ELSEVIER [Internet]. 2017;33–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2017.08.001>
16. Lord CJ, Ashworth A. Targeted therapy for cancer using PARP inhibitors. *Curr Opin Pharmacol.* 2008;8(4):363–9.
17. Economopoulou P, Dimitriadis G, Psyrris A. Beyond BRCA : New hereditary breast cancer susceptibility genes. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2015;41(1):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2014.10.008>
18. Rutgers E, Balmana J, Beishon M, Benn K, Evans DG, Mansel R, et al. European Breast Cancer Council manifesto 2018: Genetic risk prediction testing in breast cancer. *Eur J Cancer* [Internet]. 2019;106:45–53. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.09.019>
19. Mayo Clinic. Genetic Tests Procedures [Internet]. Available from: <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/genetic-testing/about/pac-20384827>
20. Cobain EF, Milliron KJ, Merajver D. Updates on breast cancer genetics: Clinical implications of detecting syndromes of inherited increased susceptibility to breast cancer. *Semin Oncol.* 2016;43(5):528–35.
21. Fountzilias C, Kaklamani VG. Multi-gene Panel Testing in Breast Cancer Management. *Cancer Treat Res.* 2018;173:121–40.
22. Manahan ER, Kuerer HM, Sebastian M, Hughes KS, Boughey JC, Euhus DM, et al. Consensus Guideline on Genetic Testing for Hereditary Breast Cancer from the American Society of Breast Surgeons. *Ann Surg Oncol.* 2019;26(10):3025–31.
23. GENETYCA ICM. Teste FEEL [Internet]. Available from: <https://genetyca-icm.com/feel/feel-utente/>
24. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing ? *Arch Dis Child Educ Pract Ed.* 2013;98(6):236–8.
25. Foulkes WD, Real FX. Many mosaic mutations. *Curr Oncol.* 2013;20(2):85–7.
26. Lerner-ellis J, Khalouei S, Sopik V, Narod SA, Khalouei S, Sopik V, et al. Genetic risk assessment and prevention : the role of genetic testing panels in breast cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2015;15(11):1315–26.
27. Desmond A, Kurian AW, Gabree M, Mills MA, Anderson MJ, Kobayashi Y, et al. Clinical Actionability of Multigene Panel Testing for Hereditary Breast and Ovarian Cancer Risk Assessment. *JAMA Oncol.* 2015;02114(7):943–51.

28. Samadder NJ, Giridhar K V, Baffy N, Riegert-johnson D, Couch FJ. Hereditary Cancer Syndromes-A Primer on Diagnosis and Management. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2019;94(6):1099–116. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.02.017>
29. Paluch-Shimon S, Cardoso F, Sessa C, Balmana J, Cardoso MJ, Gilbert F, et al. Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention and screening. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2016;27(Supplement 5):v103–10.
30. Roukos DH, Briasoulis E. Individualized preventive and therapeutic management of hereditary breast ovarian cancer syndrome. 2007;4(10):578–90.
31. Forbes C, Fayter D, Kock S De, Quek RG. A systematic review of international guidelines and recommendations for the genetic screening, diagnosis, genetic counseling, and treatment of BRCA-mutated breast cancer. *Cancer Manag Res*. 2019;11:2321–37.
32. FORCE - Facing our Risk of Cancer Empowered. Treatment decisions for people with hereditary breast cancer [Internet]. Available from: <https://www.facingourrisk.org/understanding-brca-and-hboc/information/cancertreatment/breast-treatment/>
33. INFARMED. Resumo das Características do Medicamento - Tamoxifeno. 2011;
34. Shou J, Massarweh S, Osborne CK, Wakeling AE, Ali S, Weiss H, et al. Mechanisms of Tamoxifen Resistance: Increased Estrogen Receptor-HER2/neu Cross-Talk in ER/HER2-Positive Breast Cancer. 2004;96(12):926–35.
35. Brueggemeier RW, Hackett JC, Diaz-cruz ES. Aromatase Inhibitors in the Treatment of Breast Cancer. 2005;26(3):331–45.
36. Godet I, Gilkes DM. BRCA1 and BRCA2 mutations and treatment strategies for breast cancer. *Integr Cancer Sci Ther*. 2017;4(1):1–17.
37. Monteiro AC. Inibidores dos Microtúbulos [Internet]. 2014. Available from: [https://repositorio.hff.min-saude.pt/bitstream/10400.10/1564/1/Inibidores dos microtúbulos.pdf](https://repositorio.hff.min-saude.pt/bitstream/10400.10/1564/1/Inibidores%20dos%20microt%C3%BAbulos.pdf)
38. Medscape. pCR Arrives as a Standard Measure in Breast Cancer. 2013.
39. Livraghi L, Garber JE. PARP inhibitors in the management of breast cancer: current data and future prospects. 2015;13:1–16.
40. EMA. Resumo das Características do Medicamento - Lynparza (Olaparib).
41. PharmGKB. Olaparib [Internet]. Available from: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA164920420/labelAnnotation/PA166183243>
42. EMA. Resumo das Características do Medicamento - Talzena (Talazoparib).