

## Diagnóstico molecular das síndromes de cancro hereditário da mama-ovário e colorretal: a experiência do Departamento de Genética Humana do INSA (1994-2025)

*Molecular genetic diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer and colorectal cancer syndromes: experience from the Department of Human Genetics of INSA (1994-2025)*

Patrícia Theisen<sup>1</sup>, Pedro Rodrigues<sup>1</sup>, Glória Isidro<sup>2</sup>, João Gonçalves<sup>1</sup>

joao.goncalves@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Genética Molecular. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

### \_Resumo

O cancro é uma das principais causas de morte a nível mundial, sendo responsável por quase 10 milhões de mortes. Os dados mais recentes da Organização Mundial de Saúde indicam que o cancro da mama é o 2º tipo mais frequente de cancro e a 4ª causa de mortalidade, enquanto o cancro colorretal é o 3º tipo mais comum e a 2ª causa de mortalidade.

Considerando que os casos de cancro são na sua grande maioria de origem esporádica, cerca de 5 a 10% correspondem a síndromes de cancro hereditário, as quais estão associadas a variantes germinativas patogénicas, em diferentes genes, que conferem predisposição para cancro. A identificação de uma variante germinativa causal num indivíduo com cancro pode ter importantes consequências, desde o seu tratamento, à implementação de protocolos personalizados de vigilância e prevenção da doença oncológica, bem como à disponibilização do teste genético preditivo aos respetivos familiares em risco.

Por ocasião do 50º aniversário do Departamento de Genética Humana (DGH) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, sintetiza-se a atividade de diagnóstico genético molecular desenvolvida neste departamento de 1994 a junho de 2025, no contexto das síndromes hereditárias de cancro da mama-ovário e de cancro colorretal, compreendendo a análise de mais de 1800 indivíduos.

Constatou-se, desde 1994, um aumento do número de testes genéticos para síndromes de cancro hereditário realizados no DGH, demonstrando a importância que estes têm para os doentes e seus familiares. A implementação da sequenciação de nova geração, em 2015, permitiu aumentar o número de genes de predisposição para cancro analisados, com a concomitante melhoria dos tempos de resposta e da taxa de diagnóstico. Face à estimativa de aumento da incidência de cancro nas próximas décadas, especialmente de cancro da mama e colorretal, é fundamental continuar a oferta deste diagnóstico, em consonância com a evolução do conhecimento e com a atualização tecnológica.

### \_Abstract

Cancer is one of the leading causes of death worldwide, accounting for nearly 10 million deaths. The most recent data from the World Health Organization indicate that breast cancer is the 2nd most frequent type of cancer and the 4th leading cause of mortality, while colorectal cancer is the 3rd most common type and the 2nd leading cause of mortality.

Although most cancer cases are sporadic in origin, about 5 to 10% correspond to hereditary cancer syndromes, which are associated with

pathogenic germline variants in different genes that confer cancer predisposition. The identification of a causal germline variant in an individual with cancer can have important consequences, ranging from treatment to the implementation of personalized surveillance and prevention protocols, as well as the availability of predictive genetic testing for at-risk family members.

On the occasion of the 50th anniversary of the Department of Human Genetics (DGH) of the National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge, we summarize the molecular genetic diagnostic activity carried out in this department from 1994 to June 2025, in the context of hereditary breast-ovarian cancer and colorectal cancer syndromes, covering the analysis of more than 1,800 individuals.

Since 1994, there has been an increase in the number of genetic tests for hereditary cancer syndromes performed in this department, demonstrating their importance for patients and their relatives. The implementation of next-generation sequencing in 2015 made it possible to expand the number of cancer predisposition genes analyzed, while also improving turnaround times and diagnostic yield. Given the expected increase in cancer incidence in the coming decades, especially breast and colorectal cancer, it is essential to continue providing this type of diagnosis, in line with advances in knowledge and technological progress.

### \_Introdução

Os testes de diagnóstico molecular para as síndromes hereditárias de cancro da mama-ovário (HBOC – *Hereditary Breast and Ovarian Cancer*) e de cancro colorretal (HCRC – *Hereditary Colorectal Cancer*) foram implementados no Departamento de Genética Humana (DGH) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge a partir de 1994, constituindo um marco relevante em saúde pública, quer no apoio aos doentes quer aos seus familiares. Para além da sua importância na identificação da alteração genética associada à doença em indivíduos afetados – podendo contribuir para a definição de uma estratégia terapêutica personalizada e para

implementação de medidas de vigilância e prevenção de novos tumores - estes testes possibilitam, igualmente, a identificação de familiares com risco acrescido de desenvolvimento de neoplasias. Os testes de diagnóstico genético de síndromes de cancro hereditário assumem, deste modo, um papel central enquanto instrumentos de medicina preventiva, sustentando a gestão do risco em famílias afetadas, num contexto de elevada prevalência destas doenças com impacto significativo na saúde pública e na sociedade.

O cancro é uma das principais causas de morte a nível mundial, tendo sido responsável por quase 10 milhões de mortes em 2022. Considerando os dados mais recentes disponibilizados pela Organização Mundial de Saúde (2022), relativamente à incidência de novos casos de cancro, o cancro da mama destacou-se como o segundo mais frequente (2 296 840; 11,5%), seguindo-se o cancro colorretal com 1 926 425 (9,6%) casos. Foram ainda registados 324 603 novos casos (1,6%) de cancro do ovário, sendo o 18º tipo de cancro mais frequente. Relativamente à mortalidade, o cancro colorretal foi a segunda causa mais frequente (9,3%), o da mama a 4ª (6,8%) e o do ovário a 14ª causa (2,1%) (1).

Embora a maioria dos tumores ocorra de forma esporádica, estima-se que cerca de 5 a 10% estejam associados a síndromes de cancro hereditário resultantes de variantes germinativas patogénicas que conferem um risco acrescido para o desenvolvimento de um ou mais tumores. Estes surgem, frequentemente, numa idade precoce quando comparados com os casos de cancro esporádico (2).

Estima-se que o HBOC corresponda a cerca de 5-10% da totalidade dos casos de cancro da mama, de 15% dos casos de cancro do ovário e, ainda, a cerca de 3% dos casos de cancro da próstata e pâncreas. Estes casos resultam de alterações germinativas patogénicas num gene de predisposição para cancro, entre mais de duas dezenas de genes que têm vindo a ser identificados ao longo dos anos. Destacam-se os genes *BRCA1* e *BRCA2*, descritos pela primeira vez, respetivamente, em 1994 e em 1995 (3,4). Trata-se de genes supressores tumorais envolvidos na

reparação de danos no DNA por recombinação homóloga, sendo responsáveis por cerca de metade dos casos de HBOC. Na população portuguesa, foi identificada uma variante patogénica fundadora no gene *BRCA2* (c.156\_157insAlu), que deverá ser sempre pesquisada nos casos suspeitos de HBOC (5). Para além de *BRCA1/2*, outros genes de risco elevado para HBOC incluem *PALB2*, *TP53*, *STK11*, *CDH1* e *PTEN*, enquanto que genes como *ATM*, *CHEK2*, *BRIP1*, *BARD1*, *RAD51C* e *RAD51D* estão associados a risco moderado/reduzido (6).

No contexto do cancro colorretal, 5 a 6% dos casos têm origem hereditária, destacando-se a síndrome de Lynch (LS – *Lynch Syndrome*) e a Polipose Adenomatosa Familiar (FAP – *Familial Adenomatous Polyposis*), correspondendo, respetivamente, a cerca de 3% e 1% da totalidade dos casos de cancro colorretal (7). A LS, designada inicialmente como cancro colorretal hereditário sem polipose, está associada a alterações nos genes de reparação de erros de emparelhamento/*mismatch repair* (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) ou a grandes deleções na região terminal do gene *EPCAM* que afetam a expressão de *MSH2* (8). A instabilidade de microssatélites (MSI – *Microsatellite Instability*), uma das características moleculares do cancro colorretal associadas a LS, é relevante para a orientação dos estudos moleculares nos referidos genes, para a compreensão da origem do tumor e para o eventual tratamento dos doentes. A FAP, causada por alterações no gene *APC*, apresenta penetrância elevada e caracteriza-se pelo desenvolvimento de dezenas a milhares de pólipos adenomatosos no cólon e reto. A polipose associada ao gene *MUTYH* (MAP – *MUTYH Associated Polyposis*) é a segunda síndrome de polipose mais frequente, seguindo-se outras mais raras como a síndrome de polipose juvenil (genes *SMAD4* e *BMPR1A*), a síndrome de Peutz-Jeghers (gene *STK11*) e as síndromes de hamartomas associadas ao gene *PTEN* (7).

Atendendo ao modo de herança, as síndromes de cancro hereditário referidas apresentam um padrão autossómico dominante, com risco de 50% de transmissão da alteração à descendência, com exceção da MAP, que apresenta um padrão autossómico recessivo (7).

A implementação da sequenciação de nova geração (NGS – *Next Generation Sequencing*) no DGH, constituiu um marco no diagnóstico molecular das síndromes em causa, caracterizadas por elevada heterogeneidade genética, ao permitir a análise simultânea de múltiplos genes em painéis dirigidos à predisposição para diferentes tipos de cancro, proporcionando maior celeridade e custos substancialmente inferiores aos da abordagem convencional.

O diagnóstico genético destas síndromes hereditárias constitui uma ferramenta essencial para a prevenção do cancro. Conhecendo-se a variante germinativa patogénica associada à predisposição para cancro, tal pode ter profundas implicações para o doente e seus familiares. Neste contexto, o doente poderá beneficiar de medicina personalizada e da implementação de protocolos clínicos de vigilância/prevenção adequados à sua situação. Os familiares em risco de herdarem a variante patogénica poderão, após aconselhamento genético, realizar o teste genético preditivo, permitindo atuar na prevenção da patologia em causa.

### **\_Objetivo**

Pretende-se, com este trabalho, apresentar de forma sucinta, os resultados globais obtidos, de 1994 a 2025, no âmbito do diagnóstico genético molecular das síndromes de cancro hereditário, nomeadamente cancro da mama/ovário e cancro colorretal.

### **\_Material e métodos**

Foram estudados 1825 indivíduos com história pessoal e/ou familiar sugestiva/confirmada de HCRC ou de HBOC. Esses casos compreenderam 1200 casos de HCRC (de 1994 a junho de 2025) e 625 casos no contexto de HBOC (de 2002 a junho de 2025), maioritariamente referenciados por médicos das especialidades de Oncologia ou de Genética Médica.

Após obtenção do consentimento informado, foi extraído DNA genómico de amostras de sangue periférico ou de amostras (tumor e tecido normal) fixadas em formol e embebidas em parafina (FFPE). O DNA extraído das amostras FFPE foi usado exclusivamente para pesquisa de MSI (144 amostras). Entre

os casos de HCRC, 1091 foram submetidos a sequenciação de um ou mais genes, incluindo 35 amostras para as quais foi realizada adicionalmente a pesquisa de MSI. Em 109 casos, foi somente pesquisada a MSI.

Até 2014, os genes *BRCA1* e *BRCA2* (HBOC), e os genes *APC*, *MUTYH*, *MLH1*, *MSH2* e *STK11* (HCRC), foram analisados recorrendo à abordagem convencional – PCR seguida de sequenciação de Sanger. A pesquisa de MSI foi realizada por PCR para os *loci* D2S123, BAT25, BAT26, D5S346 e D17S250 (painel de Bethesda) seguida de eletroforese em gel de poliacrilamida.

A partir de 2015, o diagnóstico molecular destas síndromes passou a ser realizado por NGS com um painel de genes de predisposição para cancro (*TruSight Cancer Panel* - 94 genes, substituído em 2022 pelo *TruSight Hereditary Cancer Panel* - 113 genes, Illumina), a partir do qual foram definidos diversos sub-painéis para HBOC e HCRC contemplando, os mais alargados, respetivamente, 25 e 27 genes (**tabela 1**). A análise bioinformática de variantes, sua anotação e classificação, incluindo a previsão *in silico* de consequências funcionais, foi realizada com recurso a diferentes *softwares*, destacando-se os programas da Illumina (p. ex. *BWA Enrichment*, *DRAGEN Enrichment* e *Variant Interpreter*), *Exomiser* e *Franklin by Genoox*. entre outros. Realizou-se também a consulta a bases de dados populacionais (p. ex. gnomAD) ou clínicas (ClinVar, HGMD Professional, LOVD, BRCA Exchange, entre outras). As variantes foram classificadas como patogénicas (VP), provavelmente patogénicas (VPP), de significado clínico incerto (VUS – *Variant of Unknown Significance*), provavelmente benignas ou benignas, de acordo com os critérios da ACMG-AMP (*American College of Medical Genetics and Genomics-Association for Molecular Pathology*) (9,10) e com as recomendações gerais e específicas de genes da CanVIG-UK da ACGS (*Association for Clinical Genomic Science*) (11) e da ClinGen (12).

A pesquisa de alterações do número de cópias (CNV – *Copy Number Variant*) foi implementada no DGH em 2012, recorrendo ao MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, MRC-Holland*), para os genes *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1* e *MSH2*, e foi alargada a outros genes de predisposição para cancro, em função das solicitações. A pesquisa da variante patogénica *BRCA2*: c.156\_157ins*Alu* (mutação fundadora na população portuguesa), realizou-se por PCR específica de alelo ou por MLPA.

A análise *in silico* de CNV foi implementada no DGH em 2019, usando a *pipeline panelcn.MOPS* (13,14) e, desde 2022, também o *software DRAGEN Enrichment*.

Todas as variantes patogénicas/ provavelmente patogénicas (VP/VPP) identificadas por NGS foram confirmadas por sequenciação de Sanger (variantes pontuais) ou por MLPA (CNV). A pesquisa de variantes familiares causais em indivíduos saudáveis (testes genéticos preditivos) realizou-se por sequenciação de Sanger ou MLPA, em função da natureza das mesmas.

Tabela 1: Painéis de genes de predisposição para cancro da mama-ovário hereditário (HBOC) e cancro colorretal hereditário (HCRC).

Painel	Genes
HBOC <sup>1</sup>	<i>ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDKN2A, CHEK2, EPCAM*, ERCC4, MLH1, MRE11A, MSH2, MSH6, NBN, NF1, PALB2, PMS2, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, RINT1, STK11, TP53</i>
HCRC	<i>AKT1, APC, ATM, BLM, BMPR1A, CDKN2A, CHEK2, EPCAM*, GREM1, MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, MUTYH, NTHL1, PIK3CA, PMS2, POLD1, POLE, PTEN, RINT1, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD4, STK11, TP53</i>

<sup>1</sup> - Inclui a pesquisa da inserção *Alu* em *BRCA2* e MLPA para *BRCA1* e *BRCA2*; \* - inclui a pesquisa *in silico* de grandes deleções na região 3' deste gene.

## \_Resultados

As amostras biológicas recebidas para diagnóstico molecular de síndromes hereditárias de cancro até junho de 2025, corresponderam a um total de 1825 indivíduos analisados, 625 para HBOC e 1200 para HCRC (gráfico 1).

A maioria dos testes genéticos realizados para HBOC consistiu em testes de diagnóstico em indivíduos afetados (550/625), maioritariamente, com cancro de mama (74,6%), ovário (4,8%), próstata (3,2%) e pâncreas (2,1%). Os restantes testes (n=75) corresponderam a testes preditivos em indivíduos saudáveis que apresentavam história familiar comprovada (n=41, pesquisa da variante familiar) ou sugestiva de HBOC (n=34, painel de genes por NGS).

Nos indivíduos afetados, foram identificadas VP/VPP em 11,3% dos casos, distribuídas por vários genes (gráfico 2), e VUS em 17,1%. No contexto dos testes genéticos preditivos, dos 41 familiares saudáveis analisados, 24 eram portadores da variante pesquisada. Adicionalmente, não foi identificada

nenhuma variante causal nos 34 indivíduos com teste preditivo prescrito apenas com base na história familiar sugestiva de HBOC.

Das 64 VP/VPP identificadas nos 62 indivíduos afetados (gráfico 2), mais de metade (53,2%) ocorreram em *BRCA1/2* (36,0% em *BRCA2* e 17,2% em *BRCA1*). A variante *BRCA2*: c.156\_157ins*Alu*, com efeito fundador na população portuguesa, foi detetada em 3 indivíduos afetados, correspondendo a 13,0% das VP/VPP identificadas em *BRCA2*. Adicionalmente, foram identificadas variantes causais noutros genes de reparação do DNA por recombinação homóloga como *ATM* (14,1%), *CHEK2* (7,8%), *PALB2* e *BRIP1* (ambos com 6,2%) e *RAD51C* (4,7%) (gráfico 2). Salientam-se dois indivíduos com história pessoal e familiar de cancro da mama e/ou ovário, ambos duplos heterozigóticos para variantes patogénicas em *BRCA1/2* e *ATM*.

artigos breves\_ n. 13

No contexto do HCRC, foram analisados por sequenciação de Sanger/NGS, 1091 indivíduos, dos quais 621 afetados (teste diagnóstico) e 470 familiares saudáveis (teste preditivo). Dos 621 indivíduos, 359 tinham suspeita de síndromes de polipose, 232 de LS e os restantes 30 indivíduos com suspeita de HCRC indefinido (informação clínica não disponibilizada).

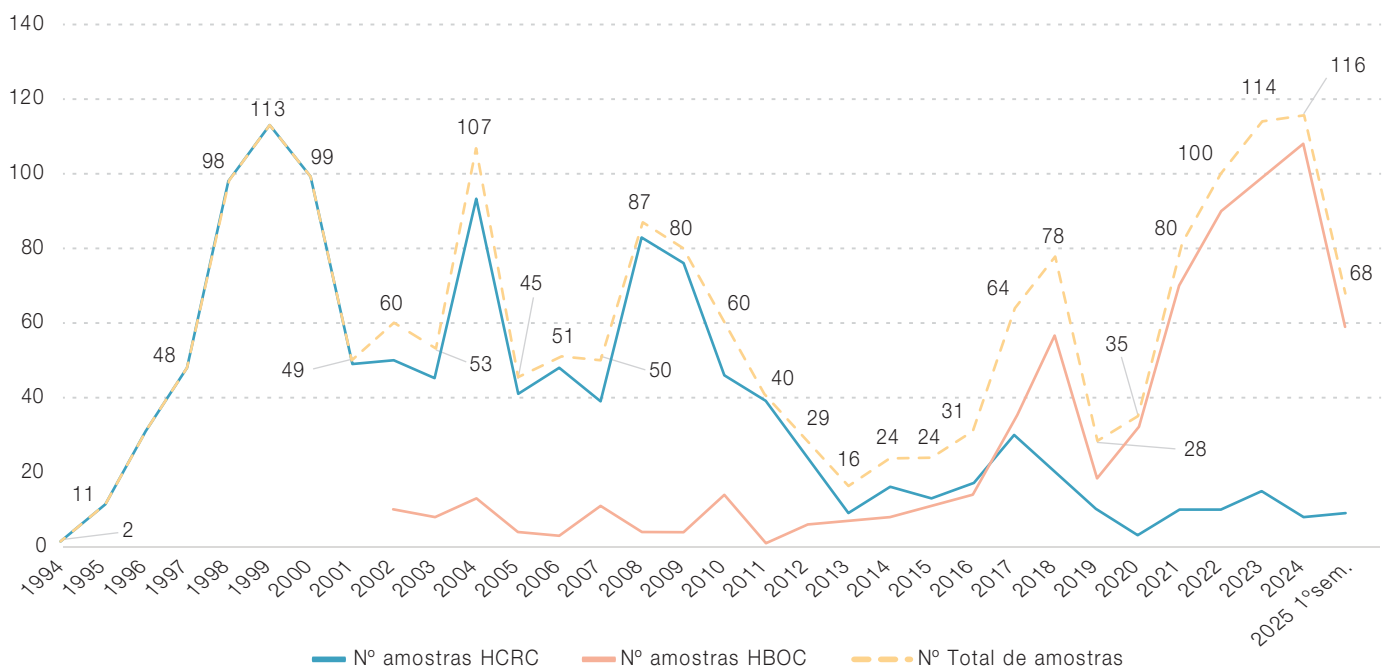
Foram identificados 202 indivíduos afetados com uma ou mais variantes das classes VP/VPP/VUS, designadamente 175 indivíduos com uma variante, 25 com duas variantes e dois com três variantes. Entre as 230 variantes, a maioria (219) foi classificada como VP/VPP (gráfico 3), tendo sido identificadas, maioritariamente, nos genes *APC* (37,6%) e *MUTYH* (34,4%), seguidos de *MSH2* (12,8%) e *MLH1* (10,6%). As VP/VPP no gene *MUTYH* foram detetadas em homocigotia (n=23), heterocigotia composta (n=21) ou heterocigotia (n=10), destacando-se as variantes p.Y179C e p.G396D como as mais frequentes. Foram ainda detetadas, nos indivíduos afetados, 11 VUS (*APC* n=1; *MLH1* n=3; *MSH2* n=4; *MUTYH* n=2 e *NTHL1* n=1). Foram identi-

ficadas VP/VPP em 23,7% dos indivíduos com suspeita de LS (55/232), em 37,0% dos doentes com polipose (133/359), e em 16,7% (5/30) dos casos com suspeita de HCRC indefinido.

Considerando os 470 casos familiares de HCRC, as variantes pesquisadas foram identificadas em 109 de 260 casos associados a poliposes e em 73 de 208 casos de LS (nos dois casos familiares com HCRC indefinido, a variante familiar não foi identificada).

Relativamente aos indivíduos para os quais foi realizada a pesquisa de MSI, foram identificadas 27 amostras com instabilidade elevada (MSI-H, instabilidade em dois ou mais *loci*), 7 com instabilidade baixa (MSI-L, instabilidade em apenas um *locus*) e 110 sem instabilidade. Entre as 35 amostras para as quais foram sequenciados os genes *MSH2* e/ou *MLH1*, detetaram-se VP/VPP em 10 casos (9 casos com MSI-H e 1 com MSI-L) e uma VUS, em *MSH2*, num caso com MSI-H.

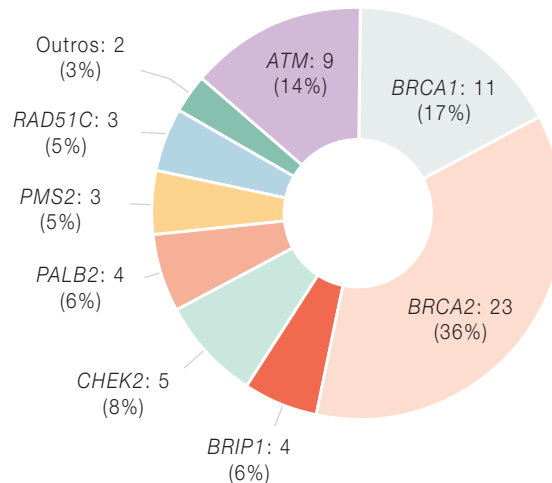
Gráfico 1: Distribuição das amostras analisadas no DGH em contexto de síndromes de cancro hereditário no período de 1994 a junho de 2025.



HBOC - cancro da mama-ovário hereditário, HCRC - cancro colorretal hereditário.

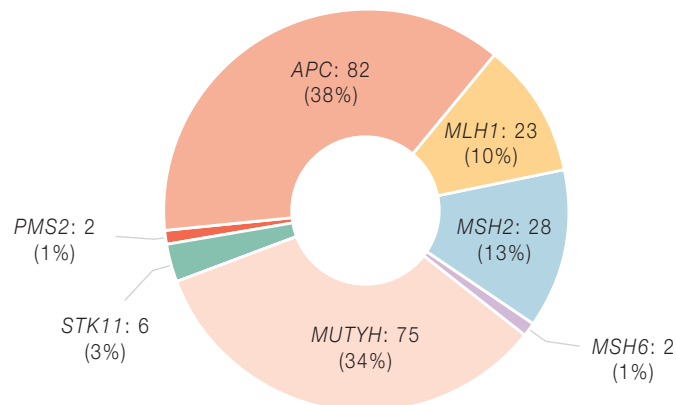
**Gráfico 2:** Distribuição por gene das variantes germinativas classificadas como patogénicas/ provavelmente patogénicas identificadas nos indivíduos afetados com cancro da mama-ovário hereditário.

Total de 64 indivíduos, incluindo 2 duplos heterozigóticos (*BRCA1/BRCA2* e *ATM*).



**Gráfico 3:** Distribuição por gene das variantes germinativas classificadas como patogénicas/ provavelmente patogénicas identificadas nos indivíduos afetados com cancro colorretal hereditário.

Total de 193 indivíduos, incluindo 23 homozigóticos, 21 heterozigóticos compostos e 10 heterozigóticos para variantes em *MUTYH*.



## \_Discussão

A implementação, em 2015, de painéis de sequenciação de genes de predisposição para cancro por NGS veio possibilitar um diagnóstico molecular mais abrangente, rápido e económico, relativamente às metodologias convencionais anteriormente utilizadas no DGH (15).

Considerando os casos de HBOC, a análise molecular permitiu confirmar o diagnóstico clínico presuntivo, com identificação de VP/VPP em 11,3% dos indivíduos afetados, em concordância com a proporção esperada de cerca de 10% de tumores

hereditários. Cerca de metade dos indivíduos afetados (54,8%) apresentaram variantes patogénicas em *BRCA1/2*, confirmando estes dois genes como os principais genes de predisposição para HBOC (gráfico 2). A identificação das variantes patogénicas nos restantes indivíduos afetados só foi possível com a implementação de painéis de NGS, uma vez que estas ocorreram noutros genes de predisposição para HBOC cuja análise por metodologia convencional não era então realizada. O teste genético preditivo, realizado em 41 familiares saudáveis, permitiu identificar 24 portadores da variante familiar pesquisada.

Este resultado possibilitou, por um lado, disponibilizar aos referidos portadores protocolos personalizados de vigilância e prevenção de tumores, visando reduzir a morbilidade e a mortalidade associadas ao cancro e, por outro, dispensar os não portadores de uma vigilância mais frequente por possuírem um risco de desenvolvimento de tumores equivalente ao da população em geral.

Apesar de os painéis de NGS terem aumentado consideravelmente a taxa de diagnóstico molecular, não foi possível identificar nenhuma VP/VPP em 88,7% dos indivíduos afetados no contexto de HBOC. Vários fatores podem explicar este resultado, incluindo as limitações conhecidas da metodologia de NGS, variantes em genes não analisados ou, mais provavelmente, o facto de muitos destes indivíduos possuírem tumores esporádicos e não hereditários. Em 19,3% destes indivíduos, foram identificadas VUS em genes de predisposição para HBOC as quais, por não poderem ser associadas à patologia em causa, não são clinicamente acionáveis, embora possam ser alvo de investigação adicional. As VUS devem, no entanto, ser devidamente avaliadas em consulta de Genética Médica face à história pessoal e familiar dos indivíduos em questão, independentemente da síndrome de cancro hereditário.

No contexto de HBOC, o aumento do número de VUS identificadas, reflexo do maior número de genes analisados, foi um dos maiores desafios que resultaram da introdução da NGS, cabendo aos laboratórios de diagnóstico genético a tarefa de reclassificação periódica dessas variantes, mediante novas evidências de estudos funcionais, dados da literatura e/ou critérios de classificação.

Relativamente aos casos de HCRC, a identificação de VP/VPP em cerca de 31,1% dos indivíduos afetados (193 em 621), permitiu confirmar o diagnóstico clínico presuntivo. Esta taxa, superior à obtida para os casos de HBOC, poderá ser explicada, em parte, pela existência de características fenotípicas específicas de algumas síndromes de HCRC, particularmente nos casos de poliposes, ou pela realização de testes genéticos de rastreio em casos suspeitos de SL, como a pesquisa de MSI. O número de VUS identificadas (n=11) foi bastante inferior comparativamente às detetadas nos casos de HBOC, o que

poderá dever-se ao número reduzido de casos analisados por NGS (apenas cerca de 10% da totalidade dos casos suspeitos de HCRC foram analisados por esta metodologia).

Considerando os genótipos mais raros, em que foram identificadas duplas heterozigotias, nomeadamente de VP nos genes *BRCA1/2* e *ATM* (HBOC), estes evidenciam a importância da utilização de painéis de genes no diagnóstico molecular em causa. A realização da análise molecular convencional, compreendendo apenas os genes *BRCA1/2*, não teria permitido a identificação das variantes patogénicas no gene *ATM*, privando as duas famílias em causa do adequado aconselhamento genético (16). Com a utilização da NGS prevê-se, assim, um aumento na deteção do número de indivíduos duplos heterozigóticos com síndromes de cancro hereditário (17).

Por fim, constata-se que o número de amostras, recebidas no DGH, relativas a casos de cancro de mama, tem vindo a aumentar significativamente nos últimos anos. Este aumento poderá, em parte, dever-se à elegibilidade de doentes portadores de VP/VPP germinativas em *BRCA1/BRCA2*, para a terapêutica personalizada com inibidores da poli-ADP-ribose polimerase (PARP) (2).

## Conclusões

O aumento do número de testes realizados no DGH desde 1994 reflete, por um lado, a evolução das metodologias aplicadas ao diagnóstico molecular das síndromes de cancro hereditário, e por outro, a importância que os mesmos têm para os doentes e seus familiares.

A implementação da NGS permitiu aumentar o número de genes de predisposição para cancro analisados, com o concomitante aumento das taxas de diagnóstico, redução dos tempos de resposta dos testes genéticos e dos respetivos custos. Paralelamente, a NGS colocou como maior desafio, o aumento do número de alterações classificadas como VUS, o qual é proporcional ao número de genes analisados.

A reclassificação das VUS, mediante novas evidências resultantes de estudos funcionais, populacionais ou de segregação em famílias afetadas com síndromes de cancro hereditário,

pode ter um impacto clínico e psicológico significativo para os indivíduos em questão. A reclassificação de uma VUS como variante causal (VP/VPP) converte-a numa variante acionável, com a consequente implementação de medidas de vigilância/prevenção de tumores no indivíduo afetado e a possibilidade de oferecer o teste genético preditivo aos familiares em risco. Por outro lado, se uma VUS for reclassificada como variante benigna ou provavelmente benigna (como sucede na maioria dos casos), os indivíduos portadores deixam de apresentar risco de desenvolver cancro associado à variante reclassificada (18,19).

Neste contexto, compreende-se o vasto impacto que o diagnóstico molecular em causa tem na saúde pública, pelo que face à estimativa de aumento da incidência de cancro nas próximas décadas, especialmente de cancro da mama e colorretal, é fundamental a constante formação de recursos humanos especializados, acompanhada da devida atualização tecnológica.

#### Agradecimentos:

Os autores agradecem a todos os colegas do DGH do INSA que ao longo dos anos, de forma direta ou indireta, contribuíram para estes resultados. Agradecimento extensivo a todos os médicos, doentes e familiares que igualmente contribuíram para os resultados apresentados. Enaltece-se a Doutora Maria Guida Boavida que iniciou, sempre com elevado interesse científico, dedicação, motivação e visão estratégica, estes estudos no DGH.

#### Referências bibliográficas:

- (1) International Agency for Research on Cancer [Internet]. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie>
- (2) Garutti M, Foffano L, Mazzeo R, et al. Hereditary Cancer Syndromes: A Comprehensive Review with a Visual Tool. *Genes (Basel)*. 2023 Apr 30;14(5):1025. <https://doi.org/10.3390/genes14051025>
- (3) Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*. 1994 Oct 7;266(5182):66-71. <https://doi.org/10.1126/science.7545954>
- (4) Wooster R, Bignell G, Lancaster J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*. 1995 Dec 21-28;378(6559):789-92. <https://doi.org/10.1038/378789a0>
- (5) Peixoto A, Santos C, Rocha P, et al. The c.156\_157insAlu BRCA2 rearrangement accounts for more than one-fourth of deleterious BRCA mutations in northern/central Portugal. *Breast Cancer Res Treat*. 2009 Mar;114(1):31-8. <https://doi.org/10.1007/s10549-008-9978-4>
- (6) Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int*. 2013;2013:747318. <https://doi.org/10.1155/2013/747318>
- (7) Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, et al. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138(6):2044-58. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.01.054>
- (8) Abildgaard AB, Nielsen SV, Bernstein I, et al. Lynch syndrome, molecular mechanisms and variant classification. *Br J Cancer*. 2023 Mar;128(5):726-34. Epub 2022 Nov 24. <https://doi.org/10.1038/s41416-022-02059-z>
- (9) Richards S, Aziz N, Bale S, et al ; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May;17(5):405-24. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- (10) Tavtigian SV, Harrison SM, Boucher KM, et al. Fitting a naturally scaled point system to the ACMG/AMP variant classification guidelines. *Hum Mutat*. 2020 Oct;41(10):1734-37. <https://doi.org/10.1002/humu.24088>
- (11) CanVIG-UK [Internet]. Disponível em: <https://www.cangene-canvaruk.org/gene-specific-recommendations>
- (12) ClinGen - Specific Guidelines - Criteria Specification Registry [Internet]. 2025. Disponível em: <https://cspec.genome.network/cspect/ui/svi/affiliation/50099>
- (13) Povysil G, Tzika A, Vogt J, et al. panelcn.MOPS: Copy-number detection in targeted NGS panel data for clinical diagnostics. *Hum Mutat*. 2017 Jul;38(7):889-97. <https://doi.org/10.1002/humu.23237>
- (14) Rodrigues P, Carvalho V, Theisen P, et al. In silico detection of copy-number variants in hereditary cancer syndromes using NGS panel data and panelcn.MOPS. Poster 3. 24th Annual Meeting of the Portuguese Society of Human Genetics (SPGH - Sociedade Portuguesa de Genética Humana); 2021 Jan 29; Medicine (Baltimore). 2021 Jan 29;100(4):e23585. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000023585>
- (15) Theisen P, Silva C, Pereira Caetano I, et al. Diagnóstico molecular de cancros hereditários por sequenciação de nova geração: cancro da mama e cancro colorretal. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2016;5(7):38-40. <http://hdl.handle.net/10400.18/3792>
- (16) Theisen P, Rodrigues P, Silva C, et al. Hereditary breast and ovarian cancer: two cases of double heterozygosity for pathogenic variants in the BRCA1 or BRCA2 and ATM genes. e-Poster P12.022.C. Abstr 53rd Eur Soc Hum Genet ESHG Conf Interact E-Posters. 2020 Dec;28(Suppl 1):141-797. <https://doi.org/10.1038/s41431-020-00739-z>
- (17) Infante M, Arranz-Ledo M, Lastra E, et al. Increased Co-Occurrence of Pathogenic Variants in Hereditary Breast and Ovarian Cancer and Lynch Syndromes: A Consequence of Multigene Panel Genetic Testing? *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 29;23(19):11499. <https://doi.org/10.3390/ijms231911499>
- (18) Macklin S, Durand N, Atwal P, et al. Observed frequency and challenges of variant reclassification in a hereditary cancer clinic. *Genet Med*. 2018 Mar;20(3):346-50. Epub 2017 Dec 7. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.207>
- (19) Slaviv TP, Manjarrez S, Pritchard CC, et al. The effects of genomic germline variant reclassification on clinical cancer care. *Oncotarget*. 2019 Jan 11;10(4):417-23. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26501>