



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Mestrado Integrado em Medicina

**SELECÇÃO DAS MULHERES COM CRITÉRIOS PARA A PESQUISA DE
MUTAÇÃO *BRCA1/BRCA2* NO CENTRO HOSPITALAR DO PORTO**

Rui Alberto Caldas Oliveira

Orientador: Dr. Franklim Marques

Porto, Junho de 2009

RESUMO

Este estudo pretendeu identificar as mulheres com cancro da mama do Hospital Geral de Santo António, no período de 2002 a 2008, que apresentavam características patológicas e imunocitoquímicas que sugerem um componente hereditário para a sua patologia. Pretendeu avaliar a prática clínica do Hospital, referente à colheita da história clínica dessas pacientes e a referenciação, ou não, quando indicado, para a consulta de aconselhamento genético e/ou realização do teste genético.

Dos 542 casos de cancro da mama nesse período, foram seleccionadas 57 mulheres (com base no critério de idade ≤ 40 anos). Recorrendo aos relatórios da anatomia-patológica, foram identificados 9 casos “triplos negativos” (receptores de estrogénio, receptores de progesterona e HER2 negativos), nesses 9 casos procedeu-se à pesquisa das citoqueratinas 5 e 6 que se revelaram positivas. Dos processos clínicos destas mulheres, foram apenas revistos 6, sendo que em 4 processos havia referência à história familiar de cancro (2 com história familiar positiva e 2 com história familiar negativa) e em 2 processos não havia referência à história familiar de cancro, e nenhum dos processos analisados referia a referenciação ou realização de teste genético para a pesquisa de mutação *BRCA1/2*.

No Hospital Santo António, não são tidos em conta (na amostra estudada) os dados patológicos e imunocitoquímicos dos tumores da mama para a referenciação para a consulta de aconselhamento genético e/ou realização do teste genético. A abordagem da história familiar de cancro dos pacientes, quando realizada, é feita de uma forma muito superficial. Estes dados vão contra as recomendações internacionais.

PALAVRAS-CHAVE

BRCA1; *BRCA2*; cancro da mama hereditário; história familiar; probabilidade de mutação; características imunocitoquímicas; aconselhamento genético; teste genético.

INTRODUÇÃO

Apesar dos enormes avanços verificados na última década ao nível das técnicas de rastreio, diagnóstico e tratamento do cancro da mama - o que contribui significativamente para a maior sobrevivência destes pacientes - este cancro continua a apresentar-se como o mais incidente e a segunda causa de morte por cancro entre as mulheres (Jemal *et al.* 2008). As estimativas apontam para aproximadamente 184.450 novos casos e 40.930 mortes por cancro da mama (40.480 mulheres e 450 homens) no ano de 2008 nos EUA (Jemal *et al.* 2008). Segundo Pinheiro PS *et al.* (2003) em 2000 previam-se cerca de 4358 novos casos de cancro da mama em Portugal.

Embora factores reprodutivos, demográficos e ambientais afectem o risco de cancro da mama e do ovário, o factor de risco mais significativo depois do género e idade, é a presença

de uma história familiar de cancro positiva (Daly MB and Lerman D, 1993; Mc Tierman *et al.* 1997). Tem sido sugerida a existência de uma predisposição hereditária em cerca de 5 a 10% dos cancros da mama na população em geral, sendo que mutações nos genes *BRCA1* ou *BRCA2* são responsáveis por cerca de 30% dos cancros da mama hereditários (Claus *et al.* 1996; Vehmanen P *et al.* 1997; Ford D *et al.* 1998; Antoniou A *et al.* 2003; Evans DGR *et al.* 2003).

Mulheres que possuam mutação num destes genes, têm um risco de 60-80% de vir a desenvolver cancro da mama e de 27-44% de desenvolver cancro do ovário, ao longo da sua vida (Easton D *et al.* 1993; Struwing JP *et al.* 1996; Ford D *et al.* 1998). Desta forma a detecção desta mutação surge como um marcador molecular de risco, bem como um indicador importante para a prevenção e tratamento de cancro da mama em mulheres com história familiar de cancro da mama ou do ovário. Um teste positivo ou a simples percepção de risco aumentado pode levar a uma abordagem mais agressiva, que pode variar entre mamografias mais frequentes, com ou sem Ressonância Magnética, até a estratégias de redução de risco como a mastectomia bilateral e/ou salpingo-ooforectomia, com as subsequentes implicações para a mulher (Kauff ND *et al.* 2002; Rebbeck TR *et al.* 2002; Rebbeck TR, 2004). A detecção destas mutações numa mulher tem também implicações para os seus familiares, que possuem por isso um risco aumentado de vir a desenvolver cancro da mama ou ovário.

Os genes *BRCA1* e *BRCA2* parecem funcionar como genes supressores tumorais e participar na reparação do ADN (Venkitaraman AR, 2002), são grandes, contendo 24 e 27 exões, respectivamente. Excepto em determinadas populações nas quais mutações ancestrais ou fundadoras são relativamente comuns, tais como os Judeus Ashkenazi (Tonin P *et al.* 1995) e algumas comunidades Nórdicas, a pesquisa de mutações nestes genes envolve a análise de extensas regiões de ADN. Em Portugal foram já identificadas duas mutações associadas ao gene *BRCA2*, que parecem ser mutações fundadoras específicas da nossa população (Machado PM *et al.* 2007; Peixoto A *et al.* 2008). Existem mais de mil mutações nesses dois genes que se pensa que são capazes de conferir alto risco, e um número similar de variantes raras com significado indeterminado. Por outro lado há a possibilidade de falsos negativos por limitações da tecnologia actual.

É extremamente importante a correcta identificação do grupo de mulheres que verdadeiramente apresentam uma probabilidade elevada de possuírem a mutação *BRCA1* ou *BRCA2*, para dessa forma melhor direccionarmos os testes genéticos, dispendiosos, morosos e que acarretam morbilidade psicológica (Di Prospero LS *et al.* 2001).

ANÁLISE DA PROBABILIDADE DE MUTAÇÃO *BRCA1/2*

História familiar de cancro

Actualmente a decisão de referenciar um paciente para uma consulta de aconselhamento genético e pesquisa de mutação *BRCA1/2*, baseia-se substancialmente na história familiar de cancro e na idade de diagnóstico quer da paciente, quer dos seus familiares (Schwartz, 2009; NCCN). Esta história familiar tem implicações ao nível do início do rastreio, da sua frequência e das estratégias de tratamento (Murff HJ, 2004).

Existem inúmeras publicações e recomendações internacionais, que propõem critérios de referenciação de um indivíduo para aconselhamento genético, relativamente ao risco hereditário de cancro da mama e/ou ovário, incluindo a American Society of Clinical Oncology (ASCO), a National Comprehensive Cancer Network (NCCN), a U.S. Preventive Services Task Force (USPSTF) (1995, 2005) e o American College of Medical Genetics (ACMG).

Apesar de algumas variações, parece haver um consenso relativamente aos seguintes critérios clínicos, que aumentam a probabilidade de susceptibilidade hereditária para cancro da mama e/ou ovário (Berliner JL and Fay AM, 2007):

1. Idade jovem de aparecimento do cancro (≤ 50 anos);
2. Cancro do ovário na família;
3. Mulheres com 2 ou mais cancros da mama primários, ou cancro da mama bilateral, ou cancro da mama e ovário na mesma mulher;
4. Cancro da mama masculino;
5. 2 ou mais indivíduos, no mesmo lado da família, com cancro da mama e/ou ovário;
6. Ascendência Ashkenazi

Modelos para calcular a probabilidade de mutação *BRCA1* ou *BRCA2*

Têm sido desenvolvidos inúmeros modelos para ajudar na selecção dos indivíduos com a maior probabilidade de serem portadores de mutação *BRCA1* e *BRCA2* (Parmigiani G *et al.* 1998; Antoniou AC *et al.* 2002; Evans DGR *et al.* 2004). Muitos autores concordam que BRCAPRO, BOADIECA, IBIS, Myriad II e Manchester scoring demonstram performances similares e podem ser ferramentas úteis na identificação de possíveis portadores de mutação *BRCA1/2* (Antoniou AC *et al.* 2006, 2008; Barcnas CH *et al.* 2006). O mais largamente utilizado e que parece apresentar resultados consistentes é o BRCAPRO, que calcula a probabilidade de encontrar mutação *BRCA1/2* com base na história pessoal e familiar de cancro da mama/ovário (Parmigiani G *et al.* 1998).

Características imunocitoquímicas e patológicas dos tumores *BRCA1/2*

Foram levados a cabo diversos estudos, na tentativa de identificar características capazes de diferenciar os cancros da mama associados a mutações nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, cancros hereditários não-*BRCA1/2* e os cancros esporádicos. Verificou-se que tumores associados a mutação *BRCA1* são habitualmente de alto grau (III), têm menor expressão de receptores de estrogénio (RE) e progesterona (RP), menor expressão de receptor do factor de crescimento epidérmico tipo 2 (HER2), elevada expressão de p53 e apresentam elevada proporção de carcinomas medulares e medulares atípicos (Lakhani SR *et al.* 2002; Honrado E *et al.* 2005, 2006; Turner NC and Reis-Filho JS 2005; Frashid G *et al.* 2006), embora também haja casos com carcinomas ductais invasivos comuns. Isto é, o padrão medular favorece a possibilidade de intervenção de mutação nos genes *BRCA1* na patogénese do cancro. Outros padrões histológicos não o excluem, sobretudo quando outros critérios estão presentes, nomeadamente a história familiar e a idade. (Eisinger F *et al.* 1996; Johannsson *et al.* 1997).

Recentemente tem-se valorizado um fenotipo epitelial-basal nos tumores *BRCA1*, havendo uma relação entre estes tumores e a positividade para as citoqueratinas (CKs) 5/6, 14 e 17 (Lakhani SR *et al.* 2002, 2005; Foulkes WD *et al.* 2003; Laakso M *et al.* 2005; Turner NC *et al.* 2006).

Os tumores *BRCA2* geralmente apresentam-se com características imunocitoquímicas semelhantes aos tumores não-*BRCA1/2* e esporádicos (Foulkes WD *et al.* 2003; Palacios J *et al.* 2003, 2005).

A maioria dos cancros familiares não está relacionada com mutações *BRCA1* ou *BRCA2*. Lakhani *et al.* (2000) estudaram a patologia de 82 cancros da mama familiares não atribuídos a mutações *BRCA1/2* e verificaram que esses tumores eram de baixo grau, apresentavam menor pleomorfismo e menor índice mitótico do que os cancros esporádicos ou associados a mutação *BRCA*. Através da análise imunohistoquímica e histopatológica destes tumores, verificou-se que são mais frequentemente carcinomas ductais invasivos de baixo grau (I-II) e RE, RP e Bcl2 positivos e p53 e HER2 negativos (Palacios J *et al.* 2003). O seu perfil imunohistoquímico é muito semelhante ao dos carcinomas esporádicos (Lakhani SR *et al.* 2000; Palacios J *et al.* 2003; Honrado E *et al.* 2005).

É importante referir que estas características morfológicas, imunocitoquímicas e moleculares, capazes de distinguir tumores *BRCA1* dos tumores *BRCA2*, esporádicos e não *BRCA1/2* são bastante atenuadas quando estes tumores são diagnosticados depois dos 55 anos (Varizi SA *et al.* 2001; Eerola H *et al.* 2005).

Objectivos do estudo

Com este estudo, cujos casos foram seleccionados nos arquivos do Hospital de Santo António, pretendeu-se:

1. Identificar mulheres com cancro da mama cuja idade, características anatomopatológicas e padrão de expressão imunocitoquímico levam a pensar em cancro familiar;
2. Avaliar a necessidade de recorrer a testes genéticos complementares que confirmem ou não essas suspeitas.

METODOLOGIA

Seleccção das pacientes

Utilizando a base de dados de cancro da mama do Hospital de Santo António, no período de 2002 a 2008, de um total de 542 casos, foram seleccionadas 57 mulheres tendo em conta o critério de idade ≤ 40 anos.

Dos relatórios da Anatomia Patológica dos tumores destas mulheres seleccionaram-se os seguintes dados: positividade/negatividade para os receptores de estrogénio, progesterona e HER2. Às mulheres que apresentavam negatividade para estes 3 receptores, foi feita a pesquisa da positividade/negatividade para as Citoqueratinas 5 e 6.

Relativamente aos receptores hormonais, foram considerados negativos os casos sem nenhuma célula positiva ou com positividade escassa, inferior a 10% das células neoplásicas. Foram considerados positivos os casos em que a percentagem de núcleos positivos era igual ou superior a 10%.

Relativamente ao HER2, as neoplasias foram classificadas em quatro grupos, como recomendado internacionalmente: 0, 1+, 2+ e 3+. Foram consideradas negativas as neoplasias classificadas com 0, isto é, sem nenhuma célula com positividade de membrana; e as neoplasias com 1+, isto é, com positividade de membrana inferior a 10% ou coloração muito fraca; foram considerados positivos os casos com 3+, isto é, com positividade de membrana intensa e presente em mais de 50% das células; os casos classificados com 2+, isto é com positividade de membrana não muito intensa e numa percentagem de células entre 10 e 50%, foram considerados duvidosos. Nestes casos duvidosos recorreu-se ao FISH para se identificar da existência ou não de amplificação genética.

Foi analisado o processo clínico destas mulheres triplas negativas seleccionando-se os seguintes dados: História familiar e pesquisa de mutação *BRCA1/2*.

Aspectos Éticos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar do Porto.

RESULTADOS

Os resultados do estudo são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1

	N	%
Receptores Estrogénio		
Negativo	12	21,1
Positivo	45	78,9
Total	57	100
Receptores Progesterona		
Negativo	15	26,3
Positivo	45	73,7
Total	57	100
HER2		
Negativo	44	83
Positivo	9	17
Total	53	100
Missing	4	
Total	57	
Grau Bloom Richardson		
I	11	27,5
II	25	62,5
III	4	10
Total	40	100
Missing	17	
Total	57	
RE negativo + RP negativo + HER2 negativo	9	15,8
Total	57	100
RE negativo + RP negativo + HER2 negativo + Grau III	1	1,8
Total	57	100

Aos 9 casos “triplos negativos” (RE, RP e HER2 negativo) encontrados, procedeu-se à pesquisa das CKs 5 e 6, que se revelaram positivos.

Da análise dos processos clínicos destas 9 mulheres (apenas tive acesso a 6 processos), verifiquei que:

1. Em 4 processos havia referência à história familiar de cancro (sendo que 2 negavam a presença de história familiar de cancro da mama);
2. Em 2 processos não havia referência à história familiar de cancro;

3. Nenhum dos processos analisados referia a referenciação para uma consulta de aconselhamento genético ou a realização de teste genético para a pesquisa de mutação *BRCA1/2*.

DISCUSSÃO

O estudo genético para a pesquisa das mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* em famílias de alto risco, são dispendiosos, morosos e associados a morbilidade psicológica dos pacientes (Di Prospero LS *et al.* 2001). É necessário referenciar para esta pesquisa genética as mulheres que apresentam a maior probabilidade de possuírem a mutação. No entanto é importante que a esta selecção não escapem demasiadas mulheres que apesar de não apresentarem os critérios para esta pesquisa, sejam portadoras da mutação.

Apesar dos algoritmos com base em dados clínicos apresentarem valores aceitáveis de sensibilidade, os seus valores de especificidade são baixos (Frashid G *et al.* 2006). Shannon KM *et al.* (2002) verificaram que se nos basearmos nos algoritmos correntes para referenciação destes pacientes para o estudo genético, mais de 20% dos pacientes atendidos numa clínica multidisciplinar de cancro da mama apresentarão uma probabilidade suficientemente alta, em pelo menos um algoritmo para serem referenciados para o teste genético. Por outro lado, um estudo com uma amostra de 10,000 pacientes demonstrou que cerca de 9,5% das mulheres com mutação *BRCA1* ou *BRCA2* e cancro da mama diagnosticado antes dos 50 anos, não possuem qualquer história familiar óbvia de cancro da mama de inicio precoce ou cancro do ovário (Frank TS *et al.* 2002). Haffty *et al.* (2009), num estudo que compreendeu 333 doentes seleccionadas por terem um diagnóstico de cancro da mama antes dos 45 anos, encontraram cerca de 6-10% de mutações deletérias *BRCA1/2* em doentes sem história familiar de cancro da mama.

Quanto aos modelos de cálculo de probabilidades, Evans DGR *et al.* (2006) consideram que o modelo ideal para a selecção destes casos ainda não está disponível e melhores métodos deverão ser desenvolvidos se testes genéticos exactos e economicamente aceitáveis se tornarem disponíveis. Parmigiani G *et al.* (2007) consideram que a decisão acerca da realização ou não do teste genético e prevenção deve ter em conta uma ampla variedade de factores, dos quais a probabilidade de mutação calculada por estes modelos é apenas mais um. James *et al.* (2006) verificaram que os modelos formais de cálculo de probabilidade, quando incorporam os dados patológicos dos cancros da mama na família, conferem uma precisão significativamente superior na selecção das famílias para o teste genético comparativamente ao uso dos métodos clínicos.

É actualmente aceite que a maioria dos cancros associados a mutação *BRCA1* possui características morfológicas, imunocitoquímicas e moleculares próprias, capazes de os diferenciar de outros cancros esporádicos e aqueles associados a mutação *BRCA2* ou não-*BRCA1/2* (Lakhani SR *et al.* 2002; Honrado E *et al.* 2005, 2006; Turner NC and Reis-Filho JS 2005; Frashid G *et al.* 2006). Por outro lado, apesar da identificação de algumas características dos tumores *BRCA2* que parecem ser capazes de os diferenciar dos tumores *BRCA1* e não-*BRCA1/2* (Palacios J *et al.* 2003; Honrado E *et al.* 2005; Colombo M *et al.* 2008), ainda são necessários mais estudos que verifiquem a consistência desses achados.

Estas características histopatológicas e imunocitoquímicas dos tumores, que estão facilmente disponíveis nos registos de diagnóstico patológico, devem ser tidas em conta na avaliação da probabilidade de mutação com vista à referenciação de certas famílias para o estudo genético, especialmente quando são consideradas as características dos diversos tumores na família e quando combinado com a história familiar de cancro. Esta abordagem é ainda mais eficaz quando usada para predizer o risco de uma paciente jovem (com menos de 50 anos) ser portadora de uma mutação no gene *BRCA1* (Lakhani SR *et al.* 2002; Eerola H *et al.* 2005; Tan DSP *et al.* 2008).

Carcinomas ductais invasivos de grau III e RE, RP e HER2 negativos, especialmente se mostrarem características medulares ou medulares atípicas, se aparecerem antes dos 50 anos e se associados a uma história familiar de cancro da mama, são mais comuns entre os possuidores de mutação *BRCA1* (Schwartz GF *et al.* 2009). Estes casos deverão ser também testados para as CKs 5/6, 14 e 17 e a expressão do receptor do factor de crescimento epidérmico, visto que a positividade para estes marcadores aumenta a probabilidade de o paciente ser um portador de mutação *BRCA1* (Laakso M *et al.* 2005; Turner NC and Reis-Filho JS 2006; Eerola H *et al.* 2008). Tumores positivos para RE e/ou RP sem evidência de diferenciação basal, deverão ser primeiro testados para mutações *BRCA2* (Honrado E *et al.* 2006).

É necessária mais evidência acerca dos valores preditivos desta abordagem, mas estes achados poderão ser usados para ajudar a decidir qual o gene que deverá ser estudado em primeiro lugar num paciente com uma história fortemente sugestiva de cancro da mama ou do ovário familiar (Honrado E *et al.* 2006; Tan DSP *et al.* 2008), na ausência de outras características da história familiar que sugiram uma alteração genética específica, como o cancro da próstata e o cancro da mama no homem e a sua relação com mutações *BRCA2*.

O uso dos dados patológicos poderá ser particularmente útil quando a informação da história familiar deixar em dúvida acerca da possibilidade de cancro hereditário, como por exemplo em famílias pequenas (Van der Groep P *et al.* 2006). Por outro lado, estes dados

patológicos servem para seleccionar aquelas mulheres que mesmo não possuindo história familiar sugestiva de cancro hereditário, apresentam a mutação.

A maior limitação do uso dos dados patológicos é a falta de características próprias dos carcinomas *BRCA2*, não-*BRCA1/2* e esporádicos, capazes de os diferenciar entre si. Este facto apresenta-se de extrema importância, visto que muitos dos cancros da mama familiares não são associados a mutações *BRCA1/2*.

Em conclusão, não há ainda um consenso acerca de qual o melhor método para a selecção das mulheres que apresentam uma maior probabilidade de mutação *BRCA1/2*. Poderá não haver um método ideal, mas a utilização conjunta dos diversos métodos actualmente disponíveis poderá ser uma hipótese. Quando avaliamos a probabilidade de uma paciente com cancro da mama ser portadora de mutação *BRCA1/2*, devemos ter em conta a idade de diagnóstico do cancro e a análise da história familiar de cancro. Devem ser considerados os dados imunocitoquímicos, os quais apenas têm relevância nos tumores associados a mutação *BRCA1*. Estes dados são particularmente úteis nos casos em que a história familiar deixa dúvidas (famílias pequenas ou quando não se conseguem obter os dados de forma precisa) e por outro lado ajudam a direccionar o estudo genético para a mutação mais provável (*BRCA1*), o que em termos económicos e de tempo dispendido constitui uma vantagem significativa pois diminui de forma substancial o custo do estudo e o tempo de resposta. Actualmente não há ainda uma definição clara das características capazes de diferenciar entre si os tumores *BRCA2*, não-*BRCA1/2* e esporádicos, sendo necessários mais estudos na tentativa de se identificarem essas características. Os modelos matemáticos de cálculo de probabilidade poderão também ajudar nos casos de maior dúvida.

Há outro aspecto importante a ter em conta, quando nos deparamos com uma mulher com probabilidade de possuir um cancro da mama hereditário. Estará indicada, ou não a referenciação dessa mulher para uma consulta de aconselhamento genético? E a realização do teste genético, estará indicado? O que fazer com um resultado positivo ou negativo?

Quando se coloca a possibilidade da realização do teste genético, existem alguns aspectos que têm que ser tidos em conta:

1. A melhor estratégia de teste envolve começar por testar um probando com neoplasia. Por isso é útil identificar, numa grande população de mulheres com cancro da mama, quais as que têm maior probabilidade de ter mutações nos genes responsáveis e nessas fazer os testes. As restantes devem ser aconselhadas a não o fazer;
2. Estima-se que os testes genéticos actuais não identifiquem cerca de 12-15% de mutações *BRCA* (Nelson HD *et al.* 2005).

3. Existem outras causas genéticas para os cancros da mama familiares, que não as mutações BRCA (Pharoah PD, 2003);
4. Em 13% dos casos são identificadas variações genéticas de significado clínico incerto (Frank TS *et al.* 2002).

Por outro lado, sabemos que a mastectomia profilática e ooforectomia reduzem a incidência do cancro nas mulheres possuidoras de mutação *BRCA1/2*, e a combinação da Ressonância Magnética (RM) à Mamografia parece conferir uma maior sensibilidade (apesar de menor especificidade) na detecção de cancro nestas mulheres. No entanto, a mastectomia profilática, apesar de efectiva na redução da incidência do cancro, é uma opção inaceitável para muitas mulheres com risco elevado. Wainberg S and Husted J (2004) verificaram que a proporção de mulheres que opta pela mastectomia profilática após um resultado do teste genético positivo varia entre 0-15%, e que a ooforectomia é mais facilmente aceite. Quanto ao uso da RM em combinação com a mamografia, as pacientes devem ser informadas acerca da incerteza do benefício para a mortalidade, o seu elevado custo, e alta taxa de resultados falso-positivos.

É importante garantir a estas mulheres, com uma história familiar de cancro da mama ou ovário, ou com características patológicas e imunocitoquímicas sugestivas de mutação, a oportunidade de tomarem uma decisão depois de bem informadas. É neste contexto que a Consulta de Aconselhamento Genético assume uma grande importância, pois é aí que irá ser discutido com a mulher o objectivo do teste genético, as suas limitações e o que fazer perante os dois cenários (mutação identificada ou mutação não identificada).

Todos estes aspectos, colocam a decisão da necessidade de referenciação para a consulta de aconselhamento genético e/ou a realização do teste genético, no campo das incertezas. Incertezas muitas das vezes difíceis de ultrapassar por profissionais de saúde com menos prática nesta área. Torna-se importante a integração em redes nacionais e internacionais. Estimular essa participação deve ser um objectivo a não perder de vista, numa lógica de complementaridade e de frutuosa competição.

Este estudo pretendeu identificar as mulheres com cancro da mama cuja idade, características anatomopatológicas e padrão de expressão imunocitoquímica levam a pensar em cancro familiar. De um total de 57 mulheres (com idade de diagnóstico ≤ 40 anos), foram identificadas 9 que apresentavam características que nos levam a considerar a possibilidade de mutação *BRCA1* (RE, RP e HER2 negativo). Destes 9 casos um apresentava também Grau Histológico de Bloom Richardson III (Frank TS *et al.* 2002; Lakhani SR *et al.* 2002; Honrado E *et al.* 2006). A esses nove casos, procedeu-se à pesquisa das CKs 5 e 6 e verificou-se que em todos eles eram positivas, sendo este mais um aspecto que intensifica a suspeição de mutação

genética (Foulkes WD *et al.* 2003, 2004; Lakhani SR *et al.* 2005; Honrado E *et al.* 2006; Turner NC and Reis-Filho JS 2006).

Este trabalho serviu para verificar que, no Hospital Santo António, pelo menos nesta amostra, não são tidos em conta os dados patológicos e imunocitoquímicos dos tumores da mama, para a referenciação para uma consulta de aconselhamento genético e/ou teste genético e que a abordagem da história familiar de cancro dos pacientes, quando realizada, é feita de uma forma muito superficial. Serviu também para afirmar a necessidade de uma consulta de cancro familiar que, além do cancro da mama, cubra também as outras neoplasias familiares. Essa consulta deverá enquadrar-se numa rede nacional de consultas deste tipo, para que a toda a população seja garantida igualdade de acesso a bens de saúde que incluam não apenas a componente clínica mas também a laboratorial. Terá valido a pena este esforço se ele contribuir para um início de solução desta necessidade.

Se o tempo disponível fosse maior e as condições para investigação mais adequadas, o trabalho poderia ter sido conduzido de outra forma, como se apresenta a seguir:

Seleccção dos indivíduos a estudar, a partir de casos com cancro da mama, de acordo com:

1. A sua História pessoal e familiar de cancro (NCCN; Peixoto A *et al.* 2008; Schwartz *et al.* 2009);
 - 1.1. Idade de diagnóstico ≤ 40 anos;
 - 1.2. Mulheres com 2 ou mais cancros da mama primários (um diagnosticado antes dos 50 anos), ou cancro da mama bilateral (um diagnosticado antes dos 50 anos), ou cancro da mama (diagnosticado antes dos 60 anos) e ovário na mesma mulher;
 - 1.3. Famílias com 1 ou mais cancros da mama (um deles diagnosticado antes dos 50 anos) e um ou mais cancros do ovário;
 - 1.4. Famílias com 2 ou mais mulheres com cancro da mama (pelo menos um diagnosticado antes dos 50 anos);
 - 1.5. Familiar próximo masculino com cancro da mama;
 - 1.6. Indivíduos de etnias associadas a uma frequência alta de mutação (ex. mutações fundadoras de Judeus Ashkenazi, Islândia, Suécia, Hungria e outras);
 - 1.7. História pessoal de cancro da mama masculino com ≥ 1 familiar com cancro da mama ou ovário.
2. As características anatomopatológicas e o perfil de expressão imunocitoquímico que levam a pensar em cancro familiar:

2.1. Cancro da mama triplo negativo (RE, RP, HER2 negativo) particularmente se do tipo medular e/ou positivo para as CKs 5/6/14/17.

Desta forma, para além de serem incluídas no estudo, todas as mulheres que apresentam critérios clínicos que sugerem cancro da mama hereditário, estariam também contempladas parte das mulheres que apesar de não apresentarem esses critérios clínicos, possuem uma probabilidade aumentada de mutação *BRCA1* (as que apresentam as características anatomopatológicas e perfil de expressão imunocitoquímica que levam a pensar em cancro familiar, mesmo sem critérios clínicos sugestivos). A estas mulheres estaria indicada a referenciação para uma consulta de aconselhamento genético, para ponderação da realização do teste genético. A esta selecção escapariam particularmente as mulheres com mutação *BRCA2*, ou não-*BRCA1/2*.

REFERÊNCIAS

- Aaltonen K, Blomqvist C, Amini R, *et al.* (2008) Familial breast cancers without mutations in *BRCA1* or *BRCA2* have low cyclin E and high Cyclin D1 in contrast to cancers in *BRCA* mutation carriers Clin Cancer Res 14(7):1976-1983
- Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S, *et al.* (2003) Average risk of breast and ovarian cancer associated with *BRCA1* or *BRCA2* mutations detected in case series unselected for family history: A combined analysis of 22 studies. Am J Hum Genet 72:1117-1130
- Antoniou AC, Durocher F, Smith P, *et al.* (2006) *BRCA1* and *BRCA2* mutation predictions using the BOADIECA and BRCAPRO models and penetrance estimation in high-risk French-Canadian families. Breast Cancer Res 8:R3
- Antoniou AC, Hardy R, Walker L, *et al.* (2008) Predicting the likelihood of carrying a *BRCA1* or *BRCA2* mutation: validation of BOADIECA, BRCAPRO, IBIS, Myriad and the Manchester scoring system using data from UK genetics clinics. J Med Genet 45:425-431
- Antoniou AC, Pharoah PD, McMullan G, *et al.* (2002) A comprehensive model for familial breast cancer incorporating *BRCA1*, *BRCA2* and other genes. Br J Cancer 86:76-83
- Barcenas CH, Hosain GM, Arun B, *et al.* (2006) Assessing *BRCA* carrier probabilities in extended families. J Clin Oncol 24:354-360
- Berliner JL, Fay AM (2004) Risk Assessment and Genetic Counseling for Hereditary Breast and Ovarian Cancer: Recommendations of the National Society of Genetic Counselors. J Genet Counsel 16:241-260
- Carlsson J, Nordgren H, Sjöström J, *et al.* (2004) HER2 expression in breast cancer primary tumours and corresponding metastases. Original data and literature review. British Journal of Cancer 90(12): 2344-2348
- Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD, *et al.* (1996): The genetics attributable risk of breast and ovarian cancer. Cancer 77:2318-2324
- Colditz GA, Willet WC, Hunter DJ, *et al.* (1993) Family History, age, and risk of breast cancer. JAMA 270:338-343
- Collaborative Group on Hormonal factors in Breast Cancer (2001) Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58209 women with breast cancer and 101986 women without the disease. Lancet 358:1389-1399

- Colombo M, Giarola M, Mariani L, *et al.* (2008) Cyclin D1 expression analysis in familial breast cancers may discriminate BRCAX from *BRCA2*-linked cases. *Mod Pathol* 21(10):1262-1270
- Daily MB, Lerman D (1993) Ovarian cancer risk counseling: A guide for the practitioner. *Oncology* 7(11):27-34
- Di Prospero LS, Seminsky M, Honeyford J, *et al.* (2001) Psychosocial issues following a positive result of genetic testing for *BRCA1* and *BRCA2* mutations: Findings from a focus group and a needs-assessment survey. *Can Med Assoc J* 164:1005-1009
- Easton D, Ford D, Peto J (1993) Inherited susceptibility to breast cancer. *Cancer Surv.* 18:95-113
- Easton DF (2002) Familial risks of breast cancer. *Breast Cancer Res* 4:179-181
- Eerola H, Heikkilä P, Tamminen A, *et al.* (2005) Histopathological features of breast tumours in *BRCA1*, *BRCA2* and mutation-negative breast cancer families. *Breast Cancer Res* 7:R93-R100
- Eerola H, Heikkilä P, Tamminen A, *et al.* (2005) Relationship of patients age to histopathological features of breast tumours in *BRCA1* and *BRCA2* and mutation-negative breast cancer families. *Breast Cancer Res* 7:R465-469
- Eerola H, Heinonen M, Heikkilä P, *et al.* (2008) Basal cytokeratins in breast tumours among *BRCA1*, *BRCA2* and mutation-negative breast cancer families. *Breast Cancer Res* 10:R17
- Eisinger F, Stoppa-Lyonnet D, Longy M, *et al.* (1996) Germ line mutation at *BRCA1* affect the histoprognostic grade in hereditary breast cancer. *Cancer Res* 56:471-474
- Evans DGR, Bulman M, Young K, *et al.* (2003) Sensitivity of *BRCA1/2* mutation testing in 466 breast/ovarian cancer families. *J Med Genet* 40:e107
- Evans DGR, Eccles DM, Falloo F (2006) Correspondence to Optimal selection of individuals for *BRCA* mutation testing. *J Clin Oncol*
- Evans DGR, Eccles DM, Rahman N, *et al.* (2004) A new scoring system for the chances of identifying a *BRCA1/2* mutation outperforms existing models including BRCAPRO. *J Med Genet* 41:474-480
- Ford D, Easton DF, Stratton M, *et al.* (1998) Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the *BRCA1* and *BRCA2* genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 62:676-689

- Foulkes WD, Metcalfe K, Sun P, *et al.* (2004) Estrogen receptor status in *BRCA1* and *BRCA2* related breast cancer: the influences of age, grade, and histological type. *Clin Cancer Res* 10:2029-2034
- Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, *et al.* (2003) Germline *BRCA1* mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Instit* 95:1482-1485
- Frank TS, Deffenbaugh AM, Reid JE, *et al.* (2002) Clinical characteristics of individuals with germline mutations in *BRCA1* and *BRCA2*: analysis of 10,000 individuals. *J Clin Oncol* 20:1480-1490
- Frashid G, Balleine RL, Cummings M, *et al.* (2006) Morphology of breast cancer as a means of triage of patients for *BRCA1* genetic testing. *Am J Surg Pathol* 30:1357-1366
- Gayther SA, Mangion J, Russell P *et al.* (1997) Variation of risks of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the *BRCA2* gene. *Nature Genet* 15:103-105
- Globocan – www.dep.iarc.fr
- Haffty BG, Choi DH, Goyal S, *et al.* (2009) Breast cancer in young women (YBC): prevalence of *BRCA1/2* mutations and risk of secondary malignancies across diverse racial groups. *Annals of Oncology*
- Honrado E, Benitez J, Palacios J (2005) The molecular pathology of hereditary breast cancer: genetic testing and therapeutic implications. *Mod Pathol* 18:1305-1320
- Honrado E, Benítez J, Palacios J (2006) Histopathology of *BRCA1* and *BRCA2*-associated breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 59:27-39
- Honrado E, Osorio A, Palacios J, Benitez J (2006) Pathology and gene expression of hereditary breast tumours associated with *BRCA1*, *BRCA2* and *CHEK2* gene mutations. *Oncogene* 25:5837-5845
- Honrado E, Osorio A, Palacios J, *et al.* (2005) Immunohistochemical Expression of DNA repair proteins in familial breast cancer differentiate *BRCA2*-associated tumours. *J Clin Oncol* 23:7503-7511
- James PA, Doherty R, Harris M, *et al.* (2006) Optimal selection of individuals for BRCA mutation testing: A comparison of available methods. *J Clin Oncol* 24:707-715
- Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* (2008) Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 58(2):71-96

- Johannsson OT, Idvall I, Anderson C (1997) Tumour biological features of *BRCA1* –induced breast and ovarian cancer. *Eur J Cancer* 33:362-371
- Kauff ND, Satagopan JM, Robson ME *et al.* (2002) Risk-reducing salpingo-oophorectomy in women with a *BRCA1* or *BRCA2* mutation. *N Eng J Med* 346(21):1609-1615
- Kirchhoff T, Kauf ND, Mitra N *et al.* (2004) *BRCA* mutations and risk of prostate cancer in Ashkenazi Jews. *Clin Cancer Res* 10(9):2918-2921
- Laakso M, Loman N, Borg A, *et al.* (2005) Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to *BRCA1* tumours *Modern Pathology* 18:1321-1328
- Lakhani SR, Gusterson BA, Jacquemier J, *et al.* (2000) The pathology of familial breast cancer: histological features of cancers in families not attributable to mutations in *BRCA1* or *BRCA2*. *Clin Cancer Res* 6:782-789
- Lakhani SR, Jacquemier J, Sloane JP, *et al.* (1998) Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancer and cancers involving *BRCA1* and *BRCA2* mutations. *J Natl Cancer Inst* 90:1138-1145
- Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, *et al.* (2005) Prediction of *BRCA1* status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 11:5175-5180
- Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, *et al.* (2002) The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. *J Clin Oncol* 20:2310-2318
- Machado PM, Brandão RD, Cavaco BM *et al.* (2007) Screening for a *BRCA2* rearrangement in high-risk breast/ovarian cancer families: evidence for a founder effect and analysis of the associated phenotypes. *J Clin Oncol* 25:2027-2034
- Mc Tiernan A, Gilligan MA, Redmond C (1997) Assessing individual risk for breast cancer: Risky business. *Journal of Clinical Epidemiology* 50(5):547-556
- Murff HJ, Spigel DR, Syngal S (2004) Does this patient have a family history of cancer? An evidence-based analysis of the accuracy of family cancer history. *JAMA* 292(12):1480-1489
- NCCN – National Comprehensive Cancer Network – www.nccn.com

- Nelson HD, Huffman LH, Fu R *et al.* (2005) Genetic Risk Assessment and BRCA Mutation testing for Breast and Ovarian Cancer Susceptibility: Systematic Evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Annals of Internal Medicine* 143(5):362-379
- Palacios J, Honrado E, Osorio A, *et al.* (2003) Immunohistochemical characteristics defined by tissue microarray of hereditary breast cancer not attributable to *BRCA1* or *BRCA2* mutations: Differences from breast carcinomas arising in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *Clin Cancer Res* 9:3606-3614
- Palacios J, Honrado E, Osorio A, *et al.* (2005) Phenotypic characterization of *BRCA1* and *BRCA2* tumours based in a tissue microarray study with 37 immunohistochemical markers. *Breast Cancer Res Treat* 90:5-14
- Parmigiani G, Berry DA, Aguilar O (1998) Determining Carrier Probabilities for Breast Cancer-Susceptibility Genes *BRCA1* and *BRCA2*. *Am J Hum Genet* 64:145-158
- Peixoto A, Santos C, Rocha P *et al.* (2008) The c.156_157insAlu *BRCA2* rearrangement accounts for more than one-fourth of deleterious BRCA mutations in northern/central Portugal. *Breast cancer Res Treat*
- Pharoah PD. (2003) Geneticsusceptibility, predicting risk and preventing cancer. *Recent Results Cancer Res.* 163:7-18
- Pinheiro PS, Tyczyński JE, Bray F, *et al.* (2003) Cancer incidence and mortality in Portugal. *Eur J Cancer* 39(17):2507-2520
- Rebbeck TR, Friebel T, Lynch HT *et al.* (2004) Bilateral prophylactic mastectomy reduces breast cancer risk in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: the PROSE Study Group. *J Clin Oncol* 22(6):1055-1062
- Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL *et al.* (2002) Prophylactic oophorectomy in carriers of *BRCA1* or *BRCA2* mutations. *N Eng J Med* 346(21):1616-1622
- Schwartz GF, Hughes KS, Lynch HT, *et al.* (2009) Proceedings of the International Consensus Conference on Breast cancer, Risk, genetics, & Risk Management, April, 2007. *The Breast Journal* 15(1):4-16
- Shannon KM, Lubratovich ML, Finkelstein DM, *et al.* (2002) Model-based predictions of *BRCA1/2* mutation status in breast carcinoma patients treated at an academic medical center. *Cancer* 94:305-313

- Struewing JP, Tarone RE, Brody LC, Li FP, *et al.* (1996) *BRCA1* mutations in young women with breast cancer. *Lancet* 347(9013):1493
- Tan DSP, Marchiò C, Reis-Filho JS (2008) Hereditary breast cancer: from molecular pathology to tailored therapies. *J Clin Pathol* 61:1073-1082
- Tonin P, Serova O, Lenoir G *et al.* (1995) *BRCA1* mutations in Ashkenazi Jewish women. *Am J Human Genet* 57:189
- Turner NC, Reis-Filho JS (2006) Basal-like breast cancer and the *BRCA1* phenotype. *Oncogene* 25:5846-5853
- Van der Groep P, Bouter A, van der Zander R, *et al.* (2006) Distinction between hereditary and sporadic breast cancer on the basis of clinicopathological data. *J Clin Pathol* 59:611-617
- Varizi SA, Krumroy LM, Elson P, *et al.* (2001) Breast tumor immunophenotype of *BRCA1*-mutations carriers is influenced by age at diagnosis. *Clin Cancer Res* 7:1937-1945
- Vehmanen P, Friedman LS, Eerola H, *et al.* (1997) Low proportion of *BRCA1* and *BRCA2* mutations in Finnish breast cancer families: evidence for additional susceptibility genes. *Hum Mol Genet* 6:2309-2315
- Venkitaraman AR (2002) Cancer susceptibility and the functions of *BRCA1* and *BRCA2*. *Cell* 108(2):171-182
- Wainberg S, Husted J (2004) Utilization of screening and preventive surgery among unaffected carriers of a *BRCA1* or *BRCA2* gene mutation: *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13:1989-1995