



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Luiza Côrtes

**VARIANTES GERMINATIVAS IDENTIFICADAS POR
SEQUENCIAMENTO TOTAL
DE EXOMA EM FAMÍLIAS DE PACIENTES PORTADORES
DE CARCINOMAS DE MAMA E COLORRETAL**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre(a) em Tocoginecologia.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Silvia Regina Rogatto

**Botucatu
2023**

Luiza Côrtes

Variantes Germinativas Identificadas por
Sequenciamento Total
de Exoma em Famílias de Pacientes Portadores de
Carcinomas de Mama e Colorretal

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre(a) em Tocoginecologia.

Orientador (a): Prof(a).Dr(a) Silvia Regina Rogatto

Botucatu
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Côrtes, Luiza.

Variantes germinativas identificadas por sequenciamento total de exoma em famílias de pacientes portadores de carcinomas de mama e colorretal / Luiza Cortes. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Silvia Regina Rogatto

Capes: 40101150

1. Cólon (Anatomia) - Câncer. 2. Mamas - Câncer. 3. Síndromes Neoplásicas Hereditárias. 4. Sequenciamento do Exoma.

Palavras-chave: Câncer colorretal; Câncer de mama; Síndrome de predisposição ao câncer hereditário; Sequenciamento total do exoma.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todos os pacientes que fizeram parte do estudo, sem vocês não seria possível ajudarmos tantas outras pessoas nessa mesma situação. E, principalmente, dedico toda a pesquisa aos pacientes que estão diariamente na luta contra o câncer.

A vocês, dedico todo o meu empenho.

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, Professora Dra. Silvia Regina Rogatto, uma das mulheres mais inspiradoras que já tive o privilégio de conhecer, expresso minha gratidão por ser um exemplo de superação e força. Agradeço por todo cuidado, acolhimento e aprendizado que a senhora me proporciona. Agradeço o lecionar de forma doce, motivador, didático, impecável, profissional e exemplar. Mas, acima de tudo, sou grata pela amizade que construímos durante esses anos.

Aos meus amados pais, Maria Stela do Nascimento Côrtes e Wanderley Guimarães Côrtes, que sempre depositaram confiança em mim, reconhecimento e dedicaram a vida para que jamais me faltasse algo. Eu sei que vocês fizeram o melhor e me permitiram dar esse passo adiante em minha vida profissional e pessoal. Expresso minha profunda gratidão por todo o esforço, educação, amor, serenidade, cuidado, paciência, amizade e, acima de tudo, pela presença constante em cada passo que dei.

A minha irmã, Júlia Côrtes, por me ouvir, me apoiar e compreender que, nos momentos em que não pude estar ao seu lado, estava lutando para ser seu exemplo.

Ao meu namorado, Vinicius de Faria, um exemplo de foco, amor, dedicação e lealdade. Agradeço por estar ao meu lado, me incentivando a dar o meu melhor. Agradeço o companheirismo e por me mostrar que tudo é uma questão de perspectiva.

Ao Department of Clinical Genetics, University Hospital of Southern Denmark e ao Institute of Regional Health Research, University of Southern Denmark – SDU, pela oportunidade e, por receber estudantes com gentileza, carinho, eficiência, dedicação, organização e cuidado. Em especial, a Lina e a Helle, agradeço a atenção e apoio que ofereceram, não apenas ajudando, mas também ensinando.

À Faculdade de Medicina de Botucatu e a todos os responsáveis pelo Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia da instituição, expresso meu agradecimento por viabilizarem o acesso a uma educação de qualidade. Agradeço a todos pela dedicação aos alunos e pela relevância científica que cada um possui.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Introdução: Estima-se que 5 a 10% de pacientes com câncer são portadores de uma Síndrome de Predisposição Hereditária ao Câncer (SPHC). Embora uma parcela desses pacientes preencha os critérios clínicos clássicos das SPHC, vários não apresentam mutações nos principais genes já descritos nestas síndromes. **Objetivo:** Identificar variantes germinativas em pacientes com câncer de mama e colorretal com história pessoal e/ou familiar destes tumores. **Pacientes e Métodos:** O sequenciamento total do exoma foi utilizado para investigar alterações germinativas em seis pacientes que preenchem os critérios da síndrome do câncer de mama e ovário hereditário (HBOC), cinco deles também apresentaram câncer colorretal. Sete parentes de três famílias também foram incluídos no estudo. As variantes detectadas foram anotadas e filtradas usando o programa VarSeq v.2.2.2 (Golden Helix, Bozeman, MT). Variantes raras (< 1% em bancos de dados) que passaram pelos controles de qualidade e que não foram classificadas como benignas ou possivelmente benignas foram selecionadas para análises subsequentes. Foram também investigadas variantes no número de cópias (CNVs) de DNA raras ($p < 0,001$). Os achados foram comparados com as alterações germinativas já descritas em cânceres no COSMIC (<https://cancer.sanger.ac.uk/census>). **Resultados:** Foram identificadas seis variantes patogênicas (P), cinco provavelmente patogênicas (LP), 2121 variantes de significado incerto (VUS) e 1848 CNVs. *ZDHC11B* (c.780C>G) (P) e *XPC* c.2348C>T (VUS) presentes em membros da família 1 podem ter papel na predisposição hereditária ao câncer. Na família 2 não foram identificadas variantes candidatas à predisposição hereditária. Contudo, dois membros desta família apresentaram CNVs em *BCL3* (19q13) e *CARD11* (7p22.2), coincidentes com regiões de sítios frágeis. Todos os indivíduos testados da família 3 apresentaram a variante LP em *NOS3* (p.Pro115Glyfs*3), um gene candidato ao risco de câncer nesta família. A probanda da família 3 apresentou uma perda heterozigota nos genes *ROBO1* e *ROBO2*, os quais foram previamente descritos na síndrome do câncer de mama e colorretal hereditários. A irmã gêmea da probanda da família 3 (não afetada) apresentou perda heterozigota em *MUTYH* (patogênica), um gene associado ao risco aumentado de desenvolver câncer colorretal e pólipos adenomatosos. Os membros da Família 3 apresentaram deleções em regiões de sítios frágeis (*MACROD2*, *LRP1B*, *DMD*, *PTPRD*). Dois probandos (pacientes 11 e 13) apresentaram deleção heterozigota no gene *PMS2*, o qual está associado à Síndrome de Lynch, e ganhos em *POLE2*, um gene associado à predisposição hereditária ao câncer colorretal. A paciente 13 também era portadora da variante *PTCH1*(c.140G>T), previamente associada a HBOC. A paciente 12 apresentou a variante *WRN* c.95A>G (VUS), um candidato à predisposição hereditária ao câncer. Seis probandos apresentaram variantes em genes descritos como alvos para terapia ou associados ao prognóstico. **Conclusão:** Foram identificadas variantes e CNVs germinativas com potencial de risco ao desenvolvimento de SPHC, além de alterações em genes já descritos como marcadores prognósticos e/ou alvos acionáveis de tratamento.

Palavras-chave: câncer de mama, câncer colorretal, sequenciamento total do exoma, síndrome de predisposição ao câncer hereditário, síndrome de predisposição hereditária ao câncer de mama e ovário.

ABSTRACT

Introduction: It is estimated that 5 to 10% of cancer patients carry a hereditary predisposition to cancer syndromes (HCPS). Though a set of these patients fulfill the classic clinical criteria of HCPS, several do not present mutations in the main genes already described in these syndromes. **Objective:** Identify germline variants in patients with breast and colorectal cancer with family and/or personal history of these tumors. **Patients and Methods:** whole exome sequencing was used to investigate germline alterations in six patients that fulfill the criteria of hereditary breast and ovarian cancer (HBOC). Five patients also presented colorectal cancer. Seven relatives of three families were also included in the study. The detected variants were annotated and filtrated using the VarSeq v.2.2.2 software (Golden Helix, Bozeman, MT). Rare variants (<1% in databases) that underwent quality control and that were not classified as benign or possibly benign were selected for subsequent analyses. Rare copy number variants (CNVs) ($p < 0,001$) were also investigated. The findings were compared with germline alterations described in cancers on COSMIC (<https://cancer.sanger.ac.uk/census>). **Results:** Six variants were pathogenic (P), alongside five probably pathogenic variants (LP), 2121 variants of uncertain significance (VUS) and 1848 CNVs. *ZDHC11B* (c.780C>G) (P) e *XPC* c.2348C>T (VUS) present in Family 1 members may have a role in hereditary cancer predisposition. In Family 2, no candidate variants to hereditary cancer predisposition were identified. However, two members of this Family presented CNVs in *BCL3* (19q13) and *CARD11* (7p22.2), coinciding with fragile site regions. All tested individuals of Family 3 presented the LP variant in *NOS3* (p.Pro115Glyfs*3) a candidate gene to cancer risk in this Family. The Family 3 proband presented a heterozygote loss in *ROBO1* and *ROBO2* genes, which have been previously described in breast and colorectal hereditary cancer syndrome. The twin sister of family 3's proband (not affected) presented heterozygote loss in *MUTYH* (P), a gene associated with a higher risk of developing colorectal cancer and adenomatous polyps. Family 3 members presented deletions in fragile site regions (*MACROD2*, *LRP1B*, *DMD*, *PTPRD*). Two probands (patients 11 and 13) presented heterozygous deletion in *PMS2* gene, which is associated with Lynch Syndrome, and gains in *POLE2*, a gene associated with hereditary colorectal cancer. Patient 13 also carried variant *PTCH1*(c.140G>T), previously associated with HBOC. Patient 12 presented variant *WRN*c.95A>G (VUS), a candidate gene to hereditary cancer predisposition. Six probands presented variants in genes described as targets therapy or associated to prognosis. **Conclusion:** Germline variants and CNVs with a potential risk of developing SPHC were identified. Additionally, alterations in genes previously described as prognostic markers and/or actionable treatment targets were also identified.

Keywords: breast cancer, colorectal cancer, exome sequencing, hereditary cancer predisposition syndromes, hereditary breast and ovary cancer syndrome.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACMG*	American College of Medical Genetics and Genomics
AT	Adenocarcinoma Tubular
°C	Grau Celsius
CA	Câncer
CCR	Câncer Colorretal
CDI-NE	Carcinoma de Mama Ductal Invasivo Tipo Não Específico
CE	Câncer de Endométrio
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CG	Câncer Gástrico
ClinGen*	Clinical Genome Resource
ClinVar*	Clinical Genome Resource
cnLOH*	Copy Loss of Heterozygosity
CM	Câncer de Mama
CNVs	Variações do Número de Cópias
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
COSMIC*	Catalogue of Somatic Mutations in Cancer
CP	Câncer de Próstata
Crom.	Cromossomo
CT	Quimioterapia
DGV	Database of Genomic Variants
DK*	Denmark
DNA*	Deoxyribonucleic Acid
FAP	Polipose Adenomatosa Familiar
FCCTX	Câncer Colorretal Familiar Tipo X
FS*	Strand Bias-Fisher
GQ	Qualidade dos Genótipos
HBOC*	Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome
HBCC*	Câncer de Mama e Colorretal Hereditários
HER2	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2
HNPCC*	Câncer Colorretal Hereditário não Poliposo
HumCFS*	Database of Human Chromosomal Fragile Sites
IARC*	International Agency for Research on Cancer
INCA*	Instituto Nacional do Câncer
InSiGHT*	International Society of Gastrointestinal Hereditary Tumors
Kbp*	Kilo base
LFS	Síndrome de Li-Fraumeni
LoF*	Loss of Function
LoH*	Loss of heterozygosity
LP	Provavelmente Patogênicas
LR-PCR	Long Range PCR
MAP	Polipose Associada ao <i>MUTYH</i>
Mb*	Mega base
uL	Microlitros
MMR*	Mismatch Repair
MTP	Múltiplos Tumores Primários
NCCN*	National Cancer Institute

NCBI*	National Center for Biotechnology Information
ND	NanoDrop
NGS*	Next Generation Sequencing
OMS	Organização Mundial da Saúde
OV	Câncer de Ovário
P	Patogênica
pb*	Pares de Bases
PCR*	Polymerase Chain Reaction
QT	Quimioterapia
RefSeq*	Reference Sequence
RNA*	Ribonucleic Acid
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RT	Radioterapia
SAV*	Software Analysis Viewer
SET	Sequenciamento Total do Exoma
SL	Síndrome de Lynch
SNP	Polimorfismos de nucleotídeos únicos
SPHC	Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer
TNM	Estadiamento do Câncer
VUS	Variante de Significado Incerto
DGV*	Database of Genomic Variants

*siglas ou abreviaturas derivadas do inglês;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. Câncer de Mama e Ovário Hereditário (HBOC)	14
1.2. Câncer Colorretal Hereditário	17
1.3. Câncer de Mama e Colorretal Hereditários	21
1.4. Sequenciamento Total do Exoma em Pacientes com Câncer de Mama e Colorretal	23
2. OBJETIVOS	26
Objetivo Geral.....	26
Objetivos Específicos	26
3. PACIENTES E MÉTODOS	27
3.1. Pacientes	27
3.2. Métodos	29
3.2.1 <i>Extração de DNA</i>	29
3.2.2 <i>Sequenciamento do Exoma Total (SET)</i>	30
3.2.3 <i>Análise dos Dados de Sequenciamento do Exoma</i>	32
3.2.4 <i>Comparação das variantes de significado incerto com os genes descritos no COSMIC e literatura</i>	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1. <i>Família 1</i>	40
<i>Variantes Germinativas</i>	40
4.2. <i>Família 2</i>	52
<i>Variantes Germinativas</i>	52
4.3. <i>Família 3</i>	67
<i>Variantes germinativas</i>	67
4.4. <i>Paciente 11</i>	76
<i>Variantes Germinativas</i>	76
4.5. <i>Paciente 12</i>	80
<i>Variantes Germinativas</i>	80
4.6. <i>Paciente 13</i>	83
<i>Variantes Germinativas</i>	83
5. CONCLUSÃO.....	90
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

1. INTRODUÇÃO

Os dados coletados pelo *Global Cancer Observatory*, da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) (<https://gco.iarc.fr/>) reportam que o câncer foi responsável por cerca de 10 milhões de mortes no mundo em 2020 (MAO et al., 2022; PRAMESH et al., 2022; SUNG et al., 2021). Segundo os dados do INCA – Instituto Nacional do Câncer (<https://inca.gov.br/>), no Brasil estima-se 483 mil novos casos de câncer no triênio de 2023 a 2025, excluindo os casos de câncer de pele não melanoma. Espera-se um crescimento exponencial em 50% de novos casos no mundo até 2040, resultando em uma taxa de incidência significativa de aproximadamente 28,4 milhões (SUNG et al., 2021a). O câncer de mama (CM) destaca-se entre aqueles que mais preocupam a população mundial, superando o câncer de pulmão em incidência e atingindo 2,3 milhões de novos casos (11,7%) (BARRIOS, 2022; GRABINSKI; BRAWLEY, 2022). O câncer colorretal (CCR) representa 10% dos casos de câncer diagnosticados em todo o mundo, afetando principalmente homens (MORGAN et al., 2023).

Considerado um problema mundial de saúde (BRAY et al., 2018), o câncer afeta sobretudo países pobres e com poucos recursos (PRAMESH et al., 2022) sendo a principal causa de morte no mundo e um forte dilema para o aumento da expectativa de vida em todos os países (PRAMESH et al., 2022). Esses dados refletem o envelhecimento, o crescimento populacional e o desenvolvimento socioeconômico que, em suma, propiciaram a mudança na prevalência e distribuição dos principais fatores de risco para o câncer (XIA et al., 2022). Os principais fatores de risco incluem a história familiar de câncer, idade, tabagismo, obesidade, exposição a substâncias químicas e radiação, dieta pouco saudável e infecções virais (LEWANDOWSKA et al., 2019). A redução à exposição a esses fatores de risco pode ajudar a diminuir o risco geral de desenvolver a doença (GINSBURG et al., 2017; XIA et al., 2022). Deste modo, é de extrema importância o rastreamento da doença para a sua prevenção e diagnóstico precoce (GINSBURG et al., 2017; XIA et al., 2022).

O câncer é resultante do acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas (LEWANDOWSKA et al., 2019; TAKESHIMA; USHIJIMA, 2019). Essas alterações se manifestam como aberrações cromossômicas ou em genes particulares, as quais contribuem para a instabilidade genética (TAKESHIMA; USHIJIMA, 2019). O câncer pode ser classificado em esporádico ou hereditário. Dentre esses, os esporádicos são a maioria, e os provenientes de variantes herdadas representam 5 a 10% dos casos (AKCAY et al., 2021a). As

síndromes de predisposição hereditária ao câncer (SPHC) podem ser explicadas pela presença de alterações na linhagem germinativa de genes envolvidos na regulação do ciclo celular, no sistema de reparo a erros do DNA e apoptose, entre outros (AGAOGLU; DOGANAY, 2021; CAPELLINI et al., 2021a; CAVAILLÉ et al., 2021). As SPHC são frequentemente caracterizadas por alterações genéticas que aumentam o risco de indivíduos de uma mesma família apresentarem determinados tipos tumorais. São características dos portadores de SPHC: a presença de câncer em idade jovem, histórico familiar de câncer, membros da família e caso índice (probando) apresentarem variantes patogênicas em genes supressores tumorais de alta penetrância (linhagem germinativa) e risco aumentado de desenvolvimento de múltiplos tumores (AGAOGLU; DOGANAY, 2021; VILLACIS et al., 2017b).

Dentre as SPHC mais estudadas e seus respectivos genes de alta penetrância estão incluídas a síndrome do Câncer de Mama e Ovário Hereditários (HBOC), caracterizada por variantes patogênicas principalmente nos genes *BRCA1* e *BRCA2* (FANALE et al., 2022; YOSHIDA, 2020). Estes dois genes são classificados como supressores tumorais estão envolvidos em aspectos fundamentais do metabolismo celular, como o reparo de danos ao DNA, a regulação da expressão genética e o controle do ciclo celular (PETRUCCELLI; DALY; PAL, 1993). O gene *BRCA1* está mapeado no braço longo do cromossomo 17 (17q21) e codifica uma proteína com 1863 aminoácidos (CORNELISSE; CORNELIS; DEVILEE, 1996). Sua principal função é reparar o DNA por meio da recombinação homóloga por excisão de nucleotídeos, além de regular o ciclo celular (CORNELISSE; CORNELIS; DEVILEE, 1996). Devido a mutações ou inativação epigenética sua expressão é reduzida promovendo a diferenciação alterada da glândula mamária e aumentado risco de desenvolvimento de câncer de mama. Este supressor tumoral presente em todas as células é essencial para a manutenção da integridade do genoma (CORNELISSE; CORNELIS; DEVILEE, 1996). Por sua vez, o gene *BRCA2* está mapeado no braço longo do cromossomo 13 (13q12.3) e codifica uma proteína com 3428 aminoácidos (WOOSTER et al., 1994). O produto proteico do *BRCA2* interage com a proteína RAD51 para reparar as quebras na dupla fita de DNA (CRUZ et al., 2018). As mutações no gene *BRCA* são transmitidas por herança autossômica dominante (BARETTA et al., 2016). A potencialidade carcinogênica pode surgir em células germinativas quando ambas as cópias destes genes supressores, *BRCA1* e *BRCA2*, perdem sua função devido a mutações na linhagem germinativa, seguidas por um segundo evento que silencia o gene (KOTSOPOULOS, 2018). Quando esses genes perdem sua função, eles são incapazes de controlar o ciclo celular, estimular o sistema de reparo ou a apoptose, o que pode levar a efeitos carcinogênicos (BARETTA et al., 2016; KOTSOPOULOS, 2018).

Outros exemplos de SPHC incluem a Síndrome de Lynch (SL), a Polipose Adenomatosa Familiar (FAP) e a Síndrome de Li-Fraumeni (LFS). A SL está associada ao risco de desenvolvimento de tumores colorretais e é caracterizada pela presença de variantes patogênicas em genes do sistema de reparo a erros de pareamento do DNA (MMR – *Mismatch Repair*) (para revisão, YU et al., 2017). Os principais genes envolvidos nessa condição incluem *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* e *EPCAM*. A FAP está associada a variantes no gene *APC*, o qual é responsável por codificar uma proteína que regula a replicação do DNA e a divisão celular (para revisão, CAPELLINI et al., 2021b; LI et al., 1988; NICHOLS et al., 2001; PIOMBINO et al., 2020). A Síndrome de Li-Fraumeni (LFS) tem herança autossômica dominante e alta penetrância, e é caracterizada por variantes patogênicas no gene *TP53* (LI et al., 1988). O *TP53* é um supressor tumoral, responsável por codificar a proteína p53 que desempenha um papel crítico na regulação do crescimento e divisão celular, monitorando os danos ao DNA e iniciando o reparo ou induzindo a morte celular se o dano não for passível de reparo (HASSIN; OREN, 2023). Em células saudáveis a proteína induz a expressão dos genes *GADD45*, *WAF1/p21/CIP1*, *cyclinG*, *Bax* e *MDM2* que regulam a parada do ciclo celular e a apoptose (HONDA; TANAKA; YASUDA, 1997). Além disso, os níveis de proteína p53 são mantidos baixos por meio da degradação proteossômica constitutiva, instruída pelo MDM2, que é o principal inibidor de p53 (HONDA; TANAKA; YASUDA, 1997). A função da p53 pode ser interrompida devido a mutações no gene *TP53*, levando ao surgimento de diversos tipos de câncer (DE ANDRADE et al., 2021). As variantes de *TP53* podem ser agrupadas em três categorias principais com base em suas consequências funcionais: 1) variantes que levam à perda de função (LOF) e resultam em haploinsuficiência; 2) variantes que conferem ganhos de função (GOF); e 3) variantes que comprometem as atividades de transativação e apresentam efeito dominante negativo (DE ANDRADE et al., 2021). Tumores que possuem mutações no *TP53* tendem a se desenvolver mais rapidamente, responder inadequadamente aos tratamentos antitumorais e apresentar um prognóstico desfavorável (HU et al., 2021a). Assim, a utilização de terapias direcionadas ao *TP53* é uma estratégia promissora no combate ao câncer (OLIVIER; HOLLSTEIN; HAINAUT, 2010).

Embora muitos pacientes se enquadrem nos critérios clínicos das SPHC, um número significativo não apresentam variantes patogênicas nos genes de alta penetrância ou em genes já descritos anteriormente como associados a tais síndromes (GARBER; OFFIT, 2005a; VILLACIS et al., 2017b). Este fato dificulta o diagnóstico preciso de um câncer hereditário (GARBER; OFFIT, 2005b). Estudos apontam que cerca de 30% dos pacientes com LFS não possuem variantes no gene *TP53* (VARLEY et al., 1997). Em um estudo envolvendo 2.365

indivíduos, pertencentes a 116 famílias brasileiras distintas com suspeita de SL, 61,2% dos casos não apresentaram variantes nos genes de reparo a erros de pareamento (CARNEIRO DA SILVA et al., 2015). Em um estudo com 21.401 famílias alemãs, aproximadamente 76% dos pacientes analisados com HBOC não apresentaram variantes patogênicas nos genes *BRCA1* e *BRCA2* (KAST et al., 2016). Os avanços na tecnologia de sequenciamento têm permitido a identificação de variantes funcionais em outros genes associados ao risco de desenvolvimento das SPHC. Estes achados contribuem para o aconselhamento genético e adoção de medidas de rastreamento precoce, os quais permitem o desenvolvimento de estratégias de redução de risco mais efetivas (FELICIO et al., 2021) a fim de detectar o tumor em estágio inicial e, assim, receber o tratamento adequado (HUANG et al., 2021).

1.1. Câncer de Mama e Ovário Hereditário (HBOC)

O câncer de mama é considerado um desafio mundial de saúde (WILKINSON; GATHANI, 2022). Com aproximadamente 2,26 milhões de novos casos diagnosticados em 2020, é a principal causa de morte por câncer em mulheres (WILKINSON; GATHANI, 2022). Isso se explica pela alta complexidade e heterogeneidade relacionados aos aspectos etiológicos, fatores de risco e prognóstico da doença (TRAPANI et al., 2022).

O risco de desenvolver câncer de mama ao longo da vida é influenciado por diversos fatores, como mencionado por Vegunta et al. (2022). O risco aumenta à medida que as mulheres envelhecem. Mulheres com história familiar de câncer de mama, especialmente aquelas com mãe, irmã ou filha diagnosticada com a doença, têm um risco aumentado de desenvolvê-la. A história pessoal de câncer de mama também revela que mulheres que tiveram câncer de mama em uma das mamas têm maior risco de desenvolvê-lo na mama contralateral ou de um novo tipo tumoral na mesma mama. Além disso, a presença de variantes em genes de alta penetrância, principalmente, *BRCA1* ou *BRCA2*, podem aumentar significativamente o risco de câncer de mama. Outros fatores incluem a terapia de reposição hormonal com estrogênio e progesterona por um período prolongado, etilismo e excesso de peso ou obesidade, especialmente após a menopausa (pode aumentar o risco de desenvolvimento de câncer de mama triplo-negativo) (RAYCHAUDHURI et al., 2023) (BODEWES et al., 2022; VEGUNTA et al., 2022).

A identificação de mulheres com alto risco de câncer de mama e sua triagem, como exames complementares de imagem regulares (mamografia e ressonância magnética), cirurgia profilática e outras opções de manejo, como mudanças no estilo de vida, é de extrema importância para prevenir a morbidade e mortalidade relacionadas a esta doença (GREEN, 2022; VEGUNTA et al., 2022). Esse processo se torna ainda mais crucial considerando que

50% das mortes associadas ao câncer de mama ocorrem em mulheres com menos de 50 anos (VEGUNTA et al., 2022).

Aproximadamente 15% dos pacientes com câncer de mama tem histórico familiar de câncer de mama e/ou ovário (PETRUCELLI; DALY; PAL, 2022). A HBOC é hereditária e associada a um aumento do risco de desenvolvimento do câncer de mama e ovário, principalmente antes dos 50 anos (PETRUCELLI; DALY; PAL, 2022). Os principais critérios propostos pela NCCN (*National Cancer Institute*; <https://www.nccn.org/>) para identificar indivíduos com HBOC estão descritos no Apêndice (**Tabela Suplementar 1**). A HBOC associada aos genes *BRCA1* e *BRCA2* tem herança autossômica dominante, penetrância incompleta e expressividade variável (PETRUCELLI; DALY; PAL, 2022). Além das variantes patogênicas de alta penetrância conhecida nestes genes, variantes em outros genes de moderada ou baixa penetrância podem aumentar o risco de desenvolvimento do câncer de mama e/ou ovário (para revisão, FANALE et al., 2022). Pacientes que se enquadram nos critérios da síndrome HBOC, mas são negativos para variantes patogênicas em *BRCA1* e *BRCA2*, podem apresentar variantes em genes já descritos em síndromes associados a outros cânceres hereditários, incluindo a síndrome de Li-Fraumeni (predisposição ao carcinoma de tecidos moles, osteossarcoma, tumores do sistema nervoso, carcinomas adrenocorticais, leucemia, entre outros), síndrome de Cowden (múltiplos hamartomas, tumores da tireoide, carcinomas de útero), e a síndrome de Lynch (carcinoma colorretal, útero, pâncreas, cérebro, trato gastrointestinal e sistema tegumentar, entre outros) (LYNCH et al., 1991; PIOMBINO et al., 2020; YOSHIDA, 2020).

São conhecidos mais de 30 genes relacionados com a predisposição hereditária aos tumores de mama (para revisão, FANALE et al., 2022). Dentre estes encontram-se os de alta penetrância (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *CDH1*, *PTEN* e *STK11*), moderada (*PALB2*, *CHEK2*, *ATM* e *RECQL*) e baixa penetrância (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *MEN1* e *PPM1D*) (AKSOY et al., 2022; MOLINA-ZAYAS et al., 2022). Entre os 30 genes citados, 12 (penetrância alta e moderada) foram estabelecidos pelas duas principais fontes oficiais de dados que definem a relevância clínica de genes e variantes, o *Clinical Genome Resource* (ClinGen) (LIU et al., 2020; WANG et al., 2021b) e NCCN (WANG et al., 2018; YOSHIDA, 2020).

Em um estudo recente, Felicio et al. investigaram a presença de variantes germinativas em 52 mulheres que preenchiam os critérios para HBOC, mas não apresentavam alterações nos genes *BRCA1*, *BRCA2* e *TP53* (FELICIO et al., 2021). Os autores identificaram variantes comumente descritas em pacientes como câncer colorretal hereditário (*CHEK2*, *RAD51C* e *PMS2*) e concluíram que estes genes podem estar relacionados ao desenvolvimento do câncer

de mama e ovário hereditários.

Em um estudo realizado em 552 pacientes americanos (Califórnia, EUA) com alto risco para HBOC, não afetados e sem a presença de variantes nos genes *BRCA1/BRCA2*, foram identificadas variantes patogênicas em *PALB2*, *ATM*, *CHEK2* e outros genes referidos coletivamente como de alto risco não-*BRCA* (POWELL et al., 2022). Os dados de 11.388 pacientes do Samsung Medical Center, Coreia do Sul, foram utilizados para comparar o prognóstico de pacientes HBOC de alto risco para o câncer de mama (com base na história pessoal ou familiar) negativos para mutações *BRCA1/BRCA2* com aqueles com câncer de mama esporádico sem fator de risco para HBOC (RYU et al., 2020). O grupo de alto risco de HBOC negativos para variantes em *BRCA* apresentaram um prognóstico pior quando comparado com o grupo de câncer de mama esporádico. Esses dados demonstram a importância de considerarmos fatores adicionais além das mutações *BRCA* na avaliação do risco e prognóstico do câncer de mama (RYU et al., 2020).

Kurian et al. sequenciaram o DNA da linhagem germinativa de 198 mulheres indicadas para teste genético em *BRCA1/BRCA2* utilizando um painel de genes. Os autores relataram que 174 pacientes apresentavam CM e 57 delas tinham variantes germinativas nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Entre as 141 pacientes sem mutações em *BRCA1/BRCA2*, foram identificadas 16 variantes patogênicas nos genes *ATM*, *BLM*, *CDH1*, *CDKN2A*, *MUTYH*, *MLH1*, *NBN*, *PRSS1* e *SLX4*. Os autores relataram que a presença de variantes específicas em genes relacionados ao CCR permitiu a detecção precoce e retirada de um adenoma tubular por colonoscopia. Além disso, o estudo contribuiu para a modificação do tratamento em 15 pacientes (KURIAN et al., 2014).

Um estudo recente com 20.110 pacientes portadores de diferentes tipos tumorais sugeriu que o câncer de mama pode fazer parte do espectro tumoral de SL, juntamente com o câncer colorretal e outros cânceres associados à SL (SCHWARTZ et al., 2022). Os autores identificaram 13 pacientes com câncer de mama primário (5%) que atendiam aos critérios para SL e apresentavam variantes patogênicas em *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*. Os autores propuseram que o câncer de mama pode ser impulsionado pelos mesmos mecanismos genéticos que levam a outros tumores associados a SL (SCHWARTZ et al., 2022).

1.2. Câncer Colorretal Hereditário

O câncer colorretal apresenta alta morbidade e mortalidade (ZYGULSKA; PIERZCHALSKI, 2022). As taxas de incidência e mortalidade tem diminuído em adultos com mais de 50 anos, podendo estar relacionado ao rastreamento clínico, tratamento precoce e com drogas alvo-específicas e hábitos saudáveis (OLKINUORA et al., 2021; ZENG et al., 2022). Em contraste, as taxas de incidência aumentaram na população mais jovem, acometendo indivíduos com menos de 50 anos (12,9 por 100.000 em 2018) (BELTRAMI et al., 2022; OLKINUORA et al., 2021; ZENG et al., 2022). O aumento dos casos de CCR em indivíduos jovens pode ter contribuído para o aumento da incidência da doença, sendo o terceiro por câncer e o segundo em número de óbitos no mundo (LINDBERG et al., 2019; *Global Cancer Observatory*, 2020; SAWICKI et al., 2021). Estima-se que em 2035, o número total de mortes por CCR poderá crescer de 60% a 71,5% de acordo com o país (DHARWADKAR; ZAKI; MURPHY, 2022; MULLER et al., 2021).

Diversos fatores podem contribuir para o desenvolvimento do câncer colorretal. A história de um parente de primeiro grau (pais, irmãos ou filhos) com câncer colorretal ou pólipos e outras condições genéticas hereditárias (como a síndrome de Lynch ou polipose adenomatosa familiar -FAP) aumentam o risco de desenvolver a doença. A incidência de câncer colorretal aumenta com a idade, no entanto, tem se observado uma incidência crescente de câncer colorretal entre indivíduos com menos de 50 anos. A obesidade, (especialmente homens), dieta rica em carnes vermelhas e processadas, pobre em frutas e vegetais e rica em gorduras saturadas, a falta de atividade física, tabagismo e etilismo também são fatores de risco. Outros fatores incluem história de diabetes tipo 2 e doença inflamatória intestinal (colite ulcerativa e doença de Crohn). A incidência de câncer colorretal e as taxas de mortalidade são maiores em Afro-americanos e judeus Ashkenazi, portanto, a etnia tem sido considerada como fator de risco. A exposição à radiação, como a radioterapia no abdômen ou pelve para tratar outro tumor primário aumentam o risco de desenvolver câncer colorretal. Alguns dos fatores mencionados estão fortemente relacionados ao aparecimento de tumores em indivíduos jovens (<50 anos), incluindo etnia caucasiana, sexo masculino, histórico familiar de câncer colorretal em parentes de primeiro grau, hiperlipidemia, obesidade e etilismo. A triagem regular (atualmente recomenda-se iniciar aos 45 anos de idade) e a detecção precoce podem ajudar a reduzir o risco de desenvolver câncer colorretal e melhorar os resultados para aqueles que desenvolvem a doença (para revisão, SINICROPE, 2022).

A maioria dos cânceres colorretais é esporádico enquanto o câncer colorretal hereditário é responsável por 10% a 20% dos diagnósticos (AL-SUKHNI; ARONSON; GALLINGER,

2008; VALLE et al., 2019). Entretanto, 5% deles apresentam variantes germinativas patogênicas ou provavelmente patogênicas em genes de predisposição ao CCR (SCHUBERT et al., 2020; WONG et al., 2021). Os critérios utilizados para classificar um paciente como portador de um CCR hereditário, segundo as diretrizes do NCCN para Avaliação Genética/Familiar de Alto Risco: Colorretal (Versão: 2.2022) incluem: 1) o grau de parentesco entre os indivíduos em risco; 2) a idade em que os parentes de primeiro grau desenvolveram o câncer colorretal; 3) o número de familiares com diagnóstico de câncer colorretal; 4) co-ocorrência familiar de outras neoplasias (por exemplo, de endométrio, ovário, trato urinário e pâncreas), 5) história pessoal de outros tipos de câncer associados a síndromes hereditárias de câncer colorretal, como câncer de endométrio ou ovário. A comparação do risco para o desenvolvimento do CCR em pacientes com e sem histórico familiar para esse tumor, é em média, duas vezes maior quando há um parente de primeiro grau afetado (pais, irmãos e filhos) (SIEGEL et al., 2017).

O Grupo Internacional Colaborativo de HNPCC, denominado InSiGHT, (*International Society of Gastrointestinal Hereditary Tumors*) (VASEN et al., 1991), propôs critérios clínicos conhecidos como Critérios de Amsterdam, para orientar famílias com maior probabilidade de apresentar uma variante de linhagem germinativa em um dos quatro principais genes associados ao risco da doença, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2* (VASEN et al., 1991). Entretanto, esses critérios têm baixa sensibilidade, não permitindo identificar com exatidão famílias com poucos membros afetados ou sem histórico familiar (LI; LIU; WU, 2021). Permitem a identificação de aproximadamente 60% dos casos (MAO et al., 2021). Em 1997, foram estabelecidas novas diretrizes denominadas de Critérios de Bethesda (RODRIGUEZ-BIGAS et al., 1997). Em 1999, os Critérios de Amsterdam foram modificados pelo InSiGHT (Amsterdam II) considerando a presença de tumores extra-colônicos, o que aumentou para 80% a sensibilidade de detecção da doença (SLII) (**Tabela Suplementar 2**) (VASEN et al., 1999). O NCCN também propôs critérios para classificar os pacientes com SL. As diretrizes mais atuais (2020) associadas à classificação de pacientes com SL, podem ser encontradas na **Tabela Suplementar 3**.

A SL pode ser dividida em dois subtipos, I e II. No subtipo I o CCR ocorre isoladamente, enquanto no subtipo II o CCR pode estar associado a outras neoplasias, como o câncer de mama, ovário, endométrio, estômago, intestino delgado, pâncreas, ureter e pelve renal (SHUSSMAN; WEXNER, 2014). De modo geral, pacientes com SL apresentam cerca de 20% de risco de desenvolver CCR aos 50 anos e 80% aos 85 anos, sendo detectado em média aos 44 anos, 20 anos antes do diagnóstico de CCR esporádico (MAO et al., 2021; PATEL et al., 2021; WIN et al., 2021).

A FAP também apresenta um padrão de herança autossômico dominante e é causada por mutações germinativas no supressor tumoral *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*) (SCHUBERT et al., 2020). Na adolescência, indivíduos com FAP podem desenvolver numerosos pólipos de cólon, apresentando alto risco da maioria deles se tornarem malignos (YANG et al., 2020). Por ser uma doença silenciosa, acredita-se que quase todos os pacientes com FAP que não buscam auxílio médico, serão diagnosticados com CCR antes de 35 a 40 anos (SHUSSMAN; WEXNER, 2014). Desse modo, os critérios de classificação auxiliam na identificação de portadores de síndromes de cânceres hereditários e permitem uma maior vigilância, gerenciamento e otimização da redução no risco de progressão da doença (VILLACIS et al., 2017).

As duas síndromes hereditárias mais comuns que podem propiciar o desenvolvimento do CCR são: Câncer Colorretal Hereditário não Poliposo (HNPCC) ou também conhecido como a síndrome de Lynch (LYNCH et al., 1991) e a Polipose Adenomatosa Familiar (MILLER; SWEET, 1937). A SL é responsável por 2% a 4% de todas as neoplasias colorretais, ou seja, um em cada 35 pacientes (MAO et al., 2021), tem caráter autossômico dominante e é causada por mutações germinativas em genes responsáveis pelo reparo a erros de pareamento (MMR), principalmente *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*. Outros genes que também estão associados a SL são: *MLH3*, *TGBR2*, *PMS1* e *EPCAM* (ROBERTS et al., 2018; TAPIAL et al., 2019). Foram descritas na SL grandes deleções no gene *EPCAM*, o qual codifica uma molécula de adesão celular epitelial que silencia a expressão de *MSH2* (LI et al., 2021a). Indivíduos com SL são portadores de um alelo funcional e um não funcional de um determinado gene MMR devido a uma mutação herdada (LI et al., 2021a). O indivíduo tem um risco aumentado para desenvolver o câncer na presença de um alelo mutado (LI et al., 2021a; OUTTALEB et al., 2021). Outra condição que predispõe a múltiplos adenomas colorretais é a polipose associada a *MUTYH* (MAP), que é uma doença autossômica recessiva (NIEUWENHUIS et al., 2012). No entanto, algumas famílias atendem aos critérios Amsterdam II, mas não manifestam defeitos nas proteínas MMR nem apresentam variantes P/LP nos genes MMR, *APC* ou *MUTYH* (URSO et al., 2021). Esta condição particular é definida como Câncer Colorretal Familiar Tipo X (FCCTX).

Os genes *POLE*, *POLD1* e *NTHL1* codificam proteínas envolvidas na replicação do DNA e foram recentemente reconhecidos como genes de predisposição hereditária ao câncer, pois suas alterações estão associadas ao câncer colorretal e outros tumores. A síndrome associada a *POLE/POLD1* tem herança autossômica dominante, enquanto a síndrome associada a *NTHL1* segue um padrão autossômico recessivo. Apesar da prevalência de variantes

germinativas patogênicas monoalélicas em *POLE/POLD1* e bialélicas em *NTHL1* ser baixa, elas determinam diferentes fenótipos com um amplo espectro tumoral que se sobrepõe a outras condições hereditárias como a Síndrome de Lynch ou FAP (MAGRIN et al., 2021).

O gene *NTHL1* foi associado a predisposição a vários tipos de câncer (KUIPER; HOOGERBRUGGE, 2015), incluindo câncer colorretal, de mama, endométrio e ovário (DROST et al., 2017; KUIPER et al., 2020). A proteína NTHL1 (do inglês, endonuclease III-like 1) está envolvida no reparo do DNA, especificamente na via de reparo por excisão de bases, responsável por corrigir danos ao DNA causados por modificações químicas, estresse oxidativo ou radiação ionizante (KUIPER et al., 2020). Atua como uma glicosilase de DNA, o que significa que ela reconhece e remove bases de DNA danificadas ou incorretas (KUIPER et al., 2020). Variantes patogênicas bialélicas germinativas no gene *NTHL1* estão associadas à síndrome de predisposição autossômica recessiva, também conhecida como síndrome *NTHL1* ou polipose associada a *NTHL1* (BECK et al., 2022). Essa síndrome é caracterizada pelo desenvolvimento de múltiplos pólipos adenomatosos no cólon e no reto (BECK et al., 2022). A expressão aumentada de *NTHL1* em células humanas resulta em um aumento no dano ao DNA e instabilidade genômica, além de características celulares precoces para o desenvolvimento do câncer, como aumento da expectativa celular e crescimento independente de ancoragem (LIMPOSE et al., 2018).

Chang et al., relataram uma alta porcentagem de variantes germinativas em 30 genes em pacientes com pólipos colorretais esporádicos e CCR comparados com a população em geral (CHANG et al., 2020). Foram detectados nove pacientes com sete variantes diferentes em seis genes relacionados à via de reparo de DNA (*MLH1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *BLM* e *NTHL1*). Um paciente saudável apresentou uma variante *frameshift* em *BRCA2* enquanto dois pacientes que apresentavam pólipos colorretais apresentaram uma variante *frameshift* no gene *CHEK2*. Um paciente jovem com CCR esporádico foi identificado como portador de variantes heterozigotas nos genes *MLH1* e *BRCA1* (CHANG et al., 2020).

Relatos em literatura indicam que alguns pacientes podem ser portadores de variantes germinativas concomitantes que podem aumentar o risco de câncer. Em um estudo recente foi relatado um paciente de 20 anos diagnosticado com CCR hereditário e variantes germinativas concomitantes em *APC* e *BRCA1*, de origem materna e paterna, respectivamente (HUANG et al., 2021). Mur et al. descreveram a co-ocorrência da variante patogênica *ATM* c.7220C>A e a VUS no gene *POLD1* c.1573C>T em um paciente com CCR e em três mulheres com câncer de mama em idade precoce, sugerindo um efeito cumulativo das duas alterações (MUR et al., 2020).

1.3. Câncer de Mama e Colorretal Hereditários

Indivíduos portadores de uma síndrome de câncer hereditário apresentam maior risco de desenvolver um segundo tumor primário (DASH et al., 2021; HALAMKOVA et al., 2021). Portanto, a identificação precoce desses pacientes após um diagnóstico inicial de câncer é de extrema importância para a implementação de estratégias direcionadas para minimizar os riscos de um segundo tumor primário (HALAMKOVA et al., 2021).

Os segundos tumores primários mais frequentes no ocidente são: câncer de pele não melanoma, câncer colorretal e câncer de mama (LIU et al., 2011). Molina-Montes et al. analisaram 24 estudos envolvendo mais de 1,5 milhão de sobreviventes de câncer de mama (MOLINA-MONTES et al., 2015). Os autores relataram que pacientes com câncer de mama têm um risco 1,21 vezes maior de desenvolver câncer colorretal em comparação com a população em geral (MOLINA-MONTES et al., 2015). Esse risco é ainda maior para os pacientes que receberam radioterapia como parte do tratamento do câncer de mama, com um risco 1,59 vezes (MOLINA-MONTES et al., 2015). Outros fatores associados a um risco aumentado de desenvolver o câncer colorretal após um câncer primário de mama incluem idade mais jovem ao diagnóstico de câncer de mama, maior tempo de acompanhamento e histórico familiar de câncer colorretal (MOLINA-MONTES et al., 2015).

O tempo médio desde o diagnóstico de CM até o desenvolvimento do CCR foi estimado em 8 a 9 anos (DASH et al., 2021). Alguns estudos também identificaram um risco elevado de pacientes com câncer colorretal, especialmente mulheres, desenvolverem um segundo tumor primário de mama (AGARWAL et al., 1986; EVANS et al., 2002; HALAMKOVA et al., 2021; KHALIL; CECCARELLI, 2009).

Meijers-Heijboer et al. (2003) e Naseem et al. (2006) estabeleceram os critérios para a síndrome do câncer de mama e colorretal hereditários (HBC). Os critérios estabelecidos por Meijers-Heijboer et al. (2003) incluem a presença de pelo menos dois parentes de primeiro ou segundo grau da paciente-índice serem diagnosticados com câncer de mama antes dos 60 anos de idade, além de preencherem pelo menos um dos seguintes critérios: 1) um indivíduo diagnosticado com câncer de mama ou cólon em qualquer idade; 2) um indivíduo com CCR diagnosticado antes dos 50 anos de idade e um parente de primeiro ou segundo grau do paciente com câncer de mama; 3) pelo menos dois indivíduos diagnosticados com CCR em qualquer idade e um parente de primeiro ou segundo grau do paciente com câncer de mama (MEIJERS-HEIJBOER et al., 2003a). Meijers-Heijboer et al. analisaram famílias com múltiplos casos de CM que desenvolveram também CCR (MEIJERS-HEIJBOER et al., 2003b). Os autores relataram que 18% (10/55) dos familiares preenchiam critérios HBCC e 4% (15/380) sem

HBCC apresentaram a mutação 1100delC no gene *CHEK2*. O gene *CHEK2* atua na via metabólica de reparo do DNA e na transdução do sinal para as proteínas de reparo do DNA (LEE et al. 2000; WEISCHER et al. 2008; STRACKER et al. 2009). Variantes germinativas em *CHEK2* conferem um risco aproximado de 20% para CM, e aumento de 3,5 vezes para um segundo CM (BORDE et al., 2021).

Os critérios descritos por Naseem et al. para HBCC incluem: 1) indivíduo diagnosticado com câncer de mama e cólon em qualquer idade, além de um caso adicional desses tumores em familiares de primeiro ou segundo grau; ou 2) presença de um indivíduo diagnosticado com CCR antes dos 50 anos de idade e um membro da família diagnosticado com câncer de mama antes dos 50 anos de idade ou dois parentes com câncer de mama diagnosticado em qualquer idade; ou 3) história de dois indivíduos diagnosticados com CCR em qualquer idade e pelo menos um membro da família diagnosticado com câncer de mama antes dos 50 anos de idade ou dois casos de câncer de mama diagnosticados em qualquer idade (NASEEM et al., 2006). Variantes germinativas nos genes *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2*, *BRCA1* e *BRCA2* foram descritas em pacientes que preenchem os critérios da síndrome HBCC (NASEEM et al., 2006). Os autores concluíram que variantes germinativas nestes genes podem contribuir para o risco aumentado no desenvolvimento do câncer de mama ou cólon nos familiares dos pacientes (NASEEM et al., 2006).

Um estudo prospectivo composto por 7.015 mulheres portadoras da mutação *BRCA1/BRCA2* com ou sem histórico de câncer de mama ou ovário mostrou que pacientes com variantes germinativas em *BRCA1* apresentaram maior risco de desenvolver câncer colorretal antes dos 50 anos de idade (PHELAN et al., 2014). Por outro lado, não foi observado o mesmo risco nas pacientes portadoras de *BRCA2*.

Villacis e colaboradores revisaram os dados disponíveis de 267 pacientes que apresentavam SPHC submetidos a aconselhamento genético (VILLACIS et al., 2017). Desses, foram selecionados 22 pacientes que apresentaram múltiplos tumores primários (MTP), incluindo CM e CCR, 20 apresentavam histórico familiar de câncer e 11 preenchem os critérios clínicos para SPHC. Destes 11 pacientes, os autores identificaram 17 CNVs germinativas raras que englobaram 40 genes, incluindo um paciente com SL que apresentou deleção *EPCAM/MSH2*. Foram também identificados 14 casos com CNVs e/ou cnLOH (*copy number loss of heterozygosity*) raras que potencialmente conferem aumento de risco para o desenvolvimento de MTP (VILLACIS et al., 2017). A cnLOHs, um tipo especial de LoH (*loss of heterozygosity*), refere-se a perda de heterozigose sem perdas do número de cópias de determinado gene (KRYH et al., 2011). Esse fenômeno pode ocorrer em três situações: 1) um

evento tumoral adquirido em que a perda de uma cópia de um cromossomo ou segmento cromossômico é compensada pela duplicação do outro alelo, resultando em uma situação homozigótica; 2) descendência idêntica, em que duas cópias idênticas de uma determinada região são herdadas independentemente devido a pais intimamente relacionados; 3) dissomia uniparental, em que ambas as cópias são derivadas do mesmo progenitor, como nas síndromes de Prader Willi e Angelman (KRYH et al., 2011).

Em um estudo recente, Akcay et al., investigaram variantes germinativas patogênicas em 732 pacientes com CM, 189 com CCR e 490 idosos sem câncer como controle. Foram detectadas variantes patogênicas de alto risco em 17,2% dos pacientes com CM e 26,4% dos pacientes com CCR. Mais de 95% dessas variantes eram clinicamente acionáveis. Dois terços de todas as variantes patogênicas foram detectadas nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2* e *MSH6* em pacientes com CM e CCR. Foram também identificadas variantes patogênicas nos genes *PALB2*, *CHEK2*, *ATM* e *TP53*, as quais foram prevalentes em 4,5% dos pacientes com CM (AKCAY et al., 2021).

Indivíduos pertencentes a famílias com CCR, CM ou câncer de endométrio devem ser testados geneticamente para possíveis alterações germinativas nos genes *POLE/POLD1* (HAMZAOUÏ et al., 2020) além daqueles comumente descritos como associados com estes tumores. Devido à possível co-ocorrência de outros tipos de câncer em pacientes com CCR familiar, recomenda-se a investigação de alterações germinativas P/LP nestes genes em todos os indivíduos suspeitos de serem portadores da síndrome de câncer familiar.

1.4. Sequenciamento Total do Exoma em Pacientes com Câncer de Mama e Colorretal

Os avanços nas técnicas de sequenciamento permitiram progressos significativos na oncogenômica, especialmente no estudo de mutações somáticas em tumores (DIJK et al., 2018; XIAO et al., 2021). Apesar da queda considerável nos custos, o sequenciamento de todo o genoma ainda tem custo elevado para a identificação rotineira de variantes raras e novas em grandes coortes (XIAO et al., 2021). É nesse contexto que a técnica de sequenciamento total do exoma (SET) (do inglês, *whole exome sequencing*) foi introduzida, como uma opção mais econômica, reprodutível e robusta para a identificação de variantes que afetam a codificação de proteínas em genomas humanos individuais (BAMSHAD et al., 2011; SCHWARZE et al., 2018).

O SET é uma técnica avançada que permite aos pesquisadores sequenciar apenas as regiões codificadoras de proteínas do genoma, conhecida como exoma (NISAR et al., 2021). Apesar dos exons representarem apenas 2,5% do genoma humano, contêm 85% das variantes

que estão relacionadas a doenças, tornando-se uma ferramenta poderosa amplamente utilizada na pesquisa e no diagnóstico clínico para identificar variantes genéticas em pacientes com doenças complexas como o câncer (para revisão, NISAR et al., 2021). A técnica envolve a captura seletiva de regiões codificadoras de proteínas usando sondas complementares, seguida pelo sequenciamento de DNA de alto desempenho (NGS) para gerar milhões de leituras curtas de DNA que são mapeadas em um genoma de referência para identificar variantes (NISAR et al., 2021).

Esteban-Jurado et al., sequenciaram o exoma de treze famílias não relacionadas com histórico de câncer colorretal (ESTEBAN-JURADO et al., 2015). Os pesquisadores encontraram variantes germinativas raras em vários genes que não haviam sido previamente associados à predisposição de câncer colorretal (ESTEBAN-JURADO et al., 2015). Esses resultados sugeriram que as novas variantes identificadas poderiam contribuir significativamente para o risco de câncer colorretal (ESTEBAN-JURADO et al., 2015). Em um estudo com 17 membros de uma mesma família de origem iraniana, pesquisadores identificaram por meio do SET, uma nova variante em *MLH1* (c.206delG) (GHAEDI et al., 2019). A descoberta confirmou a base genética da síndrome de Lynch na família, permitindo a implementação de estratégias personalizadas e direcionadas de rastreamento e prevenção do câncer (GHAEDI et al., 2019). No contexto do artigo de Park et al., o SET foi usado para identificar variantes raras no gene *RINT1* que podem aumentar o risco para câncer de mama e cânceres do espectro da síndrome de Lynch, como o câncer colorretal (PARK et al., 2014).

O sequenciamento do exoma tem facilitado cada vez mais a identificação de variantes de alta e média penetrância, resultando na proposição de novos genes candidatos relacionados as síndromes de predisposição hereditária ao câncer (ZHU et al., 2020). Um estudo envolvendo 155 pacientes diagnosticados com câncer de ovário, negativos para variantes germinativas em *BRCA*, revelou alguns genes que predispõem ao câncer de ovário como *POLE*, *EP300*, *BLM* e *BRIP1*, os quais foram previamente associados a outros tipos de câncer, como o câncer de mama e colorretal (ZHU et al., 2020).

O estudo conduzido por Dos Santos et al., investigou 20 pacientes com critérios clínicos para a síndrome de Lynch, mas sem variantes patogênicas de origem germinativa em genes relacionados ao MMR (DOS SANTOS et al., 2022). Esses pacientes apresentavam câncer colorretal, endometrial, ovário e estômago como tumor primário, sendo um dos pacientes diagnosticado com câncer de mama como segundo tumor primário (DOS SANTOS et al., 2022). Os autores identificaram variantes potencialmente patogênicas em genes relacionados ao câncer em 35% dos pacientes com síndrome de Lynch-like, incluindo uma variante

Gly396Asp em *MUTYH*, *ATM*, *STH18* e metilação em *MLH1* (DOS SANTOS et al., 2022). Essas variantes já foram descritas em câncer de mama e colorretal (DOS SANTOS et al., 2022). A variante Gly396Asp no gene *MUTYH* está associada a um risco aumentado de câncer colorretal (WIN et al., 2015), enquanto as variantes no gene *ATM* foram associadas a um risco aumentado de câncer de mama e colorretal (ZHUANG et al., 2021).

Em outro estudo, SET foi usado para investigar indivíduos com câncer colorretal familiar sendo descritas variantes germinativas raras em genes associados ao reparo do DNA e controle do ciclo celular, como *POLE* c.1270C>G (p.Leu424Val) e *POLD1* c.1433G>A (p.Ser478Asn) (PALLES et al., 2013a). Atualmente esses genes estão associados a um risco aumentado de desenvolver múltiplos tumores primários (MAGRIN et al., 2021).

A detecção de variantes genéticas associados ao CM e CCR têm implicações clínicas, podendo auxiliar na definição dos critérios para a aplicação de protocolos de rastreamento e acompanhamento médico para o paciente afetado e seus familiares.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Identificar as variantes associadas ou potencialmente relacionadas ao risco de desenvolvimento do câncer de mama e colorretal.

Objetivos Específicos

- Avaliar variantes genéticas germinativas identificadas por sequenciamento do exoma total em pacientes portadores de carcinomas de mama e/ou colorretal com história familiar de câncer;
- Investigar a presença das variantes encontradas nos probandos e nos familiares que aceitarem participar do estudo;
- Comparar os achados com bancos de dados públicos e com a literatura para consolidar a utilidade das alterações candidatas para o aconselhamento genético de pacientes e suas famílias.

3. PACIENTES E MÉTODOS

3.1. Pacientes

Foram incluídos neste estudo seis probandos selecionados de um estudo prévio do grupo (VILLACIS et al., 2017a), por apresentarem critérios para HBOC e serem negativos para variantes P/LP nos genes *TP53*, *BRCA1*, *BRCA*, *MLH1* e *MSH2*. Os familiares de três probandos foram também incluídos no estudo. Os membros das famílias e os pacientes-índices aceitaram participar do estudo e autorizaram o uso de suas amostras para a pesquisa. Todos os pacientes tiveram seu genoma analisado por sequenciamento do exoma total. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do AC Camargo Cancer Center e CONEP São Paulo, Brasil (CEP 2136/15).

Os dados clínicos e história familiar dos pacientes foram obtidos por meio de entrevistas pela equipe do Departamento de Oncogenética do A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brasil. Este estudo foi realizado em parceria com o Department of Clinical Genetics, University Hospital of Southern Denmark, Institute of Regional Health Research, University of Southern Denmark - SDU, Dinamarca.

A paciente-índice da família 1 tinha história pessoal de câncer de mama e colorretal seguindo os critérios para HBOC e HBCC, a paciente índice da família 2 tinha história de três tumores primários (câncer de mama, adenocarcinoma colorretal e um microadenoma de pituitária) preenchendo os critérios para HBOC, Síndrome Lynch e HBCC. A família 3 também apresentou critérios para HBOC, Síndrome de Lynch associada a síndrome do câncer colorretal hereditário (prima materna de segundo grau) e HBCC.

Outras três pacientes (11, 12 e 13) foram também investigadas por sequenciamento do exoma. A paciente 4 apresentou câncer de mama e adenocarcinoma colorretal, a paciente 5 tem história familiar de câncer de mama, colorretal, osteossarcoma e câncer de tireoide. A paciente índice 6 tem história de câncer de mama, colorretal e câncer de pâncreas. Ambas as três pacientes preencheram os critérios para HBOC e HBCC (MEIJERS-HEIJBOER et al., 2003a; NASEEM et al., 2006). A **Tabela 1** resume os dados dos pacientes-índice incluídos no estudo.

Tabela 1. Dados clínicos dos pacientes incluídos nesse estudo.

Pacientes	Critério SPHC Probando	Tumor primário do probando (idade diagnóstico, TNM, marcadores, tratamento, sítio metastático)	História familiar de câncer: parentesco (sítio anatômico, idade em anos ao diagnóstico)	Membros da família avaliados por SET
Pacientes 1-4 (Família 1)	HBOC ^a HBCC ^c	CCR (52, TxNxM0, AT, cirurgia +CT) CM (73 - esquerda, NI, carcinoma lobular in situ, cirurgia +CT), CM (77 - direita, TisN0M0, CDI-NE, ER+/PR+/HER2-, cirurgia +CT)	filha (CM, 54)* pai (CP, 70) irmão (CP, 60)* irmã (CM and OV, 60) irmã (CM, 66) sobrinho (hepatocarcinoma, 17) sobrinha (CM, 42) sobrinha (CM, 43)	Filha (Caso 2) CM; Filho (Caso 3) não afetado; Irmão (Caso 4) CP;
Pacientes 5-7 (Família 2)	HBOC ^a Síndrome Lynch ^b HBCC ^c	CM (47, ER+, PR+, HER-; direita, T1N1M0, CDI-NE, cirurgia + CT+RT), CCR (53, T4N0M0, AT, cirurgia) microadenoma de pituitária (59)	Avô materno (câncer laringe, 67) irmã (CE, 58) * tio materno (CCR, 65) tia materna (CCR, 70) prima materno (CM, 45) prima materno (CM, 50) prima materno (CE, 55)	Irmã (Caso 6) CE; Irmã (Caso 7) não afetada;
Pacientes 8-10 (Família 3)	HBOC ^a Síndrome de Lynch ^b : Prima materna segundo grau (CCR, 45) HBCC ^c	CM (36 - direita, T4N0M0, CDI-NE - ER+/PR+/HER2-, CT+RT), metástase óssea	Avó materna (CG, 70) Tia materna (CM, 54) Tio-avô materno (câncer pulmão, 65) Tio-avô materno (CCR, 87) Prima materna segundo grau (CM, 55) Tio-avô materno (CG, 28) Tio-avô materno (câncer ósseo, 73) Prima materna segundo grau (câncer ósseo, 26) Tio-avô materno (CG, 60) Tia-avó materna (CM, 80) Prima materna segundo grau (CCR, 45) Prima materna segundo grau (CM, 40)	Irmã gêmea (Caso 9) não afetada; Mãe (Caso 10) não afetada;

11	HBOC HBCC ^c	CM (64 - esquerda, T1N0M0, CDI-NE) CM (64 - direita, TxN1M0, adenocarcinoma, NI) CCR (71, TxNxMx, adenocarcinoma - reto, NI)	Irmã (CM, 68)	-
12	HBOC HBCC ^c	CM (55 - esquerda T2N2aM0, CDI-NE - ER+/PR-/HER2-, cirurgia +CT+RT) CM (55 - direita, T2N0M0, CDI-NE - ER+/PR+/HER2+, cirurgia +CT+RT) CCR (57, T3N2M0, AT, cirurgia +CT)	Irmã (CM, 40 e CCR, 48) Irmã (Câncer de Tireoide, 45) Tia materna (OS, 52)	-
13	HBOC HBCC ^c	CM (48 - Direita, TxN0M0, CDI-NE, cirurgia +CT+RT) CCR (56, T3N2M0, AT, cirurgia +CT)	Mãe (CM bilateral, NI) Irmã (CM, NI e câncer de pâncreas, NI) Prima materna (CCR, NI) Prima paterna (CM, NI) Prima paterna (CM, NI)	-

^a NCCN Guidelines Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic v2.2021

^b NCCN Guidelines Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal v1.2020

^c HBCC: câncer de mama e colorretal hereditários segundo a classificação de Meijers-Heijboer et al. (2003); Naseem et al. (2006).

* parente avaliado por sequenciamento de exoma

SPHC: síndrome de predisposição hereditária ao câncer, TNM: estadiamento do câncer (T: tamanho e extensão do tumor, N: número de linfonodos comprometidos, M: metástase), SET: sequenciamento total do exoma; HBOC: síndrome hereditária do câncer de mama e ovário, CM: câncer de mama, CP: câncer de próstata, OV: câncer de ovário, CE: câncer de endométrio, OS: osteosarcoma; CG: câncer gástrico, CCR: câncer colorretal; AT: adenocarcinoma tubular, CDI-NE: carcinoma de mama ductal invasivo tipo não específico, CT: quimioterapia, RT: radioterapia, NI: não informado; ER: receptor estrógeno, PR: receptor de progesterona; HER2: receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2.

3.2. Métodos

3.2.1 Extração de DNA

O DNA genômico obtido do sangue periférico foi extraído utilizando o Qiacube DNA Blood kit (Qiagen), segundo as recomendações do fabricante, e posteriormente armazenado a -20°C. O DNA foi quantificado no sistema NanoDrop ND 1000 (Thermo Fisher Scientific, USA)

e a sua qualidade verificada utilizando eletroforese em gel de agarose a 1,5%, conforme protocolos padrão.

Foram coletadas amostras de saliva dos membros de três famílias. Para a extração e purificação de DNA de amostras de saliva foi utilizado o protocolo prepIT•L2P (DNA Genotek, Ottawa, CAN), seguindo as recomendações do fabricante. Inicialmente, as amostras foram incubadas em banho-Maria a 50°C por 90 minutos. Em seguida, 20 µL de PTL2P foram adicionados em 500 µL de cada amostra. Após o vórtex, as amostras foram incubadas em gelo por 10 minutos e centrifugadas a 15000 rcf por 5 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo sendo adicionados 600 µL de etanol 100%. Após misturar por 10 vezes por inversão, as amostras foram incubadas a temperatura ambiente por 10 minutos para permitir a precipitação do DNA. Após essa etapa, o material foi centrifugado a 15000 rcf por 2 minutos. Cuidadosamente, o sobrenadante foi descartado e adicionados 250µL de EtOH 70% ao sedimento de DNA. Após incubação por 1 minuto em temperatura ambiente, foram adicionados 30 µL de solução Tris-EDTA ao sedimento de DNA. As amostras foram então mantidas em temperatura ambiente por oito horas, seguido por vórtex e quantificação. A qualidade do material extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1,5%. O DNA foi quantificado e sua integridade foi avaliada como descrita acima.

3.2.2 Sequenciamento do Exoma Total (SET)

Antes do sequenciamento, o DNA foi quantificado (Kit Qubit® dsDNA BR Assay, Qubit® 2.0 Fluorometer, Life Technologies) e sua integridade avaliada usando o ensaio Agilent Genomic DNA ScreenTape (Agilent, Santa Clara, CA). Para a construção das bibliotecas foi utilizado o kit Nextera Flex for Enrichment (Illumina, San Diego, CA), com a técnica de indexação dupla (dual-index), de acordo com as recomendações do fabricante. O protocolo inclui as seguintes etapas (1) fragmentação do DNA genômico, ligação e tagmentação de adaptadores, (2) purificação do produto tagmentado, (3) amplificação do DNA tagmentado, (4) purificação do produto amplificado pela PCR, (5) hibridação de sondas, (6) captura de sondas hibridadas, (7) amplificação das bibliotecas enriquecidas, (8) purificação do produto amplificado pela PCR.

A clusterização e o sequenciamento foram realizados no sequenciador NextSeq 500 (Illumina, San Diego, CA). Após a avaliação das bibliotecas, pools de oito amostras foram incluídos na *flowcell*, seguida pela amplificação clonal em fase sólida, o qual é totalmente

automatizada no sistema do NextSeq (**Figura 1**). O processo de sequenciamento é baseado em síntese e foi realizado na modalidade *paired-end*, onde os fragmentos são lidos em ambos os sentidos.

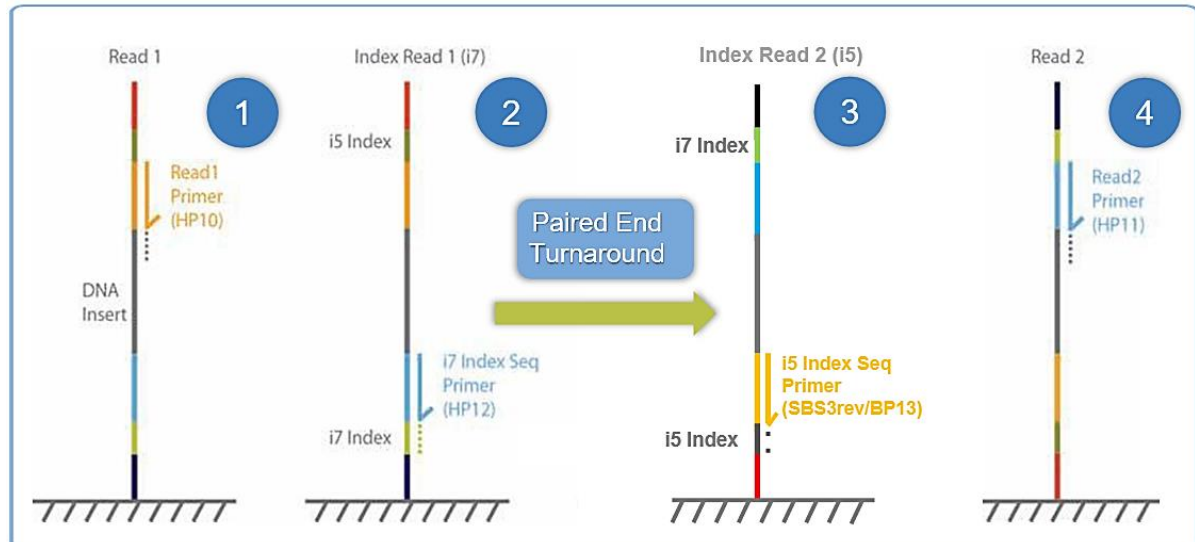


Figura 1. Esquema dos fragmentos de DNA ligados à *flowcell* no preparo para o sequenciamento no NextSeq (Illumina, San Diego, CA).

As sondas correspondentes às sequências contidas nos adaptadores estão localizadas na *flowcell* e são utilizadas na construção das bibliotecas, que funcionam como iniciadores na etapa de clusterização. Deste modo, as bibliotecas são agrupadas em diversos *clusters* contendo milhares de fragmentos de DNA de fita única. Na etapa de sequenciamento ocorre a amplificação desses fragmentos, porém os nucleotídeos incorporados possuem bases marcadas com fluoróforos, que durante a leitura correspondem a uma cor diferente de acordo com a base sequenciada. A cada ciclo uma base com fluoróforo é incorporada e a imagem do *cluster* é registrada, seguido da retirada do fluoróforo e o agente terminador da cadeia crescente de DNA para que um novo ciclo se inicie. À medida que cada base é incorporada à cadeia crescente de DNA, o *cluster* emite uma fluorescência correspondente à base e assim, sucessivamente até o completo sequenciamento dos fragmentos de 150 pares de base em corrida *paired-end* (o sequenciamento nos dois finais do fragmento gerando sequência de alta qualidade e que pode ser alinhada ao genoma de referência). Os sinais fluorescentes são lidos e interpretados por software específico, possibilitando a construção da sequência. Todos os procedimentos seguiram as recomendações do fabricante.

3.2.3 Análise dos Dados de Sequenciamento do Exoma

Após o sequenciamento, as bases foram nomeadas (*base-calling*) e os dados extraídos utilizando os programas SAV (*Software Analysis Viewer*: https://support.illumina.com/sequencing/sequencing_software/sequencing_analysis_viewer_sav.html) e CASAVA (https://support.illumina.com/sequencing/sequencing_software/casava.html). Em seguida, cada amostra foi identificada e separada dos pools de amostras sequenciadas (denominado de demultiplexação).

Os dados gerados a partir do sequenciamento foram analisados de acordo com o protocolo estabelecido pelo grupo de bioinformática (desenvolvido por Mads Malik Aagaard, Department of Clinical Genetics, Vejle Hospital, DK) e seguindo recomendações do Genome-Analysis-Toolkit (GATK - <http://software.broadinstitute.org/gatk/bestpractices>) e da literatura (DEPRISTO et al., 2011).

Após o pré-processamento (limpeza das *reads*, controle de qualidade, demultiplexação), os *reads* foram mapeados no genoma de referência humano UCSC hg19 utilizando o algoritmo de alinhamento BWA-MEM [disponível em <https://arxiv.org/abs/1303.3997> modificado do original (LI; DURBIN, 2009)], seguido de marcação dos *reads* duplicados (MarkDup - SAMBAMBA), e recalibragem e realinhamento das *reads* pelo GATK para a identificação (*variant call* - *HaplotypeCaller*) e anotação das variantes (VarSeq).

O software VarSeq 2.2.5 (Golden Helix) foi utilizado para a visualização e seleção de variantes germinativas. Foram filtradas (excluídas) variantes com *strand Bias-Fisher* (FS) < 50, qualidade dos genótipos (GQ) ≥ 40 e frequência do alelo variante no sequenciamento $\geq 0,2$. Foram também excluídas as variantes comuns na população geral cuja frequência do alelo variante > 0,01 nos bancos de dados (gnomAD Genomes, gnomAD Exomes e ABRaOM); as variantes classificadas como benignas ou possivelmente benignas pelo *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (RICHARDS et al. 2015) ou *Clinical Genome Resource* (ClinVar) (<https://www.clinicalgenome.org>). As variantes em regiões de homopolímeros com seis nucleotídeos repetidos ou mais foram excluídas das análises subsequentes. Todas as variantes de significado incerto (VUS) que possuíam características deletérias foram consideradas como potenciais candidatas, ou seja, aquelas preditas como levando a perda de função da proteína (LoF - *loss of function*), localizadas em sítio de *splicing* (ADA score > 0.6) (L, 2015), preditas como deletérias (CADD score > 3 ou por ≥ 2 de seis algoritmos de predição (SIFT Pred, Polyphen, MutationTaster, MutationTaster, MutationAssessor, FATHMM Pred e FATHMM MKL coding Pred) (RENTZSCH et al., 2019).

e aquelas consideradas patogênicas (P) ou potencialmente patogênicas (LP) pelo ACMG ou ClinVar. As CNVs genômicas foram obtidas utilizando a ferramenta CNV caller em regiões alvo identificadas pelo algoritmo do Golden Helix VarSeq v.2.2.5). Foram incluídas CNVs com $p\text{-value} < 0.001$ e excluídas variantes com uma frequência ≥ 0.01 do Database of Genomic Variants (DGV). A análise foi revisada em setembro de 2022 para a confirmação da classificação das variantes.

3.2.4 Comparação das variantes de significado incerto com os genes descritos no COSMIC e literatura

As variantes classificadas como VUS foram comparadas com o banco de dados do *Catalogue of Somatic Mutations in Cancer* (COSMIC) (<https://cancer.sanger.ac.uk/census>) e com dados da literatura. O COSMIC é um banco de dados que contém uma lista de alterações somáticas e germinativas frequentemente relatadas e sempre atualizadas quando novas evidências são publicadas. O COSMIC contém dados de 723 genes envolvidos em alterações germinativas descritas em cânceres.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sequenciamento total do exoma foi utilizado para investigar variantes germinativas em seis probandos e sete parentes de três famílias distintas, sendo eles dois homens e 11 mulheres. Foram identificadas 196.561 variantes (quantidade total dos 13 indivíduos), a cobertura média foi de 216,8x. Em média, 93,6% das bases apresentaram uma profundidade de cobertura maior que 30x e 79,1% de bases com profundidade de cobertura superior a 100X. Todos os probandos preenchiam os critérios clínicos da síndrome do câncer de mama e ovário hereditário (HBOC – NCCN *Guidelines Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic* v2.2021).

A classificação das variantes em termos de significância clínica, foi determinada pelo ACMG (RICHARDS et al. 2015) e ClinVar (<https://www.clinicalgenome.org>). Entre os treze indivíduos estudados, foram detectadas 2.165 variantes, classificadas como P, LP e VUS.

Foram detectadas cinco variantes patogênicas classificadas pelos critérios do ACMG, todos em membros da família 1 (*RPI*, *CHRNA1*, *SLCO1B3*, *SLCO1B3-SLCO1B7*, *ECHS1*). Os demais indivíduos testados não apresentaram variantes P. Considerando todos os indivíduos testados, foram identificadas 39 variantes LP (**Tabela 2**) e 2.121 VUS. Todos os indivíduos apresentaram VUS (**Tabela Suplementar 4**). A **Tabela 2** detalha as variantes compartilhadas entre o probando e seus familiares. Seis variantes foram classificadas como patogênicas pelo ClinVar (família 1: *KIRREL1*, *RP1*, *SLCO1B3*, *SLCO1B3-SLCO1B7*, *CHRNA1* e *ECHS1*; família 2: *CBS*) e cinco LP (família 1 (Caso 1-4): *CHRNA1*; família 2 (Caso 5-7): *COL4A3*; Caso 11: *SLC3A1*, *PTGIS*; Caso 12: *CYP1B1*). Todos os indivíduos testados da família 3 apresentaram a variante classificada como LP (ACMG) no gene *NOS3* (p.Pro115Glyfs*3).

As 2.121 variantes classificadas como VUS foram comparadas com o banco de dados do *Catalogue of Somatic Mutations in Cancer* (COSMIC) (<https://cancer.sanger.ac.uk/census>), e com dados da literatura. O COSMIC é um banco de dados que contém uma lista de alterações somáticas e germinativas frequentemente relatadas e sempre atualizada quando novas evidências são publicadas. O COSMIC contém dados de 723 genes envolvidos em alterações germinativas descritas em cânceres. A partir dessa lista, identificamos alguns genes com as VUS nos pacientes das famílias estudadas que serão discutidos abaixo.

Variantes de significado incerto em pacientes e familiares devem ser acompanhadas de estudos funcionais e de segregação o que reforça seu papel no risco da doença. Apesar dos poucos estudos no que se refere às SPHCs, os achados viabilizam importantes intervenções clínicas de impacto para os pacientes e seus familiares (WHITWORTH et al., 2018).

Foram também avaliadas as CNVs dos treze pacientes. Foram identificadas 1848 CNVs raras ($p < 0,001$) (**Tabela Suplementar 5**). Entre as CNVs raras encontradas nos pacientes, apenas a probanda e a mãe da probanda da Família 3 apresentaram CNVs LP e/ou P. Oito CNVs foram classificadas como LP pelo ACMG (*NRXN1*, *SCN1A*, *NBEA*, *ASXL3*, *TCF4*, *CYBB*, *USP9X*, *DMD*), e quatro variantes foram classificadas como patogênicas segundo os critérios do ClinVar (*MUTYH*, *NRXN1*, *SCN1A*, *CYBB*). Comparamos as VUS com os dados do COSMIC as quais resultaram em 27 VUS de impacto relevante. Os resultados detalhados serão apresentados por famílias/probandos.

Tabela 2. Variantes classificadas como patogênicas (P) e provavelmente patogênicas (LP) detectadas entre os 13 indivíduos incluídos no estudo. A nomenclatura das variantes segue as recomendações do HGVS (*Human Genome Variation Society*, <https://www.hgvs.org/>).

Casos	Gene	cDNA	Proteína	Tipo/Efeito	dbNSFP*	NCBI RefSeq	dbSNP 154 v2, NCBI	Classificação (ACMG/ClinVar)
Família 1								
1 Probando (CCR/CM)	KIRREL1	c.1718C>T	p.Ser573Leu	Missense	4	NM_018240.7	rs139995772	VUS/P
	TMEM144	c.802+1G>A	-	LoF	2	NM_018342.5	rs956232668	LP/-
	ZDHHC11B	c.780C>G	p.Tyr260Ter	LoF	2	NM_001351303.2	rs1745116641	LP/-
	RP1	c.2212-1G>A	-	LoF	-	NM_001375654.1	rs997666144	P/P
	KIAA0825	c.157C>T	p.Gln53Ter	LoF	2	NM_001145678.3	rs754999256	LP/-
	IFT52	c.290_293dupCCAA	p.Ile99Glnfs*3	LoF	-	NM_001303458.3	-	LP/-
	PLEKHB1	c.584_585insT	p.Pro196Alafs	LoF	-	NM_021200.3	rs770705065	LP/-
2 Filha (CM)	SPG7	c.1529C>T	p.Ala510Val	Missense	6	NM_003119.4	rs61755320	LP/-
	KIRREL1	c.1718C>T	p.Ser573Leu	Missense	4	NM_018240.7	rs139995772	VUS/P
	TMEM144	c.802+1G>A	-	LoF	2	NM_018342.5	rs956232668	LP/-
	ZDHHC11B	c.780C>G	p.Tyr260Ter	LoF	2	NM_001351303.2	rs1745116641	LP/-
	RP1	c.2212-1G>A	-	LoF	-	NM_001375654.1	rs997666144	P/P
	CHRNA1	c.380_381delAA	p.Lys127Serfs*18	LoF	-	NM_000079.4	rs1574007436	P/LP
	CTNNAL1	c.1278delA	p.Glu427Lysfs*4	LoF	-	NM_003798.4	-	LP/-
	SLCO1B3	c.1135+1G>A	-	LoF	2	NM_019844.4	rs201833947	P/P
	SLCO1B3-SLCO1B7	c.1135+1G>A	-	LoF	2	NM_001371097.1	-	P/P
	GLT8D2	c.415C>T	p.Arg139Ter	LoF	2	NM_001384711.1	rs756277684	LP/-
	CCDC33	c.1996C>T	p.Gln666Ter	LoF	2	NM_025055.5	rs763166112	LP/-
	SETD4	c.602G>A	p.Trp201Ter	LoF	2	NM_017438.5	rs146739910	LP/-
3 Filho (NA)	KIRREL1	c.1718C>T	p.Ser573Leu	Missense	4	NM_018240.7	rs139995772	VUS/P
	TMEM144	c.802+1G>A	-	LoF	2	NM_018342.5	rs956232668	LP/-
	ZDHHC11B	c.780C>G	p.Tyr260Ter	LoF	2	NM_001351303.2	rs1745116641	LP/-
	KIAA0825	c.157C>T	p.Gln53Ter	LoF	2	NM_001145678.3	rs754999256	LP/-
	IFT52	c.290_293dupCCAA	p.Ile99Glnfs*3	LoF	-	NM_001303458.3	rs765845001	LP/-
	CHRNA1	c.380_381delAA	p.Lys127Serfs*18	LoF	-	NM_000079.4	rs1574007436	P/LP
	CCDC33	c.1996C>T	p.Gln666Ter	LoF	2	NM_025055.5	rs763166112	LP/-
4 Irmão (CP)	ZNF778	c.1393dupA	p.Thr465Asnfs*2	LoF	-	NM_001201407.2	-	LP/-
	KIRREL1	c.1718C>T	p.Ser573Leu	Missense	4	NM_018240.7	rs139995772	VUS/P
	TMEM144	c.802+1G>A	-	LoF	2	NM_018342.5	rs956232668	LP/-
	ZDHHC11B	c.780C>G	p.Tyr260Ter	LoF	2	NM_001351303.2	rs1745116641	LP/-
	RP1	c.2212-1G>A	-	LoF	-	NM_001375654.1	rs997666144	P/-
	KIAA0825	c.157C>T	p.Gln53Ter	LoF	2	NM_001145678.3	rs754999256	LP/-
	ECHS1	c.123_124delAG	p.Gly42Glufs*3	LoF	-	NM_004092.4	rs746519257	P/P
	TCAIM	c.1300delT	p.Ser434Leufs*24	LoF	-	NM_173826.4	rs1702118177	LP/-
	TRIP11	c.4487_4488delAA	p.Lys1496Argfs*3	LoF	-	NM_004239.4	rs1161901613	LP/-
	MYO9A	c.3282C>G	p.Tyr1094Ter	LoF	2	NM_006901.4	rs2057433252	LP/-
	RGS11	c.506+1G>A	-	LoF	2	NM_183337.3	rs144537622	LP/-
	ZPBP2	c.313G>T	p.Gly105Ter	LoF	2	NM_199321.3	rs1041484668	LP/-
	NLRP7	c.799C>T	p.Gln267Ter	LoF	1	NM_001127255.1	rs755349976	LP/-

Continuação da Tabela 2.

Casos	Gene	cDNA	Proteína	Tipo/Efeito	dbNSFP*	NCBI RefSeq	dbSNP 154 v2, NCBI	Classificação (ACMG/ClinVar)
Família 2								
5 Probando (CM/CCR)	BPIFB1	c.148_157delACCAGCATCC	p.Thr50Cysfs*25	LoF	-	NM_033197.3	rs1980353074	LP/-
	BCORL1	c.20_32delTCTACAGCGGCGT	p.Leu7Argfs*105	LoF	-	NM_021946.5	rs1434487141	LP/-
	ROPN1	c.103C>T	p.Gln35Ter	LoF	2	NM_017578.4	rs773302506	LP/-
	PRSS3	c.200+3_200+7delAAGTG	-	Outra	-	NM_002771.4	rs757067965	LP/-
	TUBB2B	c.602G>C	p.Cys201Ser	Missense	4	NM_178012.5	rs201922441	LP/-
	CFAP54	c.4930dupT	p.Trp1644Leufs*12	LoF	-	NM_001306084.2	-	LP/-
	PSG2	c.51delG	p.Leu18Serfs*8	LoF	-	NM_031246.4	rs778532519	LP/-
	SIRPB1	c.388delG	p.Asp130Thrfs*28	LoF	-	NM_006065.5	rs866668053	LP/-
	NEB	c.402+1G>T	-	LoF	2	NM_001271208.2	-	LP/-
	COL4A3	c.3829G>A	p.Gly1277Ser	Missense	6	NM_000091.5	rs190598500	VUS/LP
6 Irmã (CE)	ASPH	c.1765-1G>A	-	LoF	2	NM_004318.4	rs1441878768	LP/-
	CEP162	c.10_13delTGTT	p.Cys4Profs*5	LoF	-	NM_014895.4	-	LP/-
	BPIFB1	c.148_157delACCAGCATCC	p.Thr50Cysfs*25	LoF	-	NM_033197.3	rs1980353074	LP/-
	BCORL1	c.20_32delTCTACAGCGGCGT	p.Leu7Argfs*105	LoF	-	NM_021946.5	rs1434487141	LP/-
	ROPN1	c.103C>T	p.Gln35Ter	LoF	2	NM_017578.4	rs773302506	LP/-
	PRSS3	c.200+3_200+7delAAGTG	-	Outra	-	NM_002771.4	rs757067965	LP/-
	TUBB2B	c.602G>C	p.Cys201Ser	Missense	4	NM_178012.5	rs201922441	LP/-
	CFAP54	c.4930dupT	p.Trp1644Leufs*12	LoF	-	NM_001306084.2	-	LP/-
	PSG2	c.51delG	p.Leu18Serfs*8	LoF	-	NM_031246.4	rs778532519	LP/-
	SIRPB1	c.388delG	p.Asp130Thrfs*28	LoF	-	NM_006065.5	rs866668053	LP/-
7 Irmã (NA)	PDCD2L	c.289delC	p.Arg97Alafs*60	LoF	-	NM_032346.2	rs761331362	LP/-
	GLYATL1	c.750_751delAT	p.Trp251Glyfs*8	LoF	-	NM_080661.4	rs567393709	LP/-
	RHBDD3	c.740G>A	p.Trp247Ter	LoF	2	NM_012265.3	rs765643726	LP/-
	FOXO3	c.1143dupG	p.Leu382Alafs*3	LoF	-	NM_001455.4	rs34133353	LP/-
	BPIFB1	c.148_157delACCAGCATCC	p.Thr50Cysfs*25	LoF	-	NM_033197.3	rs1980353074	LP/-
	BCORL1	c.20_32delTCTACAGCGGCGT	p.Leu7Argfs*105	LoF	-	NM_021946.5	rs1434487141	LP/-
	ROPN1	c.103C>T	p.Gln35Ter	LoF	2	NM_017578.4	rs773302506	LP/-
	PRSS3	c.200+3_200+7delAAGTG	-	Outra	-	NM_002771.4	rs757067965	LP/-
	NEB	c.402+1G>T	-	LoF	2	NM_001271208.2	-	LP/-
	COL4A3	c.3829G>A	p.Gly1277Ser	Missense	6	NM_000091.5	rs190598500	VUS/LP
7 Irmã (NA)	ASPH	c.1765-1G>A	-	LoF	2	NM_004318.4	rs1441878768	LP/-
	CBS	c.572C>T	p.Thr191Met	Missense	6	NM_000071.3	rs121964973	LP/P
	PAK1IP1	c.247+1G>A	-	LoF	2	NM_017906.3	-	LP/-
	METTL4	c.460-2A>G	-	LoF	2	NM_022840.5	rs150924561	LP/-
	FOXO3	c.1143dupG	p.Leu382Alafs*3	LoF	-	NM_001455.4	rs34133353	LP/-
	RHBDD3	c.740G>A	p.Trp247Ter	LoF	2	NM_012265.3	rs765643726	LP/-
	RPS6KA6	c.1242+1G>A	-	LoF	2	NM_014496.5	rs2034370700	LP/-

Continuação da **Tabela 2.**

Casos	Gene	cDNA	Proteína	Tipo/Efeito	dbNSFP*	NCBI RefSeq	dbSNP 154 v2, NCBI	Classificação (ACMG/ClinVar)
Família 3								
8 Probanda (CM/Metástas e óssea)	NOS3	c.343_353delCCCGGCCCCCCC	p.Pro115Glyfs*3	LoF	-	NM_000603.5	rs1299476192	LP/-
9 Irmã Gêmea (NA)	NOS3	c.343_353delCCCGGCCCCCCC	p.Pro115Glyfs*3	LoF	-	NM_000603.5	rs1299476192	LP/-
10 Mãe (NA)	NOS3	c.343_353delCCCGGCCCCCCC	p.Pro115Glyfs*3	LoF	-	NM_000603.5	rs1299476192	LP/-
Pacientes Individuais								
11 Probando (CM/CCR)	CYP1B1	c.1159G>A	p.Glu387Lys	Missense	4	NM_000104.4	rs55989760	LP/LP
12 Probando (CM/CCR)	SLC3A1	c.1400T>C	p.Met467Thr	Missense	5	NM_000341.4	rs121912691	VUS/LP
	MAT1A	c.826dupG	p.Ala276Glyfs*76	LoF	-	NM_000429.3	rs763178849	LP/-
	PTGIS	c.824G>A	p.Arg275Gln	Missense	3	NM_000961.4	rs61734270	VUS/LP
13 Probando (CM/CCR)	-	-	-	-	-	-	-	-

NA: não afetado. **LP:** provavelmente patogênica. **P:** patogênica. **VUS:** variante de significado incerto. **CM:** câncer de mama, **CP:** câncer de próstata, **CE:** câncer de endométrio, **CCR:** câncer colorretal. **LoF:** perda de função (*Loss-of-function*). Variantes em genes encontradas em mais de um membro da família estão realçadas em negrito. Variantes em genes compartilhadas entre todos os membros da família estão destacadas em laranja claro.

Tabela 3. Variações no número de cópias (CNVs) identificadas nos casos deste estudo.

Membro da Família	Genes	Crom	Início	Fim	Tipo	Outros Genes	Classificação ACMG/ClinVar
Família 1							
Filha (Paciente 2)	<i>BCL3</i>	19	45252048	45260478	Ganho	-	VUS/-
	<i>CARD11</i>	7	2987209	3341516	Ganho	<i>SDK1</i>	VUS/-
Irmão (Paciente 4)	<i>BCL3</i>	19	45254484	45259597	Perda	-	VUS/-
	<i>CARD11</i>	7	2963867	2968332	Perda	-	VUS/-
Família 2							
Probando (Paciente 5)	<i>IL32</i>	16	3118991	3119356	Perda	-	VUS/-
Irmã (Paciente 6)	<i>CSF1</i>	1	110453646	110458318	Ganho	-	VUS/-
	<i>TRIO</i>	5	14472701	14488369	Ganho	-	VUS/-
	<i>PHF19</i>	9	123636257	123673791	Ganho	<i>TRAF1</i>	VUS/-
Irmã (Paciente 7)	<i>CSF1</i>	1	110453646	110460085	Ganho	-	VUS/-
	<i>TRIO</i>	5	14465654	14482882	Ganho	-	VUS/-
	<i>PHF19</i>	9	123657066	123667516	Ganho	<i>TRAF1</i>	VUS/-
Família 3							
Probando (Paciente 8)	<i>NRXN1</i>	2	50280409	50282182	Perda	-	LP/P
	<i>PIK3CA</i>	3	178941869	178957852	Perda	<i>KCNMB3</i>	VUS/-
	<i>SCN1A</i>	2	166847755	166872237	Perda	-	LP/P
	<i>NBEA</i>	13	:35864526	35923353	Perda	-	LP/-
	<i>ASXL3</i>	18	31187558	31226317	Perda	-	LP/-
	<i>TCF4</i>	18	52924546	52942983	Perda	-	LP/-
	<i>CYBB</i>	X	37586889	37668944	Perda	<i>XK</i>	LP/P
	<i>USP9X</i>	X	40999909	41000470	Perda	-	LP/-
	<i>DMD</i>	X	31187560	31196922	Perda	-	LP/VUS
	<i>ACVR2A</i>	2	148657027	148684843	Perda	-	VUS/VUS
	<i>ROBO1</i>	2	79638974	81586246	Perda	<i>GBE1</i>	VUS/
	<i>AKAP9</i>	7	91690574	91694777	Perda	-	VUS/
	<i>EPHA7</i>	6	93967180	93982140	Perda	-	VUS/-
	<i>BCLAF1</i>	6	136589300	136601004	Perda	-	VUS/
	<i>ROS1</i>	6	117629957	117642557	Perda	-	VUS/
	<i>RAD21</i>	8	117868405	117878968	Perda	-	VUS/
	<i>MACROD2</i>	20	16021846	16025284	Perda	-	VUS/-
	<i>LRP1B</i>	2	140990755	141032167	Perda	-	VUS/
	<i>LRP1B</i>	2	141092022	141130706	Perda	-	VUS/
	<i>LRP1B</i>	2	141625159	141680716	Perda	-	VUS/-
	<i>LRP1B</i>	2	141739729	141771314	Perda	-	VUS/
	<i>LRP1B</i>	2	141812685	141946152	Perda	-	VUS/
	<i>LRP1B</i>	2	141625159	141680716	Perda	-	VUS/-
	<i>PTPRD</i>	9	8338922	8376726	Perda	-	VUS/
	<i>PTPRD</i>	9	8521277	8636844	Perda	-	VUS/-
	<i>ROBO2</i>	3	77571926	77626765	Perda	-	VUS/
Irmã Gêmea (Paciente 9)	<i>ROS1</i>	6	117586927	117631444	Ganho	<i>VGLL2</i>	VUS/-
	<i>EPHA7</i>	6	93974312	94129059	Ganho	-	VUS/
	<i>RAD21</i>	8	117868405	117878968	Ganho	<i>AARD</i>	VUS/
	<i>MUTYH</i>	1	45794978	45798996	Perda	-	VUS/P
Mãe (Paciente 10)	<i>ROBO3</i>	11	124735474	124740624	Ganho	-	VUS/-

Paciente 11						
<i>PMS2</i>	7	5764955	6045662	Perda	<i>CCZ1, OCM, RNF216, RSPH10B</i>	VUS/VUS
<i>POLE2</i>	14	50154854	50160008	Ganho	<i>KLHDC1</i>	VUS/-
<i>NOMO1</i>	16	14946287	14959012	Perda	-	VUS/-
Paciente 12						
<i>PMS2</i>	7	6013030	6022622	Ganho	-	VUS/-
Paciente 13						
<i>PMS2</i>	7	6048628	6049129	Perda	<i>AIMP2</i>	VUS/P
<i>ASH2L</i>	8	37914599	37963256	Perda	<i>EIF4EBP1</i>	VUS/-
<i>POLE2</i>	14	50120873	50131392	Ganho	-	VUS/-

Crom.: cromossomo; **VUS:** variante de significado incerto; **LP:** provavelmente patogênica; **P:** patogênica.

4.1. Família 1

Variantes Germinativas

A probanda da família 1 foi diagnosticada com CCR (52 anos), CM (73 anos) e um segundo CM primário na mama contralateral aos 77 anos. A presença de câncer foi relatada em vários membros da família, incluindo o CM (filha, sobrinhas e irmãs), câncer de ovário (uma irmã), câncer de próstata (pai e irmão) e hepatocarcinoma (sobrinho). A paciente preenche os critérios do NCCN para HBOC e HBCC. O heredograma representativo desta família está disposto na **Figura 2**.

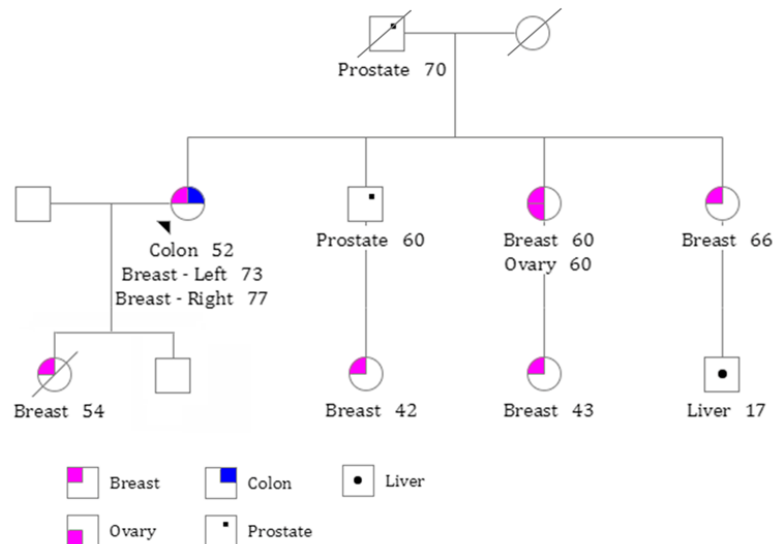


Figura 2. Heredograma representativo da família 1. A paciente índice (II-2), seu irmão com câncer de próstata (II-3) e dois filhos (III-1: câncer de mama, III-2: não afetado) foram investigados por sequenciamento total do exoma.

Entre as três famílias analisadas por SET, a família 1 apresentou o maior número de variantes P/LP. O sequenciamento do paciente índice (II-2) revelou a presença de oito variantes: *KIRREL1* c.1718C>T, *TMEM144* c.802+1G>A, *EP300* c.780C>G, *RP1* c.2212-1G>A,

KIAA0825 c.157C>T, *IFT52* c.290_293dupCCAA, *PLEKHB1* c.584_585insT e *SPG7* c.1529C>T (**Tabela 2**).

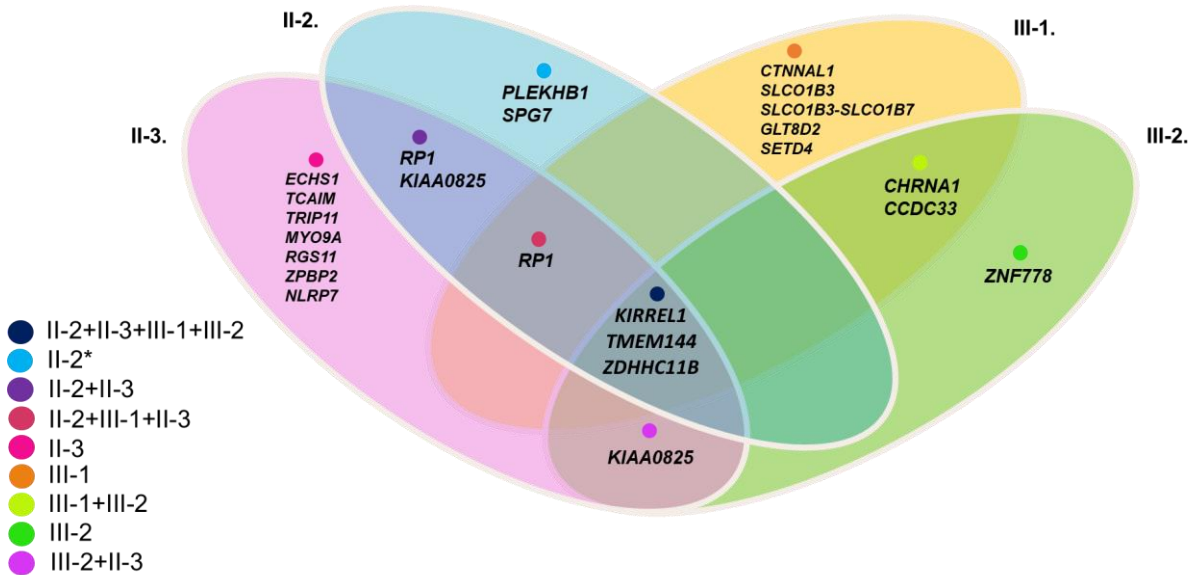


Figura 3. Diagrama de Venn ilustrando as variantes P e LP comuns a todos os pacientes da família 1. As quatro elipses representam os pacientes: (II-2) elipse azul (paciente-índice, câncer de mama/colorretal), (III-1) elipse laranja (filha, câncer de mama), (III-2) elipse verde (filho, não afetado) e (II-3) elipse rosa (irmão, câncer de próstata). Os círculos coloridos a esquerda indicam as intersecções entre os achados de cada paciente. A probanda II-2 é destacada com um asterisco (*) na legenda.

As variantes *KIRREL1* c.1718C>T, *TMEM144* c.802+1G>A e *ZDHHC11B* c.780C>G, também foram detectadas na filha com CM (III-1), no filho sem câncer até o presente (III-2) e no irmão da probanda (II-3) diagnosticado com câncer de próstata (**Figura 3**). A proteína codificada pelo gene *KIRREL1* (**Tabela Suplementar 6**) pertence à família de proteínas de ligação a podocina, com papel fisiológico primário nos glomérulos renais, atuando na permeabilidade glomerular e protegendo a ultrafiltração seletiva (PAUL et al., 2022; SOLANKI et al., 2019). Mutações homozigotas neste gene foram relatadas em duas famílias com síndrome nefrótica (c.1318C>T, p.Arg440Cys e c.1718C>T, p.Ser573Leu) (SOLANKI et al., 2019). A síndrome nefrótica esteróide-resistente é uma doença renal crônica e progressiva. Todos os membros da família 1 do nosso estudo apresentaram a mesma variante em heterozigose relatada por esses autores, c.1718C>T (SOLANKI et al., 2019). Para o nosso conhecimento, esta família não apresenta a síndrome nefrótica. Embora o gene *KIRREL1* tenha sido associado a síndrome nefrótica, a expressão anormal deste gene foi relatada em diferentes tipos tumorais, incluindo o câncer de pâncreas, gástrico renal, cervical, melanoma, urotelial e câncer de mama (Hu et al., 2017; Zhang et al., 2018; CHEN et al., 2020) (CHATRATH et al., 2020; HU et al., 2017; THAVANESWARAN et al., 2019; ZHANG; HONG; LI, 2018). Zhang

e colaboradores examinaram os níveis de expressão da proteína KIRREL1 em 71 casos de câncer gástrico e em tecidos normais, sendo demonstrada como significativamente aumentada nos tumores (ZHANG; HONG; LI, 2018). Chen et al. (2020), analisaram 302 pacientes com câncer de mama e demonstraram que os níveis de expressão da proteína KIRREL1 eram significativamente maiores nos tumores do que nos tecidos normais adjacentes da mama. Os autores também demonstraram que a sobrevida global e livre de progressão dos pacientes com câncer de mama com altos níveis de proteína KIRREL foram significativamente piores do que aqueles com baixos níveis de expressão. Em conjunto esses dados sugerem que o gene *KIRREL1* atua como um oncogene (CHATRATH et al., 2020; THAVANESWARAN et al., 2019). Recentes estudos têm relatado a presença de variantes germinativas P/LP em oncogenes e genes supressores tumorais em diferentes tipos de tumores de adultos, jovens e crianças (CHATRATH et al., 2020; THAVANESWARAN et al., 2019) como alvos acionáveis de tratamento ou biomarcadores terapêuticos (CHATRATH et al., 2020; THAVANESWARAN et al., 2019). A presença de uma mutação ativadora na linhagem germinativa poderia explicar sua expressão aumentada nos tumores. Embora aparentemente essa alteração no gene *KIRREL1* não esteja associada ao risco de desenvolvimento de câncer na família, sua presença foi observada no probando e nos três parentes investigados, dois deles com câncer. Todos os casos testados dessa família apresentaram a variante *KIRREL1* c.1718C>T em heterozigose. Esta alteração pode estar associada ao prognóstico da doença.

A variante LP do gene *TMEM144* c.802+1G>A foi identificada em todos os membros da família 1. O gene *TMEM144* (**Tabela Suplementar 6**) codifica um transportador transmembrânico de carboidratos. Sai Ma et al., relataram uma associação entre *TMEM144* (c.802+1G>A) e o prognóstico desfavorável em pacientes com câncer oral (MA et al., 2022). Amin El-Heliebi e colaboradores relataram que esse gene possui um potencial crucial no desenvolvimento de células cordoma, uma vez que a sua expressão estava alterada nas células físalíferas MUG-Chor1 (EL-HELIEBI et al., 2014).

Todos os indivíduos analisados da família 1 apresentaram a variante LP do *ZDHHC11B* c.780C>G. A expressão aumentada do oncogene *ZDHHC11B* foi relatada em linhagens celulares do linfoma de Burkitt, o qual apresenta papel fundamental no funcionamento do eixo MYC-miR-150-MYB nesse tipo tumoral (DZIKIEWICZ-KRAWCZYK et al., 2017). Com o objetivo de identificar novos genes de suscetibilidade ao câncer de pâncreas, Zhong et al. avaliaram 9.040 casos de câncer de pâncreas comparados com 12.496 controles e encontraram 25 variantes novas que podem estar associadas ao risco do câncer, dentre essas estava presente uma variante em *ZDHHC11B* (ZHONG et al., 2020). Estes achados sugerem que *ZDHHC11B*

c.780C>G tenha um papel de relevância no risco de desenvolvimento da doença (**Tabela Suplementar 6**).

A variante patogênica (ACMG e ClinVar) do gene *RP1* c.2212-1G>A foi identificada na probanda, filha (III-1, CM) e no irmão da paciente (II-3, CP). Mutações no gene *RP1* (*RP1 axonemal microtubule associated*) foram associadas com retinite pigmentosa 1 e, portanto, sem aparente associação com o fenótipo em estudo.

A probanda, seu filho (III-2, não afetado) e seu irmão (II-3, CP) - apresentaram a variante LP no gene *KIAA0825* c.157C>T. Este gene codifica uma proteína relacionada a polidactilia pós-axial tipo A10 e polidactilia pós-axial tipo A1 (YAO; DENG; ZHU, 2022). Não há relatos em literatura que relacionem alterações neste gene *KIAA0825* com algum tipo tumoral, portanto, aparentemente esta variante não explica o fenótipo em estudo.

A variante *IFT52* c.290_293dupCCAA (LP) foi detectada no caso 3 (não afetado, III-2), e na probanda. A proteína (do inglês, intraflagellar transport protein 52), é essencial para a formação e manutenção de cílios e flagelos, desempenha um papel importante em vários processos celulares, como sinalização, percepção sensorial e movimento de fluidos (BASTEN; GILES, 2013; LIU et al., 2019). Embora poucas pesquisas tenham relacionado o envolvimento do gene *IFT52* no câncer, defeitos na função dos cílios foram associados ao desenvolvimento e progressão de vários tipos de câncer, incluindo de mama, pulmão e pâncreas (BASTEN; GILES, 2013; LIU et al., 2019).

A variante *PLEKHB1* c.584_585insT (LP) foi identificada apenas no caso índice. O gene *PLEKHB1* (do inglês, Pleckstrin homology domain-containing family B member 1), codifica uma proteína envolvida na regulação de vias de sinalização intracelular (WU et al., 2022) (**Tabela Suplementar 6**). Apesar das pesquisas serem limitadas sobre o papel do *PLEKHB1* no câncer, alguns estudos sugerem que esse gene pode ter um papel potencial na tumorigênese e na progressão do câncer (JOHANSSON; GÖRANSSON; WESTERMARK, 2005; WU et al., 2022). Um estudo relatou que o gene *PLEKHB1* é regulado positivamente no câncer hepatocelular e promove o crescimento e a sobrevivência das células tumorais (LI et al., 2019). *PLEKHB1* pode também estar envolvido no desenvolvimento do câncer de mama, regulando a proliferação e invasão de células tumorais (THENNAVAN et al., 2022). Portanto, esse gene pode ser um alvo acionável para o tratamento da doença.

Apenas o caso índice apresentou a variante *SPG7* c.1529C>T (LP). O gene *SPG7* (do inglês, Spastic Paraplegia 7) codifica a proteína mitocondrial paraplegina. O produto codificado por este gene atua na paraplegia espástica autossômica recessiva 7, um grupo de distúrbios neurodegenerativos levando a espasticidade e distúrbios da marcha (BAVIERA-MUÑOZ et al.,

2021; SETTASATIAN et al., 1999) (**Tabela Suplementar 6**). Há evidências limitadas sugerindo uma ligação potencial entre mutações no gene *SPG7* ao câncer (SETTASATIAN et al., 1999). Este gene está mapeado em 16q24.3, uma região que é frequentemente associada à perda de heterozigose no câncer de mama e próstata esporádicos (SETTASATIAN et al., 1999). A expressão do gene *SPG7* foi associada a piora da resposta ao tratamento e a uma maior probabilidade de recorrência do câncer de mama (FINAK et al., 2008). Um estudo retrospectivo liderado por Abdul Aziz e colaboradores analisaram 78 pacientes com câncer colorretal, dividindo-os em dois grupos: sobrevida favorável (> 5 anos) e desfavorável (< 5 anos), e encontraram 19 genes com expressão aumentada associados a um pior prognóstico para os pacientes com câncer colorretal, sendo um deles o gene *SPG7* (ABDUL AZIZ et al., 2016). Estes dados em literatura dão evidências que variantes funcionais neste gene teriam um papel prognóstico. Outros estudos são necessários para confirmar o papel de variantes germinativas neste gene em pacientes com HBOC.

A filha da probanda (III-1, CM) também apresentou a variante P nos genes *KIRREL1* c.1718C>T, *CHRNA1* c.380_381delAA, *SLCO1B3* c.1135+1G>A e *SLCO1B3-SLCO1B7* c.1135+1G>A, e variantes LP nos genes *CTNNAL1* c.1278delA, *GLT8D2* c.415C>T, *CCDC33* c.1996C>T, *SETD4* c.602G>A. As variantes nos genes *CHRNA1* e *CCDC33* também foram detectadas no filho da probanda (III-2).

A filha (III-1, CM) e o filho (III-2, não afetado) compartilharam da mesma variante em *CHRNA1* c.380_381delAA (P). Mutações no gene *CHRNA1* (do inglês, cholinergic receptor nicotinic alpha 1 subunit) levando a ganho de função foram relatadas na síndrome de miastenia congênita, a qual resulta em alterações envolvidas na transmissão neuromuscular. Não temos conhecimento sobre esse fenótipo nos pacientes em estudo ou o envolvimento deste gene em tumores.

Desta família, apenas a filha (III-1, CM) apresentou uma variante patogênica no gene *CTNNAL1* c.1278delA. O gene *CTNNAL1* (*alfa-catenina-like protein 1*) está envolvido na adesão celular e nas vias de transdução de sinal (HUANG et al., 2023). Este gene foi associado a vários processos celulares, como migração, proliferação e diferenciação celulares (HUANG et al., 2023). Por ser um componente de sinalização Rho, o *CTNNAL1* interage com IKK-beta, regula o NF-kB favorecendo a migração de células tumorais e levando ao aumento da resistência a apoptose (CAO et al., 2012). A expressão aberrante e a desregulação de *CTNNAL1* foi implicada na ocorrência, desenvolvimento e progressão de vários tipos tumorais, incluindo câncer de mama, pulmão e câncer de cólon (HUANG et al., 2023) (**Tabela Suplementar 6**). Altamente expressa no carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, a proteína

CTNNAL1 é comumente associada a prognóstico desfavorável e metástase desse tipo tumoral (CAO et al., 2012). No câncer de mama, a diminuição da expressão de *CTNNAL1* quando comparado a um tecido mamário normal, pode contribuir para a perda de adesão célula-célula e aumento da capacidade de invasão (TÓKÉS et al., 2012). Um aumento significativo na expressão do gene *CTNNAL1* foi relatado no câncer colorretal resistente ao irinotecano, um quimioterápico amplamente utilizado para tratar essa doença (LI et al., 2014). Esses resultados sugerem que a resistência ao irinotecano pode estar conectada às vias de sinalização EMT (transição epitélio-mesênquima) e NF-κB (LI et al., 2014). O gene *CTNNAL1* é considerado um biomarcador prognóstico e um potencial alvo terapêutico. A filha (III-1, CM) também apresentou uma variante em *SLCO1B3* (c.1135+1G>A) (P). Mutações no gene *SLCO1B3* foram relatadas na hiperbilirrubunemia tipo Rotor. Entretanto, dados atuais revelam que expressão anormal de *SLCO1B3* está envolvida na resistência ao tratamento do câncer com alguns agentes como taxanos, camptotecina e seus análogos, SN-38, e terapia de deprivação de andrógenos no câncer de mama, próstata, pulmão, hepático e colorretal, respectivamente (SUN et al., 2020). Tang et al. relataram que altos níveis de expressão deste gene podem inibir significativamente a proliferação, invasão e migração de células de câncer de mama (TANG et al., 2021). Desta forma, esta alteração poderia estar associada com características prognósticas, incluindo a resposta à terapia.

Além das variantes previamente descritas (*KIRREL1*, *TMEM144*, *ZDHHC11B*, *KIAA0825*, *IFT52*, *CHRNA1*, *CCDC33*), o filho da probanda (III-2, não afetado) apresentou uma variante LP no gene *ZNF778* c.1393dupA não detectada nos demais indivíduos da família. O *ZNF778* codifica uma proteína de tipo *zinc finger* (NOVARA et al., 2017). As proteínas *zinc fingers* atuam como fatores de transcrição que se ligam ao DNA e regulam a expressão gênica. Comumente associado a transtornos do desenvolvimento neurológico (NOVARA et al., 2017), a inibição do *ZNF778* resultou na redução da proliferação e migração de células de câncer de mama, o que sugere que esse gene pode estar envolvido na progressão desse tipo tumoral (ADDISON et al., 2015).

Também foram identificadas no irmão da probanda (II-3, CP) a variante P em *ECHS1* c.123_124delAG (P) e as variantes LP em *TCAIM* c.1300delT, *TRIP11* c.4487_4488delAA, *MYO9A* c.3282C>G, *RGS11* c.506+1G>A, *ZPBP2* c.313G>T, *NLRP7* c.799C>T, não observadas nos outros membros da família. Um estudo recente mostrou que *ECHS1* (codifica uma enzima associada com o metabolismo de ácidos graxos) suprime o desenvolvimento do carcinoma de células renais inibindo a via de sinalização de mTOR (WANG et al., 2020c). Os autores sugeriram que *ECHS1* pode ser um novo alvo para terapia neste tipo tumoral.

A variante em *TCAIM* c.1300delT (LP) foi detectada apenas no irmão da probanda (II-3, CP). O produto do gene *TCAIM* /*TOAG-1*, é um inibidor da ativação de células T (VOGEL et al., 2015). Embora seja mais conhecido por sua atuação no sistema imune, sendo amplamente expresso em enxertos e sangue de receptores halogênicos de rim e coração que estão em processo de desenvolver tolerância (VOGEL et al., 2015), o *TCAIM* foi relatado como um possível supressor tumoral no câncer renal (YE et al., 2022). A expressão de *TCAIM* foi significativamente reduzida no carcinoma renal em comparação com células e tecidos renais normais (YE et al., 2022). Em ensaios de transfecção do gene *TCAIM* em células de carcinoma renal seguido de tratamento quimioterápico com sunitinibe, Ye et al. demonstraram a inibição do crescimento tumoral e aumento da sensibilidade das células tumorais ao tratamento com o quimioterápico sunitinibe (YE et al., 2022).

A variante *TRIP11* c.4487_4488delAA (LP) observada unicamente no Caso 4 (II-3, CP). Este gene codifica uma proteína multifuncional encontrada no aparelho de Golgi e no núcleo (POPLAWSKI; PIEKIELKO-WITKOWSKA; NAUMAN, 2017a). Esta proteína atua na montagem e manutenção da estrutura da fita de Golgi ao redor do centróssomo e como um coativador transcricional regulado pelo receptor do hormônio tireoidiano (THR) e pelo fator induzido por hipóxia (HIF) no núcleo (POPLAWSKI; PIEKIELKO-WITKOWSKA; NAUMAN, 2017b). A expressão aumentada de *TRIP11* no câncer renal pode contribuir para a progressão do tumor e resposta não efetiva ao tratamento (POPLAWSKI; PIEKIELKO-WITKOWSKA; NAUMAN, 2017b). Há evidências de que o *TRIP11* pode estar envolvido na regulação da resposta celular ao hormônio tireoidiano, e o *knockdown* do *TRIP11* pode ser um alvo terapêutico promissor para o tratamento do câncer renal (POPLAWSKI; PIEKIELKO-WITKOWSKA; NAUMAN, 2017b). Estudos também mostraram que a inibição de *TRIP11* pode ter efeitos antiproliferativos na leucemia mielóide aguda com mutação *FLT3* (CHUNG et al., 2017; SHAO et al., 2020; VENABLE et al., 2023). Estes dados demonstram que essa alteração pode estar relacionada ao prognóstico da doença.

A variante em *MYO9A* c.3282C>G (LP) foi identificada apenas no caso 4 (II-3, CP). O gene *MYO9A* (do inglês, Myosin IXA) codifica a miosina IXA, que pertence à superfamília da miosina de proteínas motoras moleculares (OHNO et al., 2023). A proteína miosina IXA está envolvida no movimento celular e na regulação dos filamentos de actina. Mutações neste gene foram associadas com as síndromes miastênicas congênitas e artrogripose múltipla congênita (O'CONNOR et al., 2016). Fusões envolvendo genes, como o *MYO9A*, podem estar associadas a uma piora no prognóstico do câncer gástrico difuso (YANG et al., 2018).

Outra variante encontrada exclusivamente no caso 4 (II-3, CP) foi a *RGS11*

c.506+1G>A (LP). O gene *RGS11* é um regulador negativo da sinalização do receptor de andrógeno (PUDOVA et al., 2019). Ele foi identificado como diferencialmente expresso em pacientes com câncer de próstata localmente avançado linfonodo negativo e associado ao prognóstico desfavorável (PUDOVA et al., 2019). Além disso, o *RGS11* também foi identificado como um dos genes diferencialmente expressos em células de câncer colorretal resistentes à oxaliplatina (MARTINEZ-CARDÚS et al., 2009) e como um potencial biomarcador para câncer de pulmão (CHANG et al., 2019). Sua alta expressão foi associada a uma melhor sobrevida global em pacientes com câncer de ovário (HU et al., 2021b).

A variante LP em *NLRP7* c.799C>T também foi identificada no caso 4 (II-3, CP). O gene *NLRP7* (do inglês, Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain-containing 7) pertence à família de genes *NLRs*, envolvidos no reconhecimento de patógenos e na ativação da resposta imune (ABI NAHED et al., 2022). Estudos sugerem que o *NLRP7* pode desempenhar um papel na regulação da piroptose em diferentes tipos celulares, incluindo células do sistema imunológico (XU; JI; QIANG, 2021), fenômeno observado tanto no câncer de mama quanto no adenocarcinoma de pulmão (LIN et al., 2021d; XU; JI; QIANG, 2021). No câncer de mama, a expressão aumentada de *NLRP7* foi associada a pior prognóstico, por promover o crescimento tumoral e suprimir a resposta imune (XU; JI; QIANG, 2021). Lin et al. identificaram um possível eixo regulatório envolvendo *NLRP7* que ativa o inflamassoma e libera citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18 (LIN et al., 2021), a qual pode contribuir para a promoção do crescimento tumoral e supressão da resposta imune no adenocarcinoma pulmonar. No entanto, no adenocarcinoma de pulmão, a baixa expressão de *NLRP7* estava associada a um pior prognóstico (LIN et al., 2021). O *NLRP7* também desempenha um papel importante no câncer colorretal, tendo expressão aumentada nos tecidos tumorais quando comparado aos tecidos adjacentes normais (LI et al., 2021). O produto deste gene atua na proliferação, invasão e metástase tumoral, além de polarizar os macrófagos associados a tumores para um fenótipo pró-tumoral M2 (LI et al., 2021).

Um total de 265 VUS foram identificadas na probanda da família 1. Dessas, 34 variantes estavam presentes tanto no caso índice quanto em pelo menos um dos membros da família, conforme demonstrado na **Tabela Suplementar 4**.

A comparação entre as variantes detectadas nos membros desta família com os dados do COSMIC, revelou alguns candidatos com variantes de significado incerto. Entre eles, a variante *missense* no gene *RAP1GDS1* c.112A>G a qual foi detectada em todos os membros da família: probanda (II-2), filha (III-1), o filho (III-2) e o irmão (III-3). Este oncogene já foi descrito como alterado no CM (HAUSER et al., 2014). O gene *RAP1GDS1* codifica uma

proteína chaperona que ao se ligar e promover a prenilação de várias pequenas GTPases (como *RAC1*, *RHOA*, *KRAS* e *RAP1*) torna-se ativa (ASIRI et al., 2020). Essas GTPases estão geralmente mutadas ou apresentam expressão aumentada em diferentes cânceres, o que acelera a transformação maligna e o desenvolvimento tumoral (BRANDT et al., 2020). Este oncogene tem expressão aumentada no câncer de mama (HAUSER et al., 2014), pulmão de células não pequenas (TEW et al., 2008) e próstata (BOWLER et al., 2018).

A VUS *missense* em *SETD1B* c.3407A>G foi encontrada na probanda e seu irmão (II-3, câncer próstata). O gene *SETD1B* é responsável pelo controle epigenético, com impacto na expressão gênica (KRANZ; ANASTASSIADIS, 2020). Em uma coorte com 76 casos de câncer gástrico (38,7% dos casos) e 93 casos de câncer colorretal (35,6%), Choi et al. identificaram a presença de mutações *frameshift* no gene *SETD1B* em 9% das amostras de tumores gástricos e em 7% das amostras de tumores colorretais com alta instabilidade de microsatélites (CHOI et al., 2014). Estas variantes foram mais frequente em tumores localizados no cólon direito e no antro gástrico, sugerindo heterogeneidade na região em que o câncer se desenvolve (CHOI et al., 2014).

A VUS *missense* no gene *FAT1* c.2563G>A foi detectada na paciente índice, filha (III-1, CM) e o filho (III-2, não afetado). A proteína codificada pelo gene *FAT1* desempenha um papel essencial na polarização celular, migração celular dirigida e modulação do contato célula-célula. Relatos em literatura indicam que pode desempenhar um papel de oncogene ou supressor tumoral, dependendo do tipo de câncer (PASTUSHENKO et al., 2021; PENG; GONG; LIANG, 2021). Como supressor tumoral envolve a via WNT/ β -catenina em uma ampla variedade de cânceres, como: carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (CURY et al., 2021), câncer de esôfago (ZHANG et al., 2015), câncer de mama (MORRIS et al., 2013), glioblastoma multiforme (MORRIS et al., 2013), câncer cervical (BLAIR et al., 2006), colangiocarcinoma (YU; LI, 2017), câncer de bexiga primário (POLASCIK et al., 1995), câncer de pulmão e câncer colorretal (CASTRO et al., 2016). Dados também relatam que a perda de expressão de *FAT1* foi associada a maior grau histológico e envolvimento de metástase em linfonodos no câncer de mama (MORRIS et al., 2013). Outras pesquisas apontam *FAT1* como amplamente expresso em câncer colorretal metastático (ISHAQUE et al., 2018). Recentemente, Cury et al., relataram alterações germinativas e somáticas em pacientes jovens com câncer de cabeça e pescoço sugerindo que o gene *FAT1* pode estar associado ao prognóstico desfavorável nos pacientes portadores destas variantes (CURY et al., 2021).

Foram também identificadas duas VUS na paciente índice e sua filha (III-1, CM) nos

genes *EP300* c.6418G>A e *XPC* c.2348C>T, ambos supressores tumorais já relacionados com câncer de mama e câncer colorretal (CAMPBELL; CHOONG; CHENEVIX-TRENCH, 2004) (GAYTHER et al., 2000). O gene *EP300* está mapeado no cromossomo 22q, que é uma região que exibe frequente perda de heterozigose em vários cânceres, incluindo câncer de mama, colorretal, ovário, gástrico e pancreático (GAYTHER et al., 2000; CAMPBELL; CHOONG; CHENEVIX-TRENCH, 2004). É responsável pela regulação da transcrição via remodelação da cromatina atuando como histona acetiltransferase e tendo papel nos processos de proliferação e diferenciação celular anormais (GAYTHER et al., 2000). A proteína EP300 é um alvo para a oncoproteína E1A adenoviral, a qual foi associada com a transformação maligna (GAYTHER et al., 2000). Variantes somáticas no *EP300* foram descritas em um de 27 CCRs e em um de dois cânceres gástricos (MURAOKA et al., 1996; RÜHLMANN et al., 2019). Em um estudo com 193 tumores ovarianos, mamários, colorretais, pancreáticos, pulmonares e cerebrais, Gayther et al. identificaram seis variantes que resultaram em proteínas truncadas (GAYTHER et al., 2000). Duas dessas variantes foram detectadas em cânceres primários de mama e colorretal, e quatro em linhagens de câncer de mama, colorretal e pancreático. Mutações inativadoras no *EP300* foram relatadas em aproximadamente 25% das linhagens de câncer colorretal (BRYAN et al., 2002). Além de tumores epiteliais, *EP300* foi implicado no desenvolvimento de leucemia linfoblástica aguda (JING et al., 2020). Asaduzzaman et al. descreveram um mecanismo de regulação negativa de *EP300* no câncer de mama metaplásico, uma forma rara, mas agressiva de câncer de mama invasivo (ASADUZZAMAN et al., 2017). Em conjunto, estes dados apontam que o gene *EP300* atua na proliferação anormal em diferentes tumores humanos, incluindo o câncer de mama e colorretal, sem aparente papel na predisposição hereditária ao câncer.

Conforme mencionado anteriormente, uma variante no gene *XPC* c.2348C>T foi detectada na probanda e em sua filha (III-1, CM). O gene *XPC* é um supressor tumoral (ZAVALA et al., 2019) que atua no reparo por excisão de nucleotídeos (GG-NER) como um sensor de danos e componente do fator de ligação ao DNA do complexo *XPC*. A presença de mutações no gene *XPC* aumento o risco para o desenvolvimento do câncer de mama (ZAVALA et al., 2019). Embora seja comumente conhecido como “driver” em cânceres de pele, a sua presença leva a um risco de 10 a 20 vezes maior de desenvolver certas neoplasias associadas às síndromes de cânceres hereditárias (VIDAL et al., 2021). Alguns cânceres relacionados ao gene *XPC* incluem a leucemia, glioma, câncer de pulmão, câncer de útero, câncer de mama, colorretal e outros tumores sólidos (BUSHRA et al., 2020; LEE et al., 2018; MALIK et al., 2020; MARTIN-MORALES et al., 2018; OKAMOTO et al., 2008; SANTIAGO et al., 2020; ZHANG

et al., 2021b; ZHUNUSSOVA et al., 2019). Desta forma, a variante *XPC* c.2348C>T poderia ter papel no risco de desenvolvimento da doença.

Nós identificamos uma variante *missense* compartilhada entre a paciente índice e seu filho (III-2, não afetado) no gene *MLLT1* c.632G>A. O gene *MLLT1* codifica um regulador transcricional que pode ativar a transcrição de genes sintéticos em células linfóides e mielóides (NI et al., 2019). Estudos apontam que a expressão de *MLLT1* tem um efeito significativo na sobrevivência de pacientes com câncer colorretal de início precoce (LEHRER; RHEINSTEIN, 2020). Variantes somáticas do gene *MLLT1* e consequente aumento de expressão do gene *MYC* e desregulação de *HOX* foram descritas no tumor de Wilms (PERLMAN et al., 2015).

A probanda, seu filho (III-2, não afetado) e irmão (II-3, CP) foram identificados com a mesma variante *missense* em *PPFIBP1* c.685A>G (NM_003622.4). A proteína PPFIBP interage com S100A4, uma proteína relacionada à invasão tumoral e metástase (CHIARETTI et al., 2016). A proteína PPFIBP1 parece promover a mobilidade celular e a migração no câncer de mama e melanoma além de ser um importante promotor da migração de células de câncer de mama na degradação e invasão da matriz extracelular *in vitro*, tornando-a um potencial biomarcador neste tipo tumoral (CHIARETTI et al., 2016). Um estudo recente demonstrou que NF-κB modula a expressão de miR194-5p/IGF1R/PPFIBP; esse eixo pode ser fundamental para a tumorigênese ovariana (BAI et al., 2020).

Variações no número de cópias do DNA

Variações no número de cópias do DNA compreendem ganhos, perdas, duplicações ou deleções de segmentos genômicos contendo mais de 50 pares de bases (REDON et al., 2006). Essas alterações são responsáveis por uma parcela considerável da variação estrutural humana. Recentes estudos demonstram que as CNVs influenciam as características biológicas e podem aumentar o risco de desenvolvimento de doenças ou ter impacto no prognóstico (GORDEEVA et al., 2021; REDON et al., 2006; XIAO et al., 2019). Sua associação com o risco e agressividade tumoral foram descritos em vários tipos tumorais (BOUJEMAA et al., 2021a). Foram relatadas CNVs deletérias em pacientes com câncer afetando mais de 30% dos genes de alta penetrância associados com a predisposição hereditária (BOUJEMAA et al., 2021a).

A presença de CNVs raras foi investigada em todos os indivíduos desta família (Tabela 3). A probanda não apresentou nenhuma das três CNVs que foram detectadas nos demais parentes incluídos no estudo. Foi identificado um ganho em *BCL3* na filha (III-1, CM) e uma perda no mesmo gene em seu irmão (II-3, CP). O proto-oncogene *BCL3* está envolvido em uma translocação com o gene da imunoglobulina alfa em alguns casos de leucemia de célula B e é

regulador da via de sinalização NF- κ B (**Tabela Suplementar 6**). O aumento da expressão do *BCL3*, um *hallmark* do câncer, foi relatado no carcinoma colorretal e associado com aumento da proliferação celular, invasão, metástase e resposta inflamatória (LEGGE et al., 2020). O bloqueio de sua ação poderia levar a um aumento da resposta ao tratamento convencional do câncer, reduzir a recorrência e melhorar o prognóstico (LEGGE et al., 2020). Semelhantes aos achados do *BCL3*, foram também identificados ganhos em *CARD11* na filha (III-1, CM) da paciente e uma perda no mesmo gene em seu irmão (II-3, CP). A proteína CARD11 tem uma estrutura de domínio que interage especificamente com BCL10, uma proteína conhecida como regulador positivo da apoptose e ativação de NF- κ B. A presença de ganhos de *BCL3* (19q13) e *CARD11* (7p22.2) em um membro da família e perdas no outro sugere que essas regiões cromossômicas estariam sujeitas a alta instabilidade cromossômica (BURGESS, 2022). Interessantemente, usando o HumCFS: a Database of Human Chromosomal Fragile Sites (KUMAR et al., 2019), nós verificamos que em 19q13 onde está mapeado o *BCL3* tem o sítio frágil *FRA19A* (https://webs.iiitd.edu.in/raghava/humcfs/display_gene.php?details=BCL3) e que em 7p22, onde se mapeia o gene *CARD11*, encontra-se o sítio frágil *FRA7B* (https://webs.iiitd.edu.in/raghava/humcfs/display_gene.php?details=CARD11). O sítio frágil *FRA7B* é considerado um dos maiores sítios frágeis já estudados, englobando cerca de 12,2 megabases. Mapeado nas bandas do cromossomo 7p21.3-22.3, na interface das bandas G e R, uma região desafiadora no processo de replicação (BOSCO; PELLICCIA; ROCCHI, 2010).

O termo sítio frágil foi inicialmente descrito em literatura em 1969, a fim de caracterizar estruturas secundárias incomuns nos cromossomos que, se diferenciam das estruturas primárias presentes nos centrômeros (MAGENIS; HECHT; LOVRIEN, 1970; SCHMID; VISCHER, 1969). Essas regiões podem se manifestar em circunstâncias específicas de estresse replicativo de baixa dose. Embora não sejam capazes de interromper a divisão celular, resultam em falhas estruturais, quebras ou deficiências na compactação da cromatina (para revisão PENTZOLD et al., 2021). A presença de variantes estruturais do genoma em regiões de sítios frágeis podem promover CNVs como deleções, duplicações e translocações (ARLT et al., 2011; PENTZOLD et al., 2021). Tais alterações genéticas podem afetar genes-chave envolvidos no controle do crescimento celular, reparo de DNA e regulação do ciclo celular (MIRCETA et al., 2022). Como consequência, a função normal desses genes é alterada, o que aumenta o risco de desenvolvimento tumoral (Popescu, 1994; Mimori et al., 1999; Krummel et al., 2000; Mangelsdorf et al., 2000; Arlt et al., 2006, 2002; Burrow et al., 2009; Bignell et al., 2010).

A caracterização molecular dessas regiões tem sido foco de estudo pela sua ampla associação com várias doenças (para revisão ARLT et al., 2006). Os sítios frágeis podem ser

classificados em comuns e raros (atualmente mais conhecido como sítios frágeis de replicação precoce). Em ambos os casos, essas regiões desaceleram a replicação, resultando em maior fragilidade, que pode ser agravada por bloqueio do ATR, estresse oncogênico e deficiências na recombinação homóloga. Por sua vez, os sítios frágeis raros, encontrados em uma minoria da população humana e herdados de maneira mendeliana replicam-se no início da fase S, possuem maior acessibilidade de cromatina, uma alta densidade de origens de replicação, e maior conteúdo de G-C. A integridade da replicação nesse caso é desafiada por um aumento nos eventos de iniciação, resultando em conflitos de transcrição de replicação ou depleção de nucleotídeos. Já na presença de sítios frágeis comuns, ocorre a deficiência de eventos de iniciação da replicação podendo levar a progressão de replicação reduzida. Além disso, muitas vezes, essas regiões também coincidem com genes supressores tumorais e oncogenes (Iliopoulos et al., 2006). Estas alterações podem contribuir para a oncogênese e afetar genes que possivelmente aumentam a instabilidade genômica (revisado em Karras et al., 2016). Anormalidades estruturais ou rearranjos envolvendo sítios frágeis podem levar à inativação ou ativação desses genes, contribuindo para o desenvolvimento do câncer (ARLT et al., 2006).

Um estudo com 80 pacientes com câncer de mama descreveu a relação do supressor tumoral *FHIT* localizado em uma região de sítio frágil presente em 44% das amostras de câncer de mama (ARUN et al., 2005). Num estudo recente de Munk et al., deletaram sequências enormes de íntrons de 80 kb do *PRKN* e mostraram que essa deleção resultou em uma redução da fragilidade desse gene sem afetar sua expressão (MUNK; VOUTSINOS; OESTERGAARD, 2021). A descoberta e identificação de genes associados a sítios frágeis específicos proporcionam uma base para investigações adicionais sobre o papel dessas regiões em doenças genéticas humanas e câncer, impulsionando estudos mais aprofundados na área.

4.2.Família 2

Variantes Germinativas

A paciente índice da família 2 (III-1) tem história de três tumores primários: CM (47 anos), CCR (53 anos) e um microadenoma de pituitária (59 anos). Esta paciente preenche os critérios clínicos para HBOC, Síndrome de Lynch e HBCC. Na história familiar são relatados câncer de laringe (avô materno, I-1), câncer de endométrio (III-2: irmã aos 58 anos, III-4: prima materna aos 55 anos), CM (III-5 e III-6, duas primas maternas) e CCR (II-3 tio e II-4 tia maternos). O heredograma da história familiar da paciente está representado na **Figura 4**.

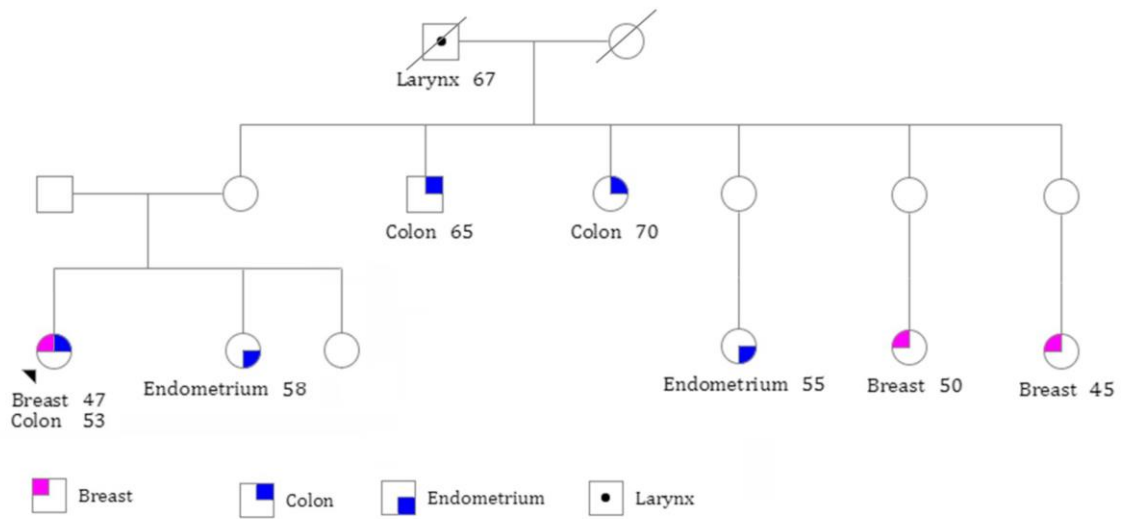


Figura 4. Heredograma representativo da família 2. A paciente índice (III-1) e duas irmãs (III-2 com câncer de endométrio e a III-3 sem câncer até o presente) foram avaliadas por sequenciamento total do exoma. O microadenoma de pituitária (III-1) não está representado por se tratar de uma lesão benigna.

As variantes LP nos genes *BPIFB1* c.148_157delACCAGCATCC, *BCORL1* c.20_32delTCTACAGCGGCGT, *ROPN1* c.103C>T e *PRSS3* c.200+3_200+7delAAGTG foram identificadas nos três casos avaliados por sequenciamento do exoma (III-1, III-2 e III-3) (**Figura 5**). A paciente índice apresentou 11 variantes LP [*BPIFB1* c.148_157delACCAGCATCC, *BCORL1* c.20_32delTCTACAGCGGCGT, *ROPN1* c.103C>T, *PRSS3* c.200+3_200+7delAAGTG, *TUBB2B* c.602G>C, *CFAP54* c.4930dupT, *PSG2* c.51delG, *SIRPB1* c.388delG, *NEB* c.402+1G>T, *COL4A3* c.3829G>A, *ASPH* c.1765-1G>A, *CEP162* c.10_13delTGTT] (**Figura 5**). A proteína secretada *BPIFB1* é diferencialmente expressa em diversas patologias (LI et al., 2020a; SHUM et al., 2013). Um estudo com 36 pacientes jovens (45 anos ou menos) diagnosticados com adenocarcinoma pulmonar de pacientes não fumantes, identificou uma nova variante germinativa em *BPIFB1* (rs6141383, p.V284M) (LUO et al., 2018). Segundo os autores, *BPIFB1* pode atuar como um supressor tumoral em alguns casos de câncer de pulmão, e a redução ou perda da expressão do gene pode estar associada a um pior prognóstico (LI et al., 2020a). Os autores sugerem que a *BPIFB1* pode ter um papel na resposta imune antitumoral no câncer de pulmão, embora esse aspecto ainda precise ser melhor compreendido (LI et al., 2020a). A baixa expressão de *BPIFB1* foi associada a uma pior sobrevida global e um tempo menor de recorrência em pacientes com carcinoma de nasofaringe (JIANG et al., 2022). A expressão aumentada desse gene é responsável por inibir o mimetismo vasculogênico entre as células tumorais do carcinoma de nasofaringe, por meio da regulação negativa da acetilação *H3K27* mediada por GLUT1 (JIANG et al., 2022). Os

dados em literatura indicam que o gene *BPIFB1* tem potencial para ser um biomarcador prognóstico.

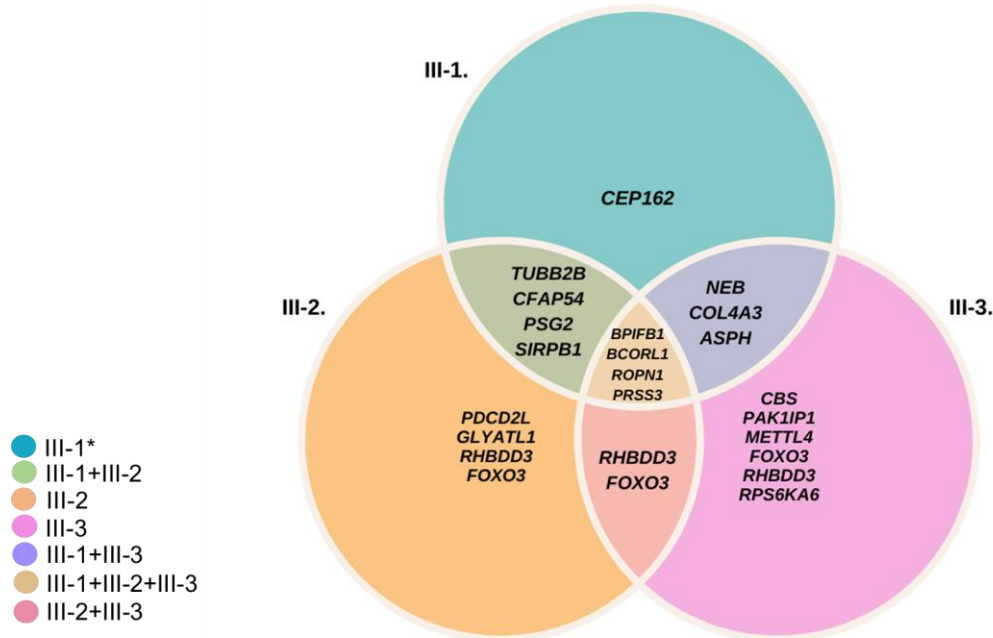


Figura 5. Diagrama de Venn ilustrando as variantes P e LP comuns a todos os pacientes da família 2. A probanda é indicada em azul (III-1, câncer de mama/colorretal), em laranja a irmã com câncer de endométrio (III-2) e em rosa a irmã não afetada (III-3). Os círculos coloridos a esquerda representam as intersecções entre os achados de cada paciente. A probanda é destacada com um asterisco (*) na legenda.

A variante *BCORL1* c.20_32delTCTACAGCGGCGT (LP) foi detectada em todos os membros estudados da família 2 (III-1, III-2 e III-3). A proteína codificada por esse gene atua como um co-repressor transcricional envolvido na regulação gênica negativa por meio de associações com vários complexos proteicos, como as histonas desacetilases de classe II (HDACs) (LIN et al., 2021a). Variantes somáticas em *BCORL1* foram descritas em várias doenças malignas, mas as germinativas não foram associadas a uma síndrome genética específica, além de aparentemente não atuar na predisposição ao câncer de mama familiar (LOSE et al., 2007).

Todos os casos investigados da família (III-1, III-2 e III-3) apresentaram a variante *ROPN1* c.103C>T (LP). O gene *ROPN1* codifica uma proteína chamada roporina que é expressa nas células germinativas do testículo e está envolvida na regulação da motilidade dos espermatozoides e da fertilidade masculina (CHEN et al., 2021a). A presença de mutação no gene *ROPN1* está ligada à infertilidade masculina, especialmente em situações de astenozoospermia, que resulta na diminuição da motilidade dos espermatozoides. O gene *ROPN1* é normalmente expresso apenas nas células germinativas do testículo, porém, sua expressão tem sido relatada em diversos cânceres, incluindo o de mama (IVANOV et al., 2013)

e na leucemia mieloide aguda (LMA) (ATANACKOVIC et al., 2011). A expressão do gene *ROPN1* foi observada no mieloma múltiplo, leucemia linfocítica crônica e em uma minoria dos pacientes com LMA (LI et al., 2007). No entanto, devido à baixa frequência de expressão deste antígeno, sua utilidade na imunoterapia antígeno-específicas para LMA parece ser limitada (ATANACKOVIC et al., 2011). *ROPN1* é altamente expresso em células de câncer de mama triplo negativo e está associado a um pior prognóstico, sendo considerado um alvo terapêutico em pacientes com esse tipo tumoral (LIU et al., 2020) (**Tabela Suplementar 6**). Embora o câncer de mama da paciente índice não seja triplo negativo (ER+/PR+/HER2-), os dados da literatura apontam para a relevância do gene *ROPN1* como alvo terapêutico e marcador prognóstico.

A variante LP em *PRSS3* c.200+3_200+7delAAGTG foi detectada em todos os membros analisados da família 2 (III-1, III-2 e III-3). O gene *PRSS3* codifica o tripsinogênio, um membro da família das serina proteases da tripsina. Desempenha um papel importante no desenvolvimento de muitos tumores, inclusive câncer de mama e câncer colorretal. Alterações neste gene foram associadas com o crescimento tumoral e progressão metastática no câncer de próstata e de pâncreas (MA et al., 2019). Foi descrito um aumento na expressão do transcrito *PRSS3* no carcinoma ductal invasivo da mama comparado com tecidos normais (QIAN et al., 2017). Esse aumento foi associado à idade dos pacientes, níveis de expressão de HER2, Ki-67 e subtipo histológico. A expressão aumentada da proteína PRSS3 é um potencial marcador prognóstico independente de sobrevida desfavorável em 5 anos em pacientes com carcinoma ductal invasivo da mama (QIAN et al., 2017). No câncer colorretal a proteína PRSS3 secretada promove a angiogênese e a invasão, induz a resistência aos fármacos cetuximabe e bevacizumabe, os quais são utilizados no tratamento destes pacientes com doença metastática (TAN et al., 2020). Portanto, a variante LP no gene *PRSS3* pode contribuir para o prognóstico desfavorável da doença (**Tabela Suplementar 6**).

A variante *TUBB2B* c.602G>C (LP) observada na probanda (III-1, CM/CCR) também estava presente na irmã (III-2, CE). O gene *TUBB2B* é responsável por codificar uma isoforma da β -tubulina ao qual atua na polimerização dos microtúbulos, processo envolvido na formação do fuso durante a mitose. Pacientes com variantes germinativas (dominante negativas) neste gene apresentam malformações de desenvolvimento cortical (polimicrogiria assimétrica), as quais resultam em severidade fenotípica variável (CUSHION et al., 2013). No câncer de mama parece haver uma regulação negativa do gene *TUBB2B* comparado com tecidos normais da mama (NAMI; WANG, 2018). Em 476 pacientes com câncer colorretal coletados do TCGA foi observado que com o aumento da estratificação de risco, os níveis de expressão de *TUBB2B*

também tendiam a aumentar, enquanto outros genes diminuía, mostrando uma relação com a taxa de mortalidade destes pacientes (ZHENG et al. 2020). Novamente, este gene parecer ser um marcador prognóstico e não associado ao risco de desenvolvimento da doença (**Tabela Suplementar 6**).

A variante LP em *CFAP54* c.4930dupT foi detectada na probanda (III-1) e em sua irmã com câncer de endométrio (III-2). O gene *CFAP54* (*Cilia and Flagella Associated Protein 54*) codifica uma proteína que atua na montagem e manutenção de cílios e flagelos, cujas mutações estão associadas a diversas ciliopatias (MCKENZIE et al., 2015). Acredita-se que a proteína CFAP54 desempenhe um papel na regulação da estrutura e estabilidade dessas organelas (GOLDSTEIN et al., 2019; MCKENZIE et al., 2015).

A variante *PSG2* c.51delG (LP) foi identificada na probanda (III-1, CM/CCR) e em sua irmã (III-2, CE). O gene *PSG2* (*Pregnancy-Specific Beta-1-Glycoprotein 2*) codifica uma glicoproteína que é normalmente produzida pela placenta durante a gravidez (MOORE; DVEKSLER, 2014). O gene *PSG2* apresenta expressão no câncer de mama, colo uterino e pulmão (GOODE; PRATAP; ELTOM, 2014; MARRERO-RODRÍGUEZ et al., 2018; SOUZA et al., 2023). A expressão de *PSG2* foi significativamente aumentada no câncer de colo de útero assim como na linhagem germinativa desses pacientes; a expressão de *KLF10* foi negativamente correlacionada com a expressão de *PSG2* (MARRERO-RODRÍGUEZ et al., 2018). A proteína *KLF10* se liga à região promotora de *PSG2* e reprime sua atividade transcricional. Esses resultados apontam que *PSG2* pode ter um papel fundamental na progressão do câncer de colo de útero e na regulação da resposta imunológica (MARRERO-RODRÍGUEZ et al., 2018). No câncer colorretal, Salahshor e colaboradores relataram baixa expressão de *PSG2* no câncer colorretal quando comparado a mucosa normal, o que sugere que o *PSG2* pode ser um possível biomarcador deste tipo tumoral (SALAHSHOR et al., 2005) (**Tabela Suplementar 6**).

Dois membros com câncer desta família (probanda, III-1; irmã, III-2) apresentaram a variante *SIRPB1* c.388delG (LP). O *SIRPB1* codifica a proteína reguladora do sinal beta-1 (*SIRPβ1*), um membro da família SIRP e da superfamília das imunoglobulinas (VISANI et al., 2011). É expressa na superfície de várias células e desempenha um papel na regulação da ativação das células imunológicas e na fagocitose (SONG et al., 2020). Disfunções na expressão ou função da *SIRPB1* foram implicadas em várias doenças, incluindo esquizofrenia, câncer e doenças autoimunes (HUANG et al., 2013). No adenocarcinoma de pulmão a expressão de *SIRPB1* estava significativamente reduzida nos tecidos tumorais em comparação com o tecido pulmonar normal adjacente (PINTARELLI et al., 2016). O *SIRPB1* é um gene regulado

positivamente no câncer de mama e está envolvido na adesão celular e fagocitose, aumentando o potencial metastático do câncer de mama (CHEN et al., 2019b). No câncer de próstata sua expressão está aumentada e a inibição da expressão diminui a proliferação celular, tornando este gene um potencial alvo terapêutico (SONG et al., 2020).

A variante *NEB* c.402+1G>T (LP) foi detectada na probanda e em sua irmã não afetada (III-3). O gene *NEB* é responsável por codificar a proteína nebulina, a maior proteína conhecida em humanos (WANG et al., 2020a). *NEB* contém 183 éxons e cobre 249 kb na região cromossômica 2q23 (WANG et al., 2020a). A proteína nebulina é importante para a função muscular e mutações neste gene foram associadas a doenças neuromusculares (PIGA et al., 2016). Não há evidências que apontem o *NEB* como um fator de risco para o desenvolvimento do câncer de mama, entretanto, dados sugerem que a mutação em *NEB* pode estar relacionada ao câncer de tireoide (WANG et al., 2020a). Observou-se também uma correlação entre a expressão do gene *NEB* e sobrevida de pacientes com câncer de cólon (WARD et al., 2022). O gene *NEB* é um preditor prognóstico independente para a recorrência em pacientes com câncer de bexiga não-músculo invasivo que receberam tratamento com *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) (SHAO et al., 2021). Foi também relatada uma possível associação entre a alta expressão do *NEB* e o aumento do risco de metástase linfonodal em mulheres obesas com câncer de endométrio (LÓPEZ-OZUNA et al., 2021). A análise do exoma em cinco pacientes com tumores de células germinativas testiculares bilaterais revelou a presença de 87 mutações somáticas não sinônimas, dentre elas foram descritas mutações no gene *NEB* (BRABRAND et al., 2015). Os resultados sugerem que as mutações no *NEB* podem estar envolvidas na formação independente de cada linhagem tumoral em casos de tumores bilaterais de células germinativas testiculares. Embora o gene *NEB* possa ter algum papel como marcador prognóstico, não há evidências de que esteja associado a predisposição hereditária ao câncer de mama e colorretal.

Encontramos a variante *COL4A3* c.3829G>A (LP) na probanda III-1 e em III-3 (não afetada). O gene *COL4A3* codifica a cadeia alfa-3 do tipo IV do colágeno, um componente importante da membrana basal de vários tecidos, incluindo rins, cóclea e olhos (LEMMINK et al., 1997). As mutações germinativas no gene *COL4A3* estão associadas a síndrome de Alport (DAI et al., 2020a; SAVIGE; HARRAKA, 2021), um distúrbio genético que afeta os rins, ouvidos e olhos, e a nefropatia da membrana basal fina, uma condição caracterizada pelo afinamento da membrana basal do rim (SAVIGE; HARRAKA, 2021). A expressão de *COL4A3* foi associada à angiogênese, o qual está associada a proliferação e metástase de tumores sólidos, incluindo o câncer de mama e ovário (TAO et al., 2022; ZHENG et al., 2021). O gene *COL4A3* apresenta alta expressão em células do câncer de mama em comparação com tecidos mamários

não afetados, e foi associado a uma piora na sobrevida global e livre de doença nestes pacientes. Considerado um possível biomarcador prognóstico no câncer de mama, o *COL4A3* pode ser um alvo promissor para o tratamento da doença (TAO et al., 2022). Curiosamente, a expressão do *COL4A3* foi relacionado com um melhor prognóstico de certos cânceres, como o de pulmão, cólon, bexiga, glândula salivar e de nasofaringe (JIANG et al., 2013; TAO et al., 2022; YANG et al., 2021b). No entanto, foi observado também uma associação negativa entre a expressão de *COL4A3* e a sobrevida em câncer de ovário seroso de alto grau (SIAMAKPOUR-REIHANI et al., 2015) e carcinoma gástrico (NIE et al., 2013), em que a expressão aumentada do gene foi relacionado a um prognóstico desfavorável (NIE et al., 2013; SIAMAKPOUR-REIHANI et al., 2015). No carcinoma gástrico a expressão de *COL4A3* foi correlacionada com o tamanho tumoral, invasão linfática, venosa e estágio da doença (NIE et al., 2013). Em um estudo com diferentes tipos de carcinomas nasofaríngeos a expressão de *COL4A3* foi significativamente maior no tipo descendente em comparação com o tipo ascendente (YANG et al., 2021b). O *COL4A3* está envolvido na remodelação anormal do colágeno e sua alta expressão foi associada com pior prognóstico em pacientes com câncer colorretal (LIANG et al., 2020). Isso sugere que o *COL4A3* pode ser um potencial alvo terapêutico para prevenir ou reverter a remodelação anormal da matriz de colágeno no câncer colorretal, podendo também atuar como biomarcador tumoral (**Tabela Suplementar 6**).

Assim como na probanda, observamos a variante em *ASPH* c.1765-1G>A (LP) na irmã não afetada (III-3). O gene *ASPH* (aspartato beta-hidroxilase) codifica um antígeno oncofetal importante na embriogênese. Entretanto, no câncer atua na regulação da angiogênese, indução da transição epitélio-mesênquima, modulação da resposta imune e regulação da síntese e modificação de proteínas (LIN et al., 2021b; ZHENG et al., 2020). A expressão aumentada de *ASPH* foi observada em vários tipos tumorais, incluindo câncer de pâncreas, fígado, pulmão, mama, endométrio e cólon (BENELLI et al., 2020a; CHEN et al., 2019a; HAYASHI et al., 2021; HOU et al., 2018; LIN et al., 2021c; XU et al., 2020; YAO; LIU; HUANG, 2018; ZOU et al., 2018). Terapias alvo direcionadas a *ASPH* podem restringir a invasão do câncer colorretal, reduzir a migração celular, a angiogênese e estimular a morte celular (BENELLI et al., 2020b). No câncer de mama, o *ASPH* pode ser um potencial biomarcador para prever o risco de metástase para o fígado (LIN et al., 2021c). O *ASPH* é regulado positivamente durante a tumorigênese e é essencial para a progressão do câncer. Este gene é um marcador prognóstico e um potencial alvo terapêutico (**Tabela Suplementar 6**).

A variante *CEP162* c.10_13delTGTT (LP) foi identificada apenas na probanda (III-1). O gene *CEP162* (do inglês, Centrosomal Protein 162) codifica uma proteína encontrada no

centrossomo (WANG et al., 2013). Mutações nesse gene podem estar relacionadas a uma variedade de distúrbios do desenvolvimento, incluindo a síndrome de Joubert e outras anomalias no desenvolvimento físico e intelectual (WANG et al., 2013). Durante um estudo que investigava o papel da *CDK19* no carcinoma hepatocelular, os pesquisadores também analisaram a expressão de outros genes nos tecidos tumorais e identificaram *CEP162*, como um dos genes regulado positivamente nesses tecidos (CAI et al., 2021). Esse aumento na expressão da *CEP162* pode contribuir para o comportamento agressivo das células do carcinoma hepatocelular (CAI et al., 2021).

A irmã da paciente índice (III-2, câncer de endométrio) também apresentou variantes LP nos genes previamente descritos *BPIFB1* c.148_157delACCAGCATCC, *BCORL1* c.20_32delTCTACAGCGGCGT, *ROPN1* c.103C>T, *PRSS3* c.200+3_200+7delAAGTG, *TUBB2B* c.602G>C, *CFAP54* c.4930dupT, *PSG2* c.51delG, *SIRPB1* c.388delG. As variantes LP em *PDCD2L* c.289delC, *GLYATL1* c.750_751delAT foram identificadas apenas nessa irmã da paciente-índice. O oncogene *PDCD2L* (*Programmed Cell Death 2 Like*), está envolvido em vários processos celulares, incluindo apoptose, regulação do ciclo celular, processamento de RNA e progressão da doença. Um estudo *Pan-Cancer* revelou a expressão aumentada de *PDCD2L* em vários tipos tumorais, incluindo o câncer colorretal, assim como baixa sobrevida livre da doença (GAO et al., 2022). A expressão mais alta de *PDCD2L* foi associada à piora da sobrevida dos pacientes (GAO et al., 2022). Em outro estudo recente, a expressão de *PDCD2L* foi negativamente correlacionada com o estadió do câncer colorretal e metástases linfonodais; os autores sugeriram que este gene pode atuar como um supressor tumoral (CHODARY KHAMENEH et al., 2022). Um estudo realizado *in vivo* e *in vitro* utilizando CRISPR-Cas9 relatou que o gene *PDCD2L* é essencial para a proliferação de células do câncer de mama invasivo e não invasivo (MAGUIRE et al., 2016). Interessantemente, o *knockdown* desse gene aumentou circunstancialmente a proliferação e migração das células *MCF10* (linhagem de câncer de mama invasivo) em cultura 3D (MAGUIRE et al., 2016). Os autores também relataram que o *knockdown* do *PDCD2L* acelerou o crescimento do tumor de mama e aumentou a incidência de metástase pulmonar em um modelo experimental (MAGUIRE et al., 2016).

A variante *GLYATL1* c.750_751delAT (LP) foi detectada apenas em III-2. O gene *GLYATL1* (do inglês, Glycine-N-acyltransferase-like 1) é um supressor tumoral que, codifica a enzima Glicina *N*-aciltransferase-like protein 1, responsável por catalisar a transferência de grupos acil da coenzima A para a glicina, contribuindo para o metabolismo de aminoácidos e ácidos graxos (GUAN et al., 2020a). É regulado negativamente e, está associado a pior prognóstico no câncer (GUAN et al., 2020a). Pacientes jovens com câncer de mama ER+

apresentaram diferentes níveis de expressão comparado com tumores de pacientes idosas (GUAN et al., 2020a). Em um outro estudo, a expressão aumentada de *GLYATL1* foi associada ao desenvolvimento e progressão do câncer de mama bilateral ER negativo (WANG et al., 2017a). No carcinoma hepatocelular foi relatada associação entre a expressão reduzida de *GLYATL1* e menor sobrevida global (GUAN et al., 2020b). Nestes tumores também foi relatada expressão diminuída da proteína *GLYATL1* comparado aos tecidos não tumorais (MATSUO et al., 2012), um achado posteriormente confirmado (BAI et al., 2022). Em câncer de próstata, a expressão de *GLYATL1* não era afetada pela regulação androgênica e pelo fator de transcrição variante *ETS1* (EICH et al., 2019).

Além das variantes LP identificadas na paciente índice (*NEB*, *COL4A3*, *ROPN1*, *FOXO3*, *ASPH*, *PRSS3*, *BPIFB1*, *RHBDD3*, *BCORL1*) e já descritas acima, a irmã não afetada (III-3) apresentou uma variante P em *CBS* c.572C>T e três outras variantes LP nos genes *PAK1IP1* (c.247+1G>A), *METTL4* (c.460-2A>G) e *RPS6KA6* (c.1242+1G>A). O gene *CBS* codifica a enzima cistationina beta-sintase (ZHAO et al., 2021). Mutações nesse gene podem causar homocistinúria (ZHAO et al., 2021). Este gene pode também estar envolvido em diversos processos tumorais, como cânceres colorretais e ovarianos, desempenhando um papel crucial no estímulo do metabolismo energético, proliferação e migração de células tumorais (CHAO et al., 2016; ZHAO et al., 2021). Níveis elevados do *CBS* foram identificados no câncer de mama e correlacionados com o índice de proliferação tumoral Ki-67 (PENG; ZHANG, 2022). No câncer gástrico ocorre baixa expressão de *CBS* (ZHAO et al., 2021). Youness et al. demonstraram que a redução da expressão de *CBS* em células de câncer de mama HER2+ e triplo negativo resultou na redução significativa da progressão do câncer de mama (YOUNESS et al., 2021).

Apenas na irmã da probanda (III-3, não afetada) foi observada a variante em *PAK1IP1* c.247+1G>A (LP). O oncogene *PAK1IP1* (*p21-activated kinase 1-interacting protein 1*), também conhecido como *ARHGEF28*, codifica uma proteína envolvida na regulação do crescimento e proliferação celular. Apresenta expressão aumentada no câncer de mama e promove a proliferação, migração e invasão celular (HIROKAWA et al., 2005). Além disso, *PAK1IP1* foi implicado no desenvolvimento de resistência ao tratamento tumoral (HIROKAWA et al., 2005). A expressão do gene *PAK1IP1* no câncer pancreático está aumentada, podendo estar relacionada à sobrevida diminuída (WANG et al., 2020). A inibição de *PAK1IP1* reduziu o crescimento tumoral, diminuiu a expressão de PD-L1 e aumentou a infiltração de células imunes no microambiente tumoral (WANG et al., 2020). O achado sugere que essa via de sinalização pode ser um alvo terapêutico potencial para o tratamento do câncer.

A variante *METTL4* c.460-2A>G (LP) foi detectada exclusivamente na irmã (III-3) da paciente índice. O gene *METTL4* (*methyltransferase like 4*) codifica uma proteína envolvida na transferência de grupos metil para moléculas de RNA (GOH et al., 2020). É responsável por catalisar a metilação da N6dA de células tumorais e ativar vários alvos indutores de metástase (HSU et al., 2022). A ativação desses alvos pelo *METTL4* promoveu a migração e invasão de células tumorais *in vitro* e metástase *in vivo*, enquanto o *knockdown* de *METTL4* suprimiu esses processos (HSU et al., 2022). Este gene é considerado um marcador prognóstico no câncer urotelial do trato superior (HSU et al., 2022). Uma alta expressão do gene *METTL4* foi relatada no câncer de colo de útero e associada a uma pior sobrevida global e sobrevida livre de doença (HSU et al., 2022).

Foram identificadas 226 VUS no paciente índice, as quais foram comparados com a lista de genes disponibilizados pelo COSMIC. Os três membros avaliados (III-1, III-2 e III-3) por sequenciamento do exoma apresentaram a variante *missense* *NFKB2* c.1129G>A. O gene *NFKB2* pertence a uma família de fatores de transcrição que atua na resposta imune e no desenvolvimento e progressão do câncer (KLEMMANN et al., 2019; TANIGUCHI; KARIN, 2018). É responsável por regular o desenvolvimento de órgãos linfóides, maturação de células B como as reações do centro germinativo (KLEMMANN et al., 2019; TANIGUCHI; KARIN, 2018). A desregulação dessa molécula foi descrita em diferentes tumores como o carcinoma inflamatório de mama, câncer colorretal, entre outros (LEREBOURS et al., 2008; ANTONACOPOULOU et al., 2020). Níveis aumentados de *NFKB2* e *RELB* e ativação da via NF-κB foram descritos em carcinomas de mama, próstata e em várias linhagens celulares de câncer (LESSARD et al., 2005; ROJO et al., 2016). Portanto, este gene pode ter um papel prognóstico.

A paciente índice e sua irmã (III-2) compartilharam a variante *missense* *CDH17* c.1946C>G. Este gene é um membro da superfamília da caderinas que codificam glicoproteínas associadas à membrana, estão presentes no trato gastrointestinal e apresentam aumento de sua expressão durante a embriogênese (SU et al., 2008). O gene *CDH17* é descrito como um marcador tumoral comum no câncer colorretal e câncer gástrico (SU et al., 2008), pois é pouco expresso em tumores primários ou em metástases em linfonodos regionais e câncer colorretal pouco diferenciado. Esse gene é altamente expresso em metástases hepáticas de câncer colorretal avançado, sendo apontado como um marcador de prognóstico desfavorável, e um candidato para diagnóstico precoce e monitoramento do câncer (ALTREE-TACHA; TYRRELL; HAAS, 2016; BARTOLOMÉ et al., 2018; ZHANG et al., 2021a).

A maioria das VUS da família 2 foram compartilhadas entre a paciente índice e a irmã não afetada (III-3), incluindo *CBLB* c.2702C>G, *KTN1* c.541G>A, *MUC16* c.36134C>T, *NSD1* c.1666A>G e *PRDM16* c.2119G>C. O proto-oncogene *CBLB* é responsável por codificar a ubiquitina-proteína ligase E3 que promove a degradação proteica mediada pelo proteossoma. Esse gene é importante na implementação de imunoterapias no câncer. Chen et al., relataram altos níveis de transcritos em tecidos tumorais comparados aos tecidos normais correspondentes em 93 pacientes com câncer de mama (CHEN et al., 2018). A proteína CBLB pode bloquear a via do TGF- β , contribuindo para proliferação do tumor mamário (CORTES-URREA et al., 2020). Em tumores gástricos foi relatada uma relação entre o desregulação do gene *CBLB* e a sensibilidade do fármaco cetuximabe por meio do sistema ubiquitina-proteassoma (YU et al., 2016). Mutações nesse gene também foram relacionadas a várias doenças malignas mielóides, como as síndromes mielodisplásicas, neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas e leucemia mielóide aguda secundária (MAKISHIMA et al., 2011).

A variante no gene *KTN1* c.541G>A foi identificada na paciente índice e a irmã não afetada (III-3). A proteína codificada por esse gene, é um receptor para cinesina, a qual está envolvida na motilidade das vesículas. No carcinoma hepatocelular este oncogene atua por meio da regulação do eixo miR-23c/*ERBB2IP* (GAO et al., 2021; ZHANG et al., 2019a). GAO et al., (2021) relataram que *KTN1* atua como um promotor do câncer de mama triplo-negativo.

A variante *MUC16* c.36134C>T (LP) foi detectada na probanda e em sua irmã não afetada (III-3). A proteína MUC16 age como uma barreira protetora e lubrificante contra partículas e agentes infecciosos nas superfícies das mucosas (AITHAL et al., 2018; LAKSHMANAN et al., 2012). Vários tipos tumorais como câncer de ovário, pâncreas, mama e pulmão, apresentam aumento de expressão do gene *MUC16*, o qual possivelmente promove resistência adquirida à terapia. A clivagem e a liberação do domínio extracelular de MUC16 é a principal barreira para o direcionamento eficiente de cânceres que expressam *MUC16* (AITHAL et al., 2018). O gene apresenta expressão aumentada no câncer de mama (LÓPEZ-JORNET et al., 2021), embora não seja expresso em ductos não neoplásicos. Estudos recentes apontam que este gene pode ser um marcador do câncer de mama detectável na saliva (LÓPEZ-JORNET et al., 2021). No câncer de ovário foi relatado como marcador tumoral (AITHAL et al., 2018; BACI et al., 2020). Pode exercer um papel crítico na patogênese do câncer colorretal (LIU et al., 2021), pois o aumento de sua expressão provavelmente está relacionado a um prognóstico desfavorável (LIU et al., 2021). Experimentos de *knockdown* estável de *MUC16* em células tumorais da mama (MDA, MB231 e HBL100) mostraram uma diminuição drástica nos níveis de crescimento celular do tumor e aumento da apoptose (LIU et al., 2021).

A variante *NSD1* c.1666A>G foi detectada na probanda e em sua irmã (III-3). Vários tumores apresentam expressão anormal do gene *NSD1* como resultado de mutações ou amplificação (YANG et al., 2021a). Lucio-Eterovic et al. encontraram mais de 300 genes-alvo do *NSD1* em linhagens celulares de câncer colorretal (LUCIO-ETEROVIC; CARPENTER, 2011). A interação entre *NSD1* e o receptor de andrógeno aumenta a transativação do receptor de andrógeno de uma maneira dependente do ligante em tumores de próstata (ZHANG et al., 2019). Interessantemente, variantes hereditárias da linhagem germinativa em *NSD1* foram descritas em aproximadamente 0,72% dos cânceres de linhagem germinativa, um efeito semelhante ao encontrado para os genes de predisposição ao câncer de mama como *BRCA1* (0,64%) e *ATM* (0,68%) (PARK; SUPEK; LEHNER, 2018). Entretanto, em nossa casuística apenas a paciente índice e sua irmã sem câncer (até o momento) apresentaram uma VUS no gene *NSD1*.

A variante *PRDM16* c.2119G>C estava presente em dois membros da família 2 (probanda, III-1; irmã, III-3). A proteína codificada pelo gene *PRDM16* atua como um regulador da transcrição, é necessária para a manutenção de células-tronco neurais e neurogênese bem como para a formação de células endodérmicas (SHIMADA et al., 2017).

Embora tenham sido detectados várias alterações relacionadas ao prognóstico ou alvos terapêuticos, não foram identificadas variantes potencialmente relacionadas à predisposição hereditária ao câncer nesta família.

Variações no número de cópias do DNA

Foram identificadas 355 CNVs raras ($p < 0,001$) nos membros analisados por SET (**Tabela Suplementar 5**). A probanda (III-1) apresentou somente cinco CNVs raras; nenhuma delas estava presente nos parentes testados, sendo elas: *SARAF* (início: 29921404, fim: 29927575), *CFAP46* (início: 134628081, fim: 134628250), *C1QTNF9B* (início: 24463271, fim: 24468340), *MIPEP* (início: 24463271, fim: 24468340), *GOLGA8M* (início: 28947100, fim: 28947515), *IL32* (início: 3118991, fim: 3119356).

Entre as CNVs raras ($p < 0,001$) identificadas na probanda (III-1), somente aquela mapeada no gene *IL32* (início: 3118991, fim: 3119356) apresentou dados em literatura que sugerem uma possível associação com a doença. A IL-32 (Interleucina 32), citocina descoberta em 1992 (DAHL et al., 1992), tem propriedades pró-inflamatórias e atua na resposta imunológica inata e adaptativa ao ativar as vias p38MAPK e NF-kappaB (KIM et al., 2005; LEE et al., 2009) (**Tabela Suplementar 6**). Sua produção é principalmente atribuída a células T, células natural *killer* e células epiteliais (para revisão HAN; YANG, 2019). A IL-32 estimula

de forma significativa a produção de TNF-alfa e MIP-2, aumentando a quantidade dessas citocinas de maneira proporcional à dosagem administrada (para revisão HONG et al., 2017). Diversas evidências indicam que a IL-32 está associada com a progressão de doenças autoimunes, tais como artrite reumatoide e doença inflamatória intestinal (para revisão YAN et al., 2018). Além disso, as citocinas desempenham um papel não apenas na inflamação, mas também no desenvolvimento e progressão tumoral (para revisão GAUTAM; PANDIT, 2021). Estas citocinas apresentam a capacidade de estimular imunócitos com propriedades imunossupressoras, bem como induzir a expressão aumentada de diversas citocinas nas células do estroma (para revisão HAN; YANG, 2019). Nesse contexto, a *IL-32* atua como promotor na carcinogênese, incluindo no câncer colorretal, mama, pulmão, gástrico e esôfago (NABEKI et al., 2015; PAVLOVIC et al., 2018; SEO et al., 2008; SORRENTINO; DI CARLO, 2009; URBIOLOA-SALVADOR et al., 2023). Em um estudo com 70 pacientes diagnosticados com câncer colorretal, sendo 47 casos com lesões metastáticas e 23 com lesões primárias, constatou-se expressão aumentada de *IL32* em lesões mais avançadas, principalmente nos casos de CCR primário com metástase linfonodal e metástase a distância (YANG et al., 2015b). Os autores sugeriram que a *IL32* é um potencial alvo terapêutico em casos de CCR metastáticos. Foi observado um aumento significativo de *IL-32* circulante em pacientes com câncer (72 pacientes com diferentes tipos de câncer, incluindo 17 com carcinomas de células escamosas do esôfago, 19 adenocarcinomas gástricos e 41 adenocarcinomas colorretais) em comparação com 28 controles saudáveis (DIAKOWSKA; KRZYTEK-KORPACKA, 2020). Notavelmente, os pacientes com tumores esofágicos apresentaram uma expressão de *IL-32* 2,2 vezes maior do que aqueles com tumores gástricos e 4,6 vezes maior do que aqueles com tumores colorretais (DIAKOWSKA; KRZYTEK-KORPACKA, 2020). Com base nesses resultados, os pesquisadores sugeriram que a *IL-32* pode desempenhar papéis distintos nos estágios anteriores à transformação neoplásica, em comparação com as células já transformadas (DIAKOWSKA; KRZYTEK-KORPACKA, 2020). A *IL-32* parece aumentar a sobrevivência das células de câncer de mama em um ambiente sem glicose, além de promover o aumento na proliferação celular (CHEN; TANG, 2015). Acredita-se que a *IL-32* exerça efeitos modulatórios no crescimento e na sobrevivência das células do câncer de mama. Portanto, a *IL-32* pode ser um novo alvo terapêutico para esse tipo tumoral (WANG; CHEN; TANG, 2015). A liberação de quimiocinas e citocinas pelas células imunes presentes no microambiente tumoral influencia o perfil imunológico do tumor e desempenha um papel crucial na predição do prognóstico. A *IL-32* é um alvo promissor para o desenvolvimento de terapias direcionadas assim como um marcador diagnóstico no câncer de mama e colorretal.

Cinco CNVs foram compartilhadas entre a irmã afetada (III-2) e a irmã não afetada (III-3): *CSF1* (início: 110453646, fim: 110460085); *ANKRD36C* (início: 96604577, fim: 96606947); *TRIO* (início: 14472701, fim: 14488369); *TRDN* (início: 123594109, fim: 123595815); *PHF19* (início: 123636257 fim: 123673791); *TRAF1* (início: 123636257 fim: 123673791). Apenas as CNVs em *CSF1* (início: 110453646, fim: 110460085), *TRIO* (início: 14472701, fim: 14488369) e *TRAF1* (início: 123636257 fim: 123673791), apresentaram evidências em literatura que comprovem sua relevância no câncer. O *CSF1* (*Colony Stimulating Factor 1*) é um fator de crescimento essencial para a regulação e diferenciação, sobrevivência, proliferação e renovação de monócitos e macrófagos circulantes (para revisão LIN et al., 2019). A interação entre *CSF1* e seu receptor, conhecido como *CSF1R*, desencadeia uma série de sinalizações celulares, resultando na ativação de genes envolvidos no desenvolvimento, diferenciação e função dos macrófagos (para revisão LIN et al., 2019). Drogas imunoterapêuticas promissoras dos inibidores de *CSF1* são úteis no tratamento de certos tipos tumorais (para revisão, CANNARILE et al., 2017). Essas drogas interrompem a interação entre o *CSF1* e seu receptor, impedindo o recrutamento e a ativação de macrófagos associados a tumores (TAMs) (para revisão CANNARILE et al., 2017). Os TAMs têm um papel significativo na promoção do crescimento do tumor, angiogênese, imunossupressão e metástase, já que a ativação excessiva desses macrófagos contribui para o crescimento e progressão do câncer (para revisão WEN et al., 2023). Os inibidores de *CSF1R* visam interromper essa interação para controlar o crescimento tumoral e melhorar a resposta imune contra o câncer (para revisão WEN et al., 2023) (**Tabela Suplementar 6**).

As duas irmãs da probanda (CE, III-2 e não afetada III-3), apresentaram um ganho em *PHF19* (início: 123636257 fim: 123673791) e *TRAF1* (início: 123636257 fim: 123673791) no mesmo *locus*. A proteína *PHF19* (*Plant Homeodomain Finger Protein 19*) atua em diversos processos biológicos, incluindo a regulação gênica e a remodelação da cromatina. Além disso, desempenha um papel essencial no desenvolvimento embrionário, na especialização das células e na regulação do ciclo de vida celular. O *PHF19* interage com outras proteínas e complexos para executar suas funções, sendo um deles o Polycomb 2, que está associado à supressão de genes. O *PHF19* pode ser encontrado em níveis anormais em determinados tipos de câncer, como câncer de mama, colorretal e leucemia. Essa expressão aumentada tem sido associada a um prognóstico desfavorável e a uma piora na progressão tumoral. O *PHF19* pode contribuir para o desenvolvimento do câncer ao estimular a divisão celular, impedir a apoptose, e influenciar a expressão de genes envolvidos no crescimento e na disseminação do tumor. No estudo conduzido por Li et al., foi realizada uma análise genômica abrangente em amostras de

câncer colorretal com o objetivo de investigar a presença de regiões conhecidas como super-intensificadores oncogênicos, uma característica chave na regulação do gene (LI et al., 2021b). Essas regiões regulam de forma intensa e específica a expressão de genes em tipos específicos de células (LI et al., 2021b). O estudo procurou identificar a associação dessas regiões com genes específicos e descobriu uma ligação com o gene *PHF19* (LI et al., 2021b). Como o *PHF19* desempenha um papel importante na regulação gênica e na remodelação da cromatina, a ativação dessas regiões associadas a esse gene pode levar a um aumento na sua expressão (LI et al., 2021b). Esse aumento na expressão do *PHF19*, estimula o crescimento e a progressão do câncer colorretal. Esses achados sugerem que o *PHF19* pode ser um alvo promissor para o desenvolvimento de terapias direcionadas ao câncer colorretal (LI et al., 2021b). O *PHF19* tem função oncogênica nos sarcomas de Ewing, por estar localizado após as proteínas de fusão EWS/ETS, que normalmente desencadeiam o programa oncogênico nesse tipo tumoral (GOLLAVILLI et al., 2018). Estudos adicionais sugerem que o *PHF19* também atua como um oncogene em outros tipos de tumores, como no câncer de ovário e gástrico (TAO et al., 2018; WANG et al., 2020b). Além disso, esse gene não é relevante apenas nas células tumorais, mas também desempenha um papel importante na resposta antitumoral (JI et al., 2019). Um exemplo disso é expressão aumentada de *PHF19*, estimulada pelo miR-155, em células T CD8+, o que fornece suporte para uma resposta antitumoral (JI et al., 2019). Os dados apontados, sugerem que o *PHF19* atua na promoção do crescimento tumoral assim como na resposta antitumoral, dependendo do contexto e das células envolvidas (**Tabela Suplementar 6**).

Como previamente citado, o ganho em *TRAF1* (início: 123636257 fim: 123673791) foi identificado na irmã afetada com câncer de endométrio (-2) e não afetada III-3. O *TRAF1* (*tumor necrosis factor receptor associated factor 1*) é uma proteína crucial nas vias de sinalização celular, estando envolvida em processos celulares como sobrevivência, crescimento e diferenciação celular (ROTHE et al., 1994; TSITSIKOV et al., 2001). Disfunções nesse gene podem desempenhar um papel tanto na promoção quanto na supressão do crescimento tumoral, dependendo do contexto específico, sendo associado à formação de certos tumores, como no câncer de mama, colorretal, hepatocelular e carcinoma de células renais (CHEN et al., 2022; HONG et al., 2018; ZHU et al., 2021). Estudos apontam que o *TRAF1* exerce um papel de regulação negativa na sinalização do fator de necrose tumoral por meio do TNFR2 (AGGARWAL, 2003). A ativação do *TRAF1* pode iniciar um mecanismo de retroalimentação regulatória que reduz os sinais transmitidos pelo fator de necrose tumoral (TNF), contribuindo para a resistência à morte celular programada nas células tumorais (IVAGNÈS et al., 2017; TSITSIKOV et al., 2001). Deng et al., identificaram um novo mecanismo relacionado à

atividade oncogênica da β -catenina no câncer de mama e colorretal (DENG et al., 2002). Os pesquisadores observaram que a β -catenina inibe a atividade da NF- κ B e influencia a expressão de genes controlados por essa via, incluindo o *TRAF1* (DENG et al., 2002). Níveis elevados de β -catenina resultam na redução do *TRAF1*, permitindo que as células tumorais evitem a vigilância imunológica (DENG et al., 2002). O *TRAF1* apresentou expressão significativamente elevada em células resistentes ao sunitinibe, tanto em modelos de carcinoma de células renais resistentes quanto em amostras clínicas (CHEN et al., 2022). A alta expressão de *TRAF1* foi atribuída à maior estabilidade do mRNA, devido a uma modificação específica pela N6-metiladenosina (m6A) em locais específicos do *TRAF1* (CHEN et al., 2022). Esses resultados contribuem para o entendimento do mecanismo de resistência ao sunitinibe e indicam que a inibição do *TRAF1* e suas vias pode ser uma abordagem promissora para pacientes tratados com esse fármaco (CHEN et al., 2022) (**Tabela Suplementar 6**).

Embora os achados tenham revelado uma quantidade expressiva de CNVs raras ($p < 0,001$) nos indivíduos analisados, somente aquela presente no *IL32* (início: 3118991, fim: 3119356), detectada exclusivamente na probanda (III-1) e as CNVs em *CSF1* (início: 110453646, fim: 110460085); *PHF19* (início: 123636257 fim: 123673791); *TRAF1* (início: 123636257 fim: 123673791); encontradas em ambas as irmãs da probanda (III-2 e III-3) foram previamente descritas em literatura, e podem ter relevância para o fenótipo da doença.

4.3.Família 3

Variantes germinativas

A probanda da família 3 foi diagnosticada com câncer de mama aos 36 anos o qual evoluiu para metástase óssea aos 37 anos. Entre os tumores relatados na família 3 estão o câncer estômago (avó materna, dois tios-avôs maternos), CM (tia materna, prima materna segunda grau, tia-avó materna, prima materna segundo grau), câncer de pulmão (tio-avô materno), CCR (tio-avô materno, primo materno de segundo grau) e câncer ósseo (prima materna segundo grau). O heredograma representativo da história familiar da paciente índice está disposto na **Figura 6**.

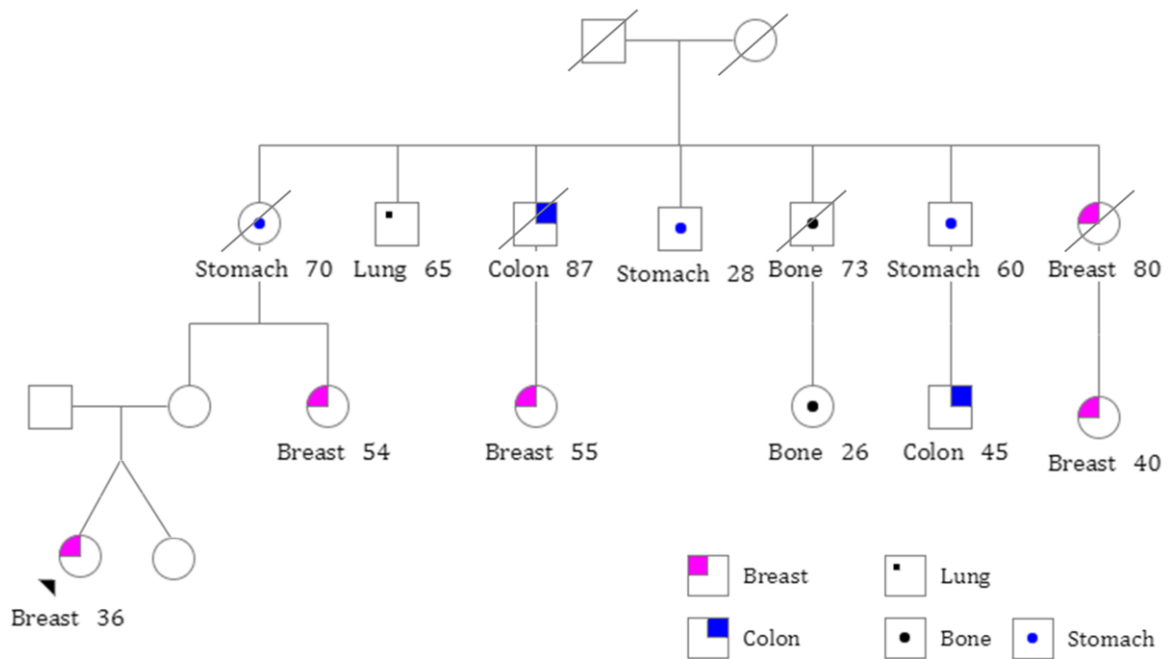


Figura 6. Heredograma representativo da família 3. O DNA obtido da paciente índice (IV-1), mãe da paciente (III-2) e da irmã gêmea (IV-2) foram sequenciados para o exoma total.

A probanda (IV-1) preenche os critérios de NCCN para HBOC e HBCC. A família também preenche os critérios para o CCR hereditário, associada a SL (primo materno de segundo grau, III-6). Não foram identificadas variantes P nos três indivíduos analisados por sequenciamento (probanda, mãe e irmã gêmea), apenas uma variante LP no gene *NOS3* encontrada em todos os indivíduos (**Figura 7**). Foram também identificadas 66 VUS na paciente índice, 67 na irmã gêmea (IV-2) e 76 na mãe (III-2) destes indivíduos. A irmã gêmea e a mãe não apresentavam histórico de câncer até a data da coleta dos dados. A irmã gêmea apresentou uma VUS diferente da paciente índice no gene *HCN2*. O gene *NOS3* codifica a enzima sintase do óxido nítrico endotelial, que desempenha um papel importante na regulação do fluxo sanguíneo e na manutenção da integridade do endotélio. Variantes germinativas em *NOS3* Glu298Asp foram associadas ao risco de câncer de mama e colorretal (ARIKAN et al., 2012; ROYO et al., 2006). Zou et al. utilizaram dados do TCGA para avaliar os níveis de expressão de *NOS3* em diversos tipos de câncer, verificando que houve um aumento significativo em vários deles, incluindo o câncer gástrico, quando comparado a tecidos saudáveis (ZOU et al., 2021). Estudos funcionais são essenciais para confirmar o papel da

variante do gene *NOS3* a qual é caracterizada por perda de função. Este é um candidato interessante de predisposição ao desenvolvimento da doença (**Tabela Suplementar 6**).

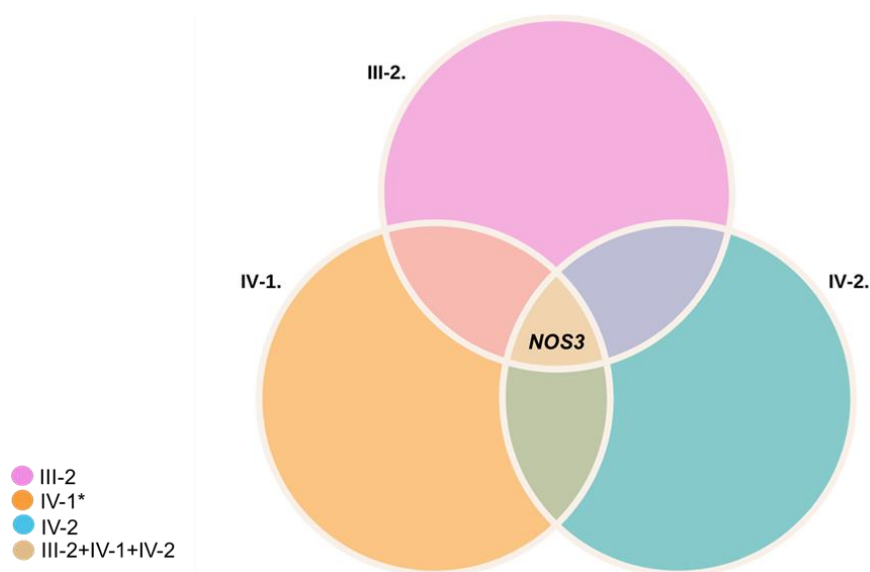


Figura 7. Diagrama de Venn ilustrando que a variante LP no gene *NOS* é compartilhada entre a probanda (IV-1, câncer de mama), irmã gêmea (IV-2, não afetada) e mãe (III-2, não afetada) das pacientes testadas por sequenciamento do exoma. As cores são correspondentes às intersecções entre os conjuntos, sendo a probanda destacada com um asterisco (*) na legenda.

Entre as 66 VUS detectadas na probanda, foi observada uma variante *missense* no gene *XPA* c.89G>A (NM_000380.4). Esta variante também estava presente na irmã gêmea (IV-2), mas não em sua mãe, assim como a variante *missense* no gene *NOTCH2* c.4922A>C (NM_024408.4). O supressor tumoral *XPA* (PODUVAL et al., 2020) atua na via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER) (DE SOUSA LEAL et al., 2020). Dados clínicos e de modelos animais sugerem que portadores heterozigotos de mutações na linhagem germinativa de *XPA* apresentam predisposição ao câncer de pele (AOUDE et al., 2020) e um risco maior de desenvolver outros tipos de câncer (VOSOUGH et al., 2020). Alterações nesse gene também levam a neurodegeneração e, consequentemente, a atrofia cerebelar, neuropatia e perda auditiva por um mecanismo ainda desconhecido (BORSZÉKOVÁ PULZOVÁ; WARD; CHOVANEC, 2020; SHELL et al., 2009). A hipermetilação do supressor tumoral *XPA* foi relatada em uma pequena proporção de indivíduos saudáveis, sugerindo que ele poderia ser um biomarcador para a detecção precoce do câncer (PODUVAL et al., 2020). Uma diminuição da expressão da proteína *XPA* foi identificada em 283 pacientes com câncer colorretal comparados com tecidos adjacentes, revelando sua importância como um possível biomarcador tumoral (FENG et al., 2018). Variantes em *XPA* podem contribuir para o aumento do risco da doença

nesta família, mas há a necessidade de seguimento clínico dos membros da família para conclusões mais efetivas assim como a confirmação do papel funcional desta variante.

A probanda e sua irmã gêmea (IV-2) apresentaram a variante *NOTCH2* c.4922A>C. O produto codificado por este gene atua no desenvolvimento morfológico normal dos organismos multicelulares, está envolvido na auto renovação de células-tronco, determinação do destino celular de células progenitoras e diferenciação celular (DING et al., 2020). O supressor tumoral *NOTCH2* (HO et al., 2018) codifica um receptor de transmembrana ativado por ligantes da família DSL (tipo Delta e Jagged) (LIN et al., 2019c). Mutações na linhagem germinativa do gene *NOTCH2* causam a síndrome de Alagille (KATOH; KATOH, 2020). Na tentativa de explicar o papel de *NOTCH2* na patogênese do câncer, estudos recentes indicaram uma associação entre esse receptor e a desregulação de miRNAs, células estromais associadas aos tumores e modulação em células tumorais (XIU; LIU, 2019). Em um estudo com 97 amostras de pacientes com CM e 24 amostras normais, foi observada uma expressão aumentada de *NOTCH2* e *NOTCH1*. Com relação ao tecido tumoral, houve um aumento da expressão de *NOTCH2* em tecidos bem diferenciados e redução em tumores de mama com pouca diferenciação. Curiosamente, a expressão aumentada de *NOTCH2* foi associada a uma melhor taxa de sobrevida, em contraste ao *NOTCH1*. Portanto, acredita-se que o *NOTCH2* desempenha um papel de supressor tumoral no câncer de mama (PARR; WATKINS; JIANG, 2004). Chu et al., observaram uma baixa expressão de *NOTCH2* em 216 pacientes com câncer colorretal, ao comparar o tecido normal adjacente e tecidos controle normais (CHU et al., 2009). Os achados revelaram uma alteração significativa na expressão do gene, uma vez que foi observada a redução gradual de *NOTCH2* ao decorrer da progressão e diferenciação do tecido tumoral (CHU et al., 2009). Os dados sugerem que o *NOTCH2* atua na diferenciação e progressão do CCR (CHU et al., 2009).

Foram também identificadas duas VUS compartilhadas pelos três membros da família: *IRF4* c.541T>C e *NCOA1* c.1716A>T. O fator de transcrição *IRF4* foi detectado com aumento de expressão no câncer colorretal (NASSAR et al., 2021), assim como em outros tumores como o mieloma múltiplo (caracterizado por translocação envolvendo o *IRF4* e o locus do IgH). Heimes et al. avaliaram o potencial da proteína IRF4 como marcador prognóstico no câncer de mama com linfonodos negativos em uma coorte de 197 pacientes (HEIMES et al., 2017). Os autores concluíram que a expressão aumentada do gene *IRF4* estava relacionada a um melhor prognóstico; entretanto, o impacto prognóstico era dependente do subtipo molecular do câncer de mama sendo mais pronunciado nos casos HER2+ (HEIMES et al., 2017).

A variante *NCOA1* c.1716A>T, como citado acima, foi observada em todos os membros

analisados por SET nesta família. A proteína codificada pelo gene *NCOA1* é um co-ativador de receptores nucleares que ao se ligar a estes receptores estimula as atividades transcricionais de maneira hormônio-dependente. A proteína *NCOA1* está envolvida na co-ativação de diferentes receptores nucleares, como os esteróides. No câncer de mama, a expressão aumentada do co-ativador nuclear *NCOA1* (*SRC-1*) está associada à recorrência da doença e resistência à terapia endócrina (QIN et al., 2020). A expressão de *NCOA1* foi descrita como baixa em tecidos normais, mas alta no câncer de mama metastático. A expressão aumentada de *NCOA1* foi associada com recorrência precoce, resistência à terapia endócrina e baixa sobrevida livre de doença (QIN et al., 2020). A expressão aumentada foi relatada em 19–29% dos tumores de mama e foi correlacionada positivamente com a expressão de *HER2*, metástase linfonodal, recorrência da doença e baixa sobrevida (KOUR et al., 2020). Portanto este gene tem potencial função prognóstica.

Variações no número de cópias do DNA

A probanda apresentou uma perda heterozigota nos genes *ROBO1* (início: 79638974, fim: 81586246) e *ROBO2* (início: 77571926, fim: 77626765), não observadas nos demais membros testados. Curiosamente encontramos um ganho no gene *ROBO3* (início:124735474, fim:124740624) na mãe da probanda. Um estudo mostrou uma hipermetilação nesse gene no câncer de colo uterino; entretanto, há poucos dados na literatura que o relacionem com outros tipos tumorais (NARAYAN et al., 2006). Previamente nosso grupo descreveu uma grande deleção intrônica germinativa envolvendo o gene *ROBO1* em três pacientes que preenchiam os critérios da síndrome do câncer de mama e colorretal hereditários (VILLACIS et al., 2016). Os carcinomas de mama de duas dessas pacientes apresentaram expressão diminuída do gene *ROBO1*. A análise de co-segregação acrescida aos outros achados deram suporte para sugerir que o gene *ROBO1* é um candidato a predisposição hereditária ao câncer de mama e colón. Je et al. sugeriram *ROBO1* e *ROBO2* podem desempenhar um papel na patogênese do câncer colorretal como supressores tumorais (JE et al., 2013). Essas variantes podem contribuir para o risco da doença, mas necessitam de validação funcional (**Tabela Suplementar 6**).

Foi identificada uma perda heterozigota também no gene *SCN1A* (início: 166847755, fim: 166872237), não observadas nos outros familiares estudados. O *SCN1A* é responsável pela produção da proteína de canal de sódio Nav1.1. Localizado no cromossomo 2q24, este gene é predominantemente expresso no cérebro. Os canais de sódio desempenham um papel essencial na geração e transmissão de sinais elétricos nos neurônios. Mutações no gene *SCN1A* foram associadas a diversos distúrbios neurológicos, principalmente a síndrome de Dravet, uma forma

rara e grave de epilepsia que geralmente se inicia na infância. No entanto, um estudo recente conduzido por Xie et al., também revelou uma possível relação entre esse gene e mecanismos de resistência quimioterápica no carcinoma espinocelular do esôfago (XIE et al., 2022). O estudo sugere que o SCN1A pode desempenhar um papel de gene driver importante nesse tipo de câncer, estando relacionado ao enriquecimento e à rede regulatória associada a essa resistência (XIE et al., 2022).

A probanda também apresentou uma deleção em *PIK3CA* (início: 178941869, fim: 178957852), um dos genes frequentemente mutados em tumores sólidos (KANDOTH et al., 2013; LAWRENCE et al., 2014). O gene *PIK3CA* (fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3-quinase subunidade catalítica alfa) é responsável por codificar a proteína p110 α , que é uma subunidade da enzima PI3K envolvida nas vias de sinalização celular (WHITMAN et al., 1988). A via da fosfoinositídeo 3-quinase (PI3K) desempenha um papel crucial na regulação de vários processos celulares, como crescimento celular, proliferação, sobrevivência e metabolismo celular (ARAFEH; SAMUELS, 2019). Mutações no gene *PIK3CA* levam ao aumento da atividade da via PI3K, resultando em crescimento celular descontrolado e desenvolvimento de tumores (MADSEN; VANHAESEBROECK; SEMPLE, 2018). Essas mutações são observadas com maior frequência em cânceres sólidos do que em qualquer outro gene, exceto pelo gene supressor de tumor *TP53* (MILLIS et al., 2016a). Além disso, as mutações ativadoras do *PIK3CA* são especialmente prevalentes em cânceres de mama (mais de 30% dos casos), endométrio (mais de 30% dos casos), bexiga (mais de 20% dos casos), carcinoma colorretal (mais de 17% dos casos) e carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (mais de 15% dos casos) (KANDOTH et al., 2013; LAWRENCE et al., 2014; MADSEN; VANHAESEBROECK; SEMPLE, 2018; MILLIS et al., 2016b). A deleção em *PIK3CA* pode levar a uma diminuição da atividade ou até mesmo à perda total da função da proteína PI3K. Isso pode interferir nas vias de sinalização celulares reguladas pelo *PIK3CA* e afetar negativamente o controle do crescimento celular. Onze % de 91 pacientes com síndrome de Cowden ou Cowden-like e sem alterações em *PTEN*, *SDHx* e *KLLN*, apresentaram alterações germinativas de ganho de função nos genes *AKT1* ou *PIK3CA* (ORLOFF et al., 2013). Essas mutações indicam que as vias de sinalização *PIK3CA* e *AKT1* desempenham um papel importante na predisposição a síndrome de Cowden (ORLOFF et al., 2013). De acordo com a metanálise realizada por ES et al., foi observado que as mutações no gene *PIK3CA* estão associadas a um prognóstico desfavorável do câncer colorretal metastático e, são preditivas de uma resposta reduzida à terapia anti-EGFR (ES et al., 2022). O direcionamento da via PI3K surgiu como uma estratégia terapêutica potencial para certos tipos de câncer com mutações

PIK3CA (JIN et al., 2021). Vários inibidores de PI3K foram desenvolvidos e testados em ensaios clínicos para inibir a atividade da enzima PI3K e potencialmente retardar ou interromper o crescimento de células cancerígenas (para revisão MISHRA et al., 2021; VASAN; TOSKA; SCALTRITI, 2019).

A probanda apresentou uma deleção em *RAD21* (início: 117868405, fim: 117878968). A *RAD21* é uma proteína fundamental no complexo de coesina, desempenhando um papel essencial na regulação da estrutura cromossômica (para revisão SCHIERDING; HORSFIELD; O'SULLIVAN, 2022). Ela atua na replicação e reparo do DNA, além da segregação cromossômica durante a divisão celular (CHENG; ZHANG; PATI, 2020). Juntamente com outras subunidades da coesina, *RAD21* mantém as cromátides irmãs unidas após a replicação do DNA, permitindo sua separação correta durante a divisão celular (DI NARDO; PALLOTTA; MUSIO, 2022). Sua interação com outras proteínas em complexos proteicos é crucial para a estabilidade do genoma e a função celular normal (para revisão KRAB et al., 2020). Anormalidades no gene *RAD21*, assim como alterações na expressão ou função da proteína, foram associadas a diversas doenças humanas, incluindo o câncer (KRAB et al., 2020; ZHANG et al., 2020). A desregulação do *RAD21* pode afetar a estabilidade cromossômica e levar à instabilidade genômica, uma característica comum em vários tipos de câncer (SUPERNAT et al., 2012; ZHU et al., 2020). Portanto, a compreensão do *RAD21* e sua disfunção molecular é importante para entender os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento do câncer e pode fornecer alvos terapêuticos potenciais. (CHENG; ZHANG; PATI, 2020). Pesquisas anteriores revelaram que a amplificação de *RAD21* está associada à resistência a tratamentos quimioterápicos, como no câncer de mama e colorretal (DEB et al., 2014; XU et al., 2011b). O estudo de Deng et al. revelou que a amplificação do *RAD21* no câncer de ovário suprime a resposta imune, bloqueando a via de sinalização do interferon por meio da interação com o complexo corepressor YAP/TEAD4 (DENG et al., 2022). A inibição desse gene resulta na ativação das células T, aumentando a eficácia da terapia anti-PD-1 e impedindo a progressão tumoral (DENG et al., 2022). Estes achados indicam que o *RAD21* atua na evasão imune, criando um microambiente tumoral com baixa infiltração de células T citotóxicas (DENG et al., 2022). Seu bloqueio pode melhorar a resposta a terapia anti-PD-1, impedindo a progressão tumoral (DENG et al., 2022). Um estudo retrospectivo em 652 casos de câncer colorretal revelou uma associação entre a expressão do *RAD21* e a presença de tumores mais agressivos, especialmente em pacientes com mutação no gene *KRAS*, como também resistência à quimiorradioterapia (DEB et al., 2014). De acordo com os resultados encontrados, é possível inferir que o *RAD21* seja um alvo terapêutico promissor no tratamento

do câncer colorretal (DEB et al., 2014). A expressão do *RAD21* em cânceres de mama, incluindo os tipos luminal, basal e HER2 de alto grau, foi associada a um prognóstico desfavorável e, de forma ampla, à resistência à quimioterapia (XU et al., 2011a).

Uma deleção em *CYBB* (início: 37586889, fim: 37668944) foi observada na probanda. Este gene é conhecido como gene da cadeia pesada do citocromo B-245 ou *NADPH* oxidase 2/NOX2 (para revisão GRAUERS WIKTORIN et al., 2020). Ele codifica uma subunidade de proteína que faz parte do complexo enzimático *NADPH* oxidase (para revisão GRAUERS WIKTORIN et al., 2020). O complexo *NADPH* oxidase é predominantemente expresso em células imunes, como neutrófilos e macrófagos, desempenhando um papel essencial na defesa do sistema imunológico contra patógenos (para revisão GRAUERS WIKTORIN et al., 2020). O *CYBB* é um gene pró-inflamatório, contribuindo para as respostas inflamatórias mediadas pelo complexo *NADPH* oxidase (CHEN et al., 2021b). Ele gera espécies reativas de oxigênio transferindo elétrons do *NADPH* para o oxigênio molecular, levando à produção de ânions superóxido (LEIDING; HOLLAND, 2022). A formação de espécies reativas de oxigênio a partir de enzimas NOX tem sido associada à carcinogênese (para revisão XIAN et al., 2019). Adicionalmente, a expressão de várias enzimas NOX em tumores malignos pode desempenhar um papel não apenas na progressão e disseminação do câncer, mas também na indução da apoptose de células malignas (para revisão XIAN et al., 2019). Mutações no gene *CYBB* podem causar a doença granulomatosa crônica ligada ao cromossomo X, uma condição hereditária caracterizada por um complexo *NADPH* oxidase defeituoso, resultando na produção prejudicada de ROS (para revisão LEIDING; HOLLAND, 2022). Como consequência, os indivíduos possuem uma capacidade comprometida de destruir certos tipos de bactérias e fungos, levando a infecções recorrentes e graves, especialmente nos sistemas respiratório e gastrointestinal (LEIDING; HOLLAND, 2022). Uma análise *in silico* mostrou que o *CYBB* estava regulado positivamente no câncer colorretal, e negativamente no adenocarcinoma renal (CUI et al., 2021). Em 38 carcinomas gástricos e 31 tecidos normais adjacentes foi observado níveis significativamente elevados de expressão de *CYBB* nos tumores (CHEN et al., 2021b). Os resultados sugeriram que o *CYBB* é um promissor biomarcador para esse tipo específico de câncer (CHEN et al., 2021b).

A irmã gêmea da probanda apresentou uma perda heterozigota no gene *MUTYH* (início: 45794978, fim: 45798996), classificado como patogênica pelo ClinVar. Mutações germinativas no gene *MUTYH* estão associadas a um risco aumentado de desenvolver câncer colorretal e pólipos adenomatosos (NIELSEN; INFANTE; BRAND, 1993) (**Tabela Suplementar 6**). Essas mutações podem levar a uma condição autossômica recessiva chamada polipose associada a

MUTYH (MAP), e os portadores de variantes *MUTYH* bialélicas P/LP exibem um alto risco de câncer colorretal ao longo da vida (OLKINUORA et al., 2022). No entanto, pacientes com mutações em *MUTYH* também podem desenvolver outros tipos de tumores, incluindo duodenal, mama, ovário, pâncreas, bexiga e câncer de pele (BONO et al., 2021; THIBODEAU et al., 2019). *MUTYH* desempenha um papel no dano oxidativo do DNA removendo adenina mal incorporada oposta a 8-oxoG, um tipo de dano oxidativo do DNA (NIELSEN; INFANTE; BRAND, 1993). Portanto, mutações no gene *MUTYH* podem diminuir a capacidade da proteína de reparar danos ao DNA (MAGRIN et al., 2022). Akcay et al., investigaram 1.001 participantes, incluindo 606 pacientes com câncer de mama, 162 pacientes com câncer colorretal e 233 controles idosos (AKCAY et al., 2021b). Os resultados mostraram que variantes patogênicas germinativas foram identificadas em 11,6% dos pacientes com câncer de mama, 16,7% dos pacientes com câncer colorretal e 6% dos controles idosos (AKCAY et al., 2021b). *MUTYH* foi um dos genes com maior frequência de variantes patogênicas em pacientes com câncer colorretal (AKCAY et al., 2021b). A irmã gêmea da paciente não apresentou câncer, até a presente data, mas esta variante assim como *NOS3* podem aumentar o risco para o desenvolvimento de tumores. Esta paciente deve ser acompanhada clinicamente.

Foi identificada uma perda afetando o gene *EPHA7* na probanda e um ganho nesse mesmo gene na irmã gêmea (IV-2, não afetada). O mesmo ocorreu com o gene *ROS1* e *RAD21*, em que houve uma perda na probanda e um ganho na irmã gêmea (IV-2) não afetada. Outras três CNVs foram identificadas apenas na probanda como a perda nos genes *ACVR2A*, *AKAP9* e *BCLAF1* (**Tabela 3**). Como previamente citado, alterações envolvendo os mesmos genes e achados discrepantes de ganhos e perdas podem indicar que a região/genes envolvidos estão sujeitos a quebras e rearranjos em sítios frágeis.

Recentemente, Simpson et al. analisaram uma lista de genes (descrita por LI et al., 2020), mapeados próximos a sítios frágeis (SIMPSON; PYE; WHITAKER, 2021). Ao compararmos essa lista com os genes presentes na probanda, identificamos deleções heterozigotas em genes mapeados próximos a sítios frágeis: *MACROD2*, *LRP1B*, *DMD*, *PTPRD* (**Tabela 3**). Medindo 2,06 Mb, o gene gigante *MACROD2* (início:16021846, fim: 16025284) foi identificado como o segundo sítio mais alterado em uma análise *Pan-cancer* realizada por LI et al. (2020). Genes grandes (genes médios estão entre 10-15 kbp) são considerados mais propensos a abrigar sítios frágeis. Deleções frequentes de *MACROD2* no câncer colorretal altera o reparo e a sensibilidade a danos ao DNA e resulta em instabilidade cromossômica (ZHANG et al., 2019). No câncer de mama, o gene *MACROD2* parece mediar o crescimento e proliferação celular por meio de mecanismos dependentes e independentes de

ER, podendo ser um novo alvo terapêutico (MOHSENI et al., 2014).

O gene *LRP1B* apresentou várias regiões com deleções heterozigotas (**Tabela 3**). É considerado um gene gigante (1,90 Mb), sendo o sexto em grau de maiores alterações em sítios frágeis na listagem de Simpson et al., o que pode justificar essa alta quantidade de deleções quando comparado a outros genes (SIMPSON; PYE; WHITAKER, 2021). Em um estudo com 3312 cânceres humanos, o supressor tumoral *LRP1B* estava alterado ou inativado em muitos tumores sólidos e malignidades hematológicas (BEROUKHIM et al., 2010; BROWN et al., 2021). O gene *LRP1B* foi um dos 10 genes mais frequentemente deletados (BEROUKHIM et al., 2010; BROWN et al., 2021). Brown et al. identificaram 101 pacientes com alterações em *LRP1B* e o câncer de mama foi um dos tipos mais frequentemente observados apresentando variantes (P/LP vs VUS%) (BROWN et al., 2021). Wang et al. investigaram a relação do gene *LRP1B* com o câncer colorretal e relataram que a regulação negativa do gene estava associada a metástases *in vivo* (WANG et al., 2017b) (**Tabela Suplementar 6**).

O gene *DMD* (2,24 Mb) encontra-se em nona colocação entre os sítios frágeis mais afetados (LI et al., 2020b; SIMPSON; PYE; WHITAKER, 2021). A proteína codificada por este gene tem papel na integridade das fibras musculares, sendo o único gene identificado como um fator de risco em potencial nos locais de junção do reto e retossigmóide. Foi relatado pela primeira vez por Vieira et al., como um potencial biomarcador de prognóstico desfavorável no câncer colorretal (VIEIRA et al., 2021) (**Tabela Suplementar 6**).

Em décimo segundo lugar dos sítios frágeis mais afetados (LI et al., 2020b; SIMPSON; PYE; WHITAKER, 2021), está o *PTPRD* (2,30 Mb), o qual codifica um receptor tirosina-proteína fosfatase (RPTP). Este gene encontra-se frequentemente mutado em vários tipos de câncer, incluindo câncer de pulmão, cólon e glioblastoma. Foram relatadas deleções homozigotas (HSU et al., 2018) e silenciamento epigenético no gene *PTPRD* nesses cânceres, indicando sua função como um supressor tumoral (VEERIAH et al., 2009) (**Tabela Suplementar 6**).

Portanto, nossos achados indicam a presença de várias CNVs mapeadas em genes próximos a sítios frágeis, as quais podem resultar em instabilidade cromossômica e consequente aumento do risco de câncer.

4.4. Paciente 11

Variantes Germinativas

A probanda 11 foi diagnosticada com CM bilateral aos 64 anos e CCR aos 71 anos. Sua irmã relatou CM aos 68 anos. A paciente preenche os critérios do NCCN para HBOC e HBCC

segundo a classificação de Meijers-Heijboer et al (2003) e Naseem et al. (2006). O heredograma representativo da história de câncer desta família pode ser observado na **Figura 8**.

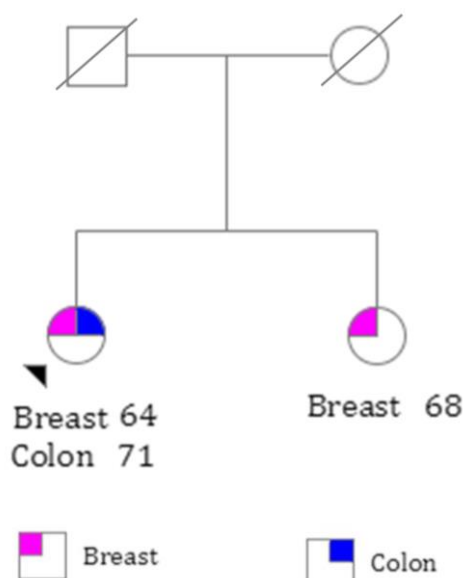


Figura 8. Heredograma representativo do Caso 11. A probanda com CM e CCR (II-1) foi avaliada por sequenciamento total do exoma.

Foi identificada apenas uma variante LP (ACMG e ClinVar) em *CYP1B1* (c.1159G>A) (**Tabela 2**). O gene *CYP1B1* codifica uma enzima pertencente à família do citocromo P450, responsável por metabolizar compostos xenobióticos, incluindo carcinógenos do tabaco e outros poluentes ambientais (HOLLIS et al., 2022). Além disso, esta proteína desempenha um papel na metabolização de hormônios esteróides e na progressão de alguns cânceres, como o de mama e próstata (LIN et al., 2022; MIN et al., 2022) (**Tabela Suplementar 6**). Polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNP) neste gene foram associados a um risco aumentado de desenvolvimento destes dois tipos tumorais (HE et al., 2014; KATO et al., 2018; VISHNUBALAJI; ALAJEZ, 2021). Os níveis de expressão da proteína CYP1B1 foram avaliados em 192 amostras de câncer colorretal sendo significativamente maiores em comparação com tecidos normais adjacentes (LIU et al., 2018). Além disso, pacientes com alta expressão de *CYP1B1* apresentaram taxas significativamente menores de sobrevivência global e livre da doença quando comparados com pacientes com baixa expressão dessa proteína. Portanto, estes estudos sugerem que *CYP1B1* é um potencial biomarcador prognóstico.

A paciente apresentou 49 VUS (**Tabela Suplementar 4**), as quais foram comparadas com os dados do COSMIC, entre elas duas variantes *missense* nos genes *NTRK1* c.16C>T e *NFATC2* c.1952G>A. O gene *NTRK1* codifica a proteína TRKA (receptor tirosina quinase A), responsável por atuar no desenvolvimento do sistema nervoso, sobrevivência neuronal, plasticidade sináptica e regulação da dor (KHOTSKAYA et al., 2017). Mutações neste gene

podem causar disfunções no sistema nervoso e transtornos mentais (NAKAJIMA et al., 2020). Além disso, *NTRK1* pode se rearranjar com outros genes para formar proteínas com potencial oncogênico, que foram associadas a uma variedade de tumores, incluindo câncer de pulmão, pâncreas, mama, colorretal, sistema nervoso central e sarcomas (DOEBELE et al., 2020; HAYASHI; HONG; IACOBUZIO-DONAHUE, 2021; OBERNDORFER; MÜLLAUER, 2018, 2018; SOLOMON et al., 2019).

A probanda também apresentou a variante *missense NFATC2* c.1952G>A. A proteína NFATC2 (do inglês, Nuclear Factor of Activated T-cells 2) é ativada pela enzima calcineurina e está envolvida em processos de regulação da resposta imune, desenvolvimento cardíaco e neural, regeneração muscular e diferenciação de células T (LIEBER et al., 2018; PERRET et al., 2020). É um membro da família NFAT de fatores de transcrição, que são ativados por vias de sinalização de cálcio e ajudam a controlar a resposta imune (LIEBER et al., 2018; PERRET et al., 2020). Mutações no gene *NFATC2* e a expressão anormal dessa proteína foram relatados em tumores de mama, colorretal, pâncreas e adenocarcinoma de pulmão (BAUMGART et al., 2012; WANG et al., 2021; XIAO et al., 2017). No câncer de mama, o *NFATC2* é expresso em níveis elevados nos tecidos tumorais e está associado a um prognóstico desfavorável (KIM et al., 2018; ZHAO et al., 2022). No câncer colorretal, o fator de transcrição NFATC2 atua como um oncogene (DUQUE; FRESNO; IÑIGUEZ, 2005; GERLACH et al., 2012). A expressão de *NFATC2* foi maior no câncer colorretal em comparação com tecidos normais adjacentes (LANG et al., 2018). Os autores também mostraram que *NFATC2* está envolvido na regulação da capacidade de auto-renovação e iniciação tumoral das células-tronco de tumores colorretais. O uso de um inibidor específico reduziu a auto-renovação e a capacidade de iniciação tumoral das células-tronco colorretais *in vivo* e *in vitro*, indicando que o *NFATC2* é um alvo terapêutico promissor para o tratamento do câncer colorretal (LANG et al., 2018). Os dados em literatura demonstram que essa proteína promove a invasão e a migração de células tumorais, contribuindo para a progressão do câncer, e sua inibição pode ser uma estratégia terapêutica para alguns tipos tumorais, incluindo o câncer de mama e o colorretal.

Variações no número de cópias

Foram identificadas 213 CNVs raras ($p < 0,001$) na paciente 11 (**Tabela Suplementar 5**), entre elas a deleção heterozigota no gene *PMS2* (início: 5764955, fim: 6045662) com 280.707pb afetando os éxons 2 a 15 (**Tabela 3**). Por ser um gene alterado em três casos (Paciente 11, Paciente 12 e Paciente 13), ele será discutido, em detalhes, ao final desta seção. Adicionalmente, foram identificadas outras CNVs previamente descritas em literatura, que

poderiam explicar o fenótipo da paciente. Dentre essas alterações, destaca-se um ganho no gene *POLE2* (início: 50154854, fim: 50160008), também observado na Paciente 13, e uma deleção em *NOMO1* (início: 14946287, fim: 14959012).

A proteína *POLE2* (do inglês, centromere-associated protein E) é uma subunidade da DNA polimerase epsilon (Pol ϵ), que é uma das principais enzimas envolvidas na replicação do DNA, responsável por sintetizar a fita principal durante a replicação do DNA (PALLES et al., 2013b). O gene *POLE2* forma um complexo com três outras subunidades (*POLE1*, *POLE3* e *POLE4*) para criar o núcleo catalítico de Pol ϵ (HAMZAOUÏ et al., 2020; MAGRIN et al., 2021). Este complexo é responsável pela replicação precisa e eficiente do DNA (PALLES et al., 2013b). Mutações no gene *POLE2* foram associadas a certos tipos de câncer, incluindo câncer colorretal e de endométrio (IMBODEN et al., 2019; PALLES et al., 2013b). Essas mutações podem levar a alterações na replicação do DNA, contribuindo para o desenvolvimento e progressão do câncer (HAMZAOUÏ et al., 2020). Chubb et al utilizaram sequenciamento de exoma em 1.006 casos de câncer colorretal familiar de início precoce, comparados a 1.609 indivíduos saudáveis da população em geral no Reino Unido. Os autores identificaram mutações raras altamente penetrantes em 16% dos casos de câncer colorretal familiar, sendo o *POLE2* um dos genes associados a essas mutações. Essa descoberta levou ao reconhecimento do *POLE2* como um novo candidato para suscetibilidade ao câncer colorretal, devido à presença de mutações germinativas truncadas (CHUBB et al., 2016). Um estudo prévio identificou variantes raras em *POLE2* c.823C>A;p.Leu275Ile em 5 de 1.006 pacientes com câncer colorretal familiar ou de início precoce, e ausente em 1.609 controles, e a variante em *POLE2* c.1328_1329insT; p.Leu443Phefs*17 em mais dois pacientes com câncer colorretal (SPIER et al., 2015). Em um estudo de triagem mutacional do gene *POLE2* realizado em 473 casos de câncer familiar de início precoce, foram identificados quatro indivíduos portadores de variantes *missense* patogênicas nesse gene (BELHADJ et al., 2020) (**Tabela Suplementar 6**)..

Foi encontrada uma deleção em *NOMO1* (início: 14946287, fim: 14959012). O gene *NOMO1*, também conhecido como modulador *NODAL1* (HAFFNER et al., 2004), é um gene que atua como um modulador da via de sinalização Nodal, essencial para o estabelecimento da assimetria esquerda-direita durante o desenvolvimento embrionário (DUAN et al., 2015; FRANCESCANGELI et al., 2015). Essa via regula a expressão de vários genes envolvidos no posicionamento e desenvolvimento de órgãos, incluindo aqueles relacionados ao coração, pulmão e assimetria de outros órgãos (DUAN et al., 2015; FRANCESCANGELI et al., 2015). Mutações ou desregulação do gene *NOMO1* podem interromper a função normal da via de sinalização Nodal e levar a anormalidades de desenvolvimento, incluindo anomalias na

assimetria esquerda-direita (para revisão SUN; LI; QIAN, 2022). Estudos têm revelado que o câncer colorretal apresenta uma deleção frequente em *NOMO1* (16p13.12-p13.11) (PEREA et al., 2017; PÉREZ-GARCÍA et al., 2022). Perea et al., conduziram uma pesquisa com 82 indivíduos diagnosticados com câncer colorretal em idade igual ou inferior a 45 anos, e 97 indivíduos diagnosticados durante o mesmo período com câncer colorretal aos 70 anos ou mais. A deleção foi identificada em 23,3% dos pacientes com câncer colorretal, ocorrendo com maior frequência no subgrupo de início precoce (33,3%) do que no câncer colorretal de início tardio (16,3%). Os resultados sugerem que essa deleção pode ser um alvo potencial no tratamento do câncer colorretal de início precoce (PEREA et al., 2017) (**Tabela Suplementar 6**).

4.5. Paciente 12

Variantes Germinativas

A probanda 12 apresentou CM bilateral aos 55 anos e CCR aos 57 anos. A mãe da paciente foi diagnosticada com osteossarcoma aos 52 anos, uma das irmãs da probanda apresentou CM aos 40 anos e CCR aos 48 anos, a outra irmã um câncer de tireoide aos 45 anos. A paciente preenche os critérios para HBOC e HBCC. O heredograma representativo da história de câncer desta família pode ser observado na **Figura 9**.

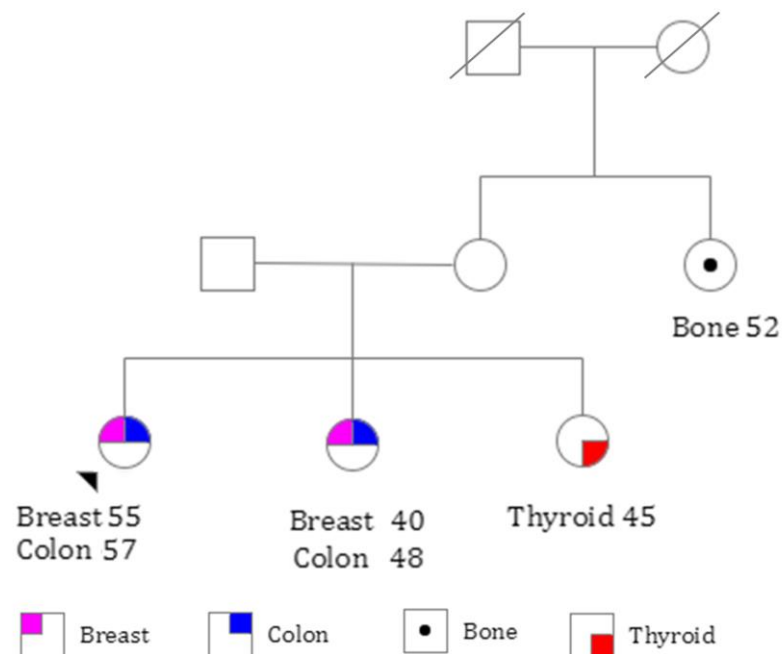


Figura 9. Heredograma representativo do caso 12. O DNA obtido da probanda (III-1) foi avaliado por sequenciamento total do exoma.

A análise por SET identificou três variantes LP (ACMG e ClinVar) nos genes *SLC3A1*

c.1400T>C, *MAT1A* c.826dupG e *PTGIS* c.824G>A (**Tabela 2**). O gene *SLC3A1* codifica um carreador de cisteína, encontrado principalmente nas células epiteliais da mucosa intestinal e túbulo renal, sua expressão anormal está associada a várias doenças, incluindo diabetes, obesidade, doença hepática gordurosa não alcoólica e alguns tipos de câncer (SUMITANI et al., 2022; WU; REISMAN; KLAASSEN, 2020). A proteína *SLC3A1* foi associada à sobrevivência e proliferação celular no câncer de mama, uma vez que fornece o aminoácido cisteína, um nutriente crucial para o metabolismo celular (JIANG et al., 2017). A expressão de *SLC3A1* é maior no câncer de mama do que em células normais, e quando a expressão é inibida, há uma redução na proliferação, migração e invasão das células tumorais (JIANG et al., 2017). Além disso, a expressão elevada de *SLC3A1* acelera a captação de cisteína e o acúmulo de glutathione redutora, o que leva à redução das espécies reativas de oxigênio (ROS) (MENG; FUKADA; TONKS, 2002) nas células tumorais, indicando a relevância do *SLC3A1* no câncer de mama (JIANG et al., 2017). O *SLC3A1* foi identificado com expressão aumentada no carcinoma seroso de ovário de alto grau e associado com prognóstico desfavorável (SUMITANI et al., 2022).

Como previamente descrito, foi encontrada uma variante LP em *MAT1A* c.826dupG. O gene *MAT1A* codifica a enzima metionina adenosiltransferase 1A, responsável pela síntese da molécula SAME a partir de metionina e ATP (PASCALE et al., 2022). A SAME é essencial em vários processos biológicos, como a metilação, síntese de poliamina e glutathione (PASCALE et al., 2022). É mais conhecido por sua associação com a hipermetioninemia, um distúrbio raro caracterizado por altos níveis de metionina no sangue, que pode causar atraso no desenvolvimento, deficiência intelectual e problemas hepáticos (FRAU; FEO; PASCALE, 2013). A desregulação de *MAT1A* em células tumorais resulta em baixos níveis de SAME, o que pode prejudicar a proliferação celular, uma vez que a falta de SAME afeta a capacidade das células tumorais de sintetizar o DNA corretamente, levando a erros de replicação e instabilidade genética (MALDONADO et al., 2018). Além disso, a desregulação de *MAT1A* leva a um aumento nos níveis de homocisteína, que é tóxico para as células e pode promover a progressão do câncer (FRAU; FEO; PASCALE, 2013). Em tumores de fígado, a indução da expressão de *MAT1A* resultou em uma redução na proliferação celular e na inibição do crescimento tumoral (FRAU; FEO; PASCALE, 2013; MURRAY et al., 2019).

Também foi identificada neste paciente a variante *PTGIS* c.824G>A (LP). O gene *PTGIS* (do inglês, *Prostaglandin I2 Synthase*) codifica um membro da família do citocromo oxidase P450. Esta proteína do retículo endoplasmático catalisa a conversão da prostaglandina H2 para prostaciclina, um mediador lipídico que tem propriedades anti-trombóticas e anti-

inflamatórias (SOMMERFELD et al., 2022). No câncer, a hipermetilação do promotor do gene *PTGIS* foi associada à aneuploidias no câncer colorretal, sugerindo que a perda de expressão do gene *PTGIS* pode contribuir para a instabilidade cromossômica e a progressão tumoral (FRIGOLA et al., 2005). Pacientes com câncer de mama que apresentam altos níveis de *PTGIS* em seus tecidos tumorais e têm uma menor taxa de sobrevida em 10 anos (KLEIN et al., 2015). Além disso, a alta expressão de *PTGIS* pode promover a infiltração de células imunes, como macrófagos associados a tumores e células T reguladoras, no microambiente tumoral, o que prejudica o prognóstico de pacientes com câncer de pulmão, ovário e estômago (DAI et al., 2020b; LICHAO et al., 2012). A expressão de *PTGIS* também foi observada aumentada no tecido tumoral quando comparado a saudáveis (WU et al., 2023). Em resumo, o *PTGIS* é um gene importante no contexto do câncer e pode fornecer informações valiosas para o prognóstico e tratamento da doença (**Tabela Suplementar 6**).

Entre as 59 VUS encontradas na paciente 12 (**Tabela Suplementar 4**), foi identificada a variante *missense* no gene *WRN* c.95A>G também presente na lista de genes do COSMIC. O supressor tumoral *WRN* codifica uma enzima da família de genes *RECQ*, fundamental para a manutenção da estabilidade genômica (IGLESIAS-PEDRAZ et al., 2020). *WRN* está envolvido na Síndrome de Werner (OSHIMA; MARTIN; HISAMA, 1993), uma rara condição hereditária que predispõe ao câncer e se caracteriza pelo envelhecimento precoce e encurtamento dos telômeros (OSHIMA; MARTIN; HISAMA, 1993). O gene *WRN* foi relatado como associado ao risco de desenvolvimento do câncer de mama e ovário em uma família (YANG et al., 2015a). Variantes germinativas no gene *WRN* foram descritas no câncer colorretal familiar de início precoce (NOROUZI et al., 2021; ZIMMER et al., 2020). Norouzi et al., investigaram vários membros de uma família que desenvolveram câncer e relataram uma variante patogênica em *WRN* (NM_000553:exon9:p.R389Efs*3), que não estava presente em membros não afetados da família ou em indivíduos saudáveis da população em geral (NOROUZI et al., 2021). Os achados sugeriram que a variante identificada no gene *WRN* pode ter contribuído para o desenvolvimento do câncer nessa família (NOROUZI et al., 2021). A proteína *WRN* pode estar envolvida também no processo de reparo a danos do DNA que surgem da instabilidade de microssatélites (MSI) e, portanto, pode ser um alvo terapêutico potencial para o tratamento de destes cânceres (VAN WIETMARSCHEN; NATHAN; NUSSENZWEIG, 2021). Li et al. realizaram um estudo caso-controle que analisou os polimorfismos de nucleotídeos únicos no gene *WRN*, e identificaram a variante *WRN* c.4330T>C como associada a um aumento na suscetibilidade ao carcinoma de esôfago (LI et al., 2016). Agrelo e colaboradores relataram hipermetilação do *WRN* na linhagem germinativa de pacientes com câncer de mama (AGRELO

et al., 2006; SAVVA et al., 2021). A proteína WRN é crucial para proteger e estabilizar as forquilhas de replicação, que são frequentemente encontradas em células com mutação no gene *BRCA2* (DATTA et al., 2021). Portanto, a variante detectada no gene *WRN* pode estar relacionado a síndrome hereditária do câncer de mama e ovário e, poderia explicar o fenótipo apresentado nesta família. Infelizmente, não foi possível realizar testes de sequenciamento em outros membros desta família, pois se recusaram a participar do estudo (**Tabela Suplementar 6**).

Variações no número de cópias

A análise de CNVs revelou apenas 17 variantes raras ($p < 0,001$) (**Tabela Suplementar 5**), incluindo um ganho no gene *PMS2* (início: 6013030, fim: 6022622), compreendendo os exons 12 a 15 (**Tabela 3**), a qual é uma região de alta homologia com o pseudogene *PMS2CL*. Este achado será discutido a seguir.

4.6. Paciente 13

Variantes Germinativas

A probanda foi diagnosticada com CM (mama esquerda) aos 48 anos e CCR aos 56 anos. Em sua história familiar consta o CM (mãe, irmã, duas primas paternas), câncer de pâncreas (irmã) e CCR (primo materno). A paciente não soube informar a idade do diagnóstico de câncer dos seus familiares. A paciente preenche os critérios do NCCN para HBOC e HBCC. O heredograma representativo da história de câncer desta família pode ser observado na **Figura 10**.

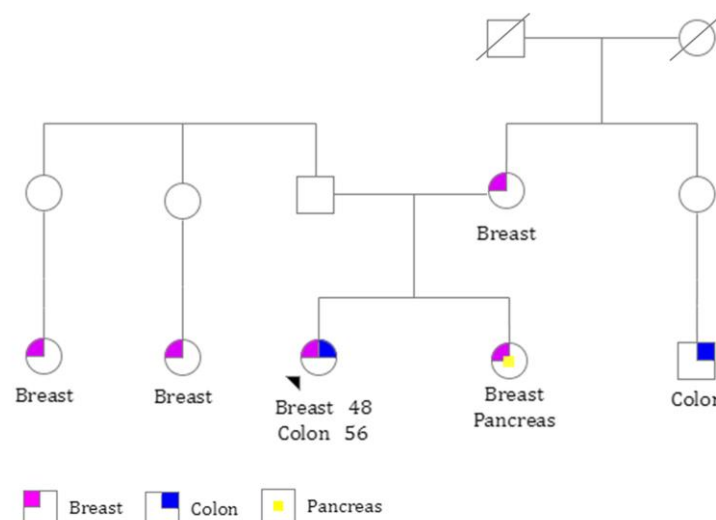


Figura 10. Heredograma representativo do caso 13. O DNA obtido da probanda (III-1) foi avaliado por sequenciamento total do exoma.

Não foram identificadas variantes P e LP (**Tabela 2**) na paciente, entretanto, foram detectadas 33 VUS (**Tabela Suplementar 4**). Essas 33 VUS foram comparadas com a lista de genes disponibilizados pelo COSMIC resultando em duas variantes *missense* nos genes *GNAQ* c.286A>T e *PTCH1* c.140G>T. O gene *GNAQ* codifica a proteína G(q) subunidade alfa, que atua na via de sinalização Gq. Essa via transmite sinais do exterior para o interior da célula (LIETMAN; MCKEAN, 2022). Mutações no gene *GNAQ* estão associadas a distúrbios como a Síndrome de Sturge-Weber (VAN TRIGT; KELLY; HUGHES, 2022), que causa o crescimento exacerbado de vasos sanguíneos no cérebro e na pele. Mutações nos genes *GNAQ/GNA11* estão presentes em cerca de 80% dos casos de melanoma uveal (LIETMAN; MCKEAN, 2022; ROSSI et al., 2021). Estas mutações resultam na ativação da via de sinalização MAP quinase, um fator chave para o desenvolvimento do melanoma uveal (LIETMAN; MCKEAN, 2022). Foi observada uma expressão significativamente maior de *GNAQ* no câncer de mama triplo negativo em comparação com outros subtipos, o qual foi correlacionado com uma menor sobrevida livre de doença (LIN et al., 2019a). A mesma variante *GNAQ* (c.286A>T) detectada na paciente índice foi relatada em uma pequena porcentagem de cânceres colorretais avaliados por sequenciamento de um conjunto de genes (LEE et al., 2016).

Foi identificada na paciente índice a variante *missense PTCH1* c.140G>T. O supressor tumoral *PTCH1* (*Patched-1*, mapeado em 9q22.3) codifica uma proteína receptora transmembranar envolvida na via de sinalização Hedgehog, a qual é crítica para o desenvolvimento embrionário, homeostase tecidual e proliferação celular. A proteína PTCH1 atua como um regulador negativo de Hedgehog, inibindo a atividade de outra proteína transmembranar chamada Smoothened. Quando os ligantes Hedgehog se ligam à proteína PTCH1, a inibição do Smoothened é aliviada, levando à ativação de cascatas de sinalização a jusante. Alterações germinativas em *PTCH1* estão associadas a vários distúrbios genéticos, incluindo a síndrome de Gorlin (PALACIOS-ÁLVAREZ; GONZÁLEZ-SARMIENTO; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2018), também conhecida como síndrome do carcinoma basocelular nevíide. Trata-se de uma doença autossômica dominante rara que se caracteriza por anormalidades no desenvolvimento e ocorrência de vários tipos de tumores, como o carcinoma basocelular, meduloblastoma e fibromas ovarianos (PALACIOS-ÁLVAREZ; GONZÁLEZ-SARMIENTO; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2018). Mutações no gene *PTCH1* também podem ser encontradas em carcinomas basocelulares esporádicos, meduloblastomas, tricoepiteliomas cutâneos, carcinomas de células escamosas do esôfago, câncer de mama e em cistos odontogênicos (YANG et al., 2022). Foram relatadas aproximadamente 300 mutações

conhecidas no gene *PTCH1* e cerca de 50 polimorfismos (MUSANI et al., 2013). Wang et al. relataram que pacientes com mutações no gene *PTCH1*, incluindo *PTCH1* c.3583A>T (éxon 22), apresentam uma probabilidade significativamente maior de recorrência do câncer de mama em um período de acompanhamento de cinco anos, em comparação com aqueles sem variantes nesse gene (WANG et al., 2019). Além disso, o estudo relatou que pacientes com mutações em *PTCH1* apresentaram um prognóstico desfavorável em comparação com indivíduos sem mutações, com uma taxa mais alta de mortalidade por câncer de mama (WANG et al., 2019). Variantes raras e comuns em *PTCH1* foram associadas a um risco aumentado de cânceres ginecológicos, em especial as variantes raras de perda de função em indivíduos com câncer de ovário e endometrial (YANG et al., 2022). Em pacientes sul-africanas avaliadas por sequenciamento de um painel de genes para identificar variantes de predisposição ao câncer mama e ovário foi identificada uma paciente com uma variante no gene *PTCH1* (c.4187delG). Lang et al., investigaram 39 pacientes com câncer de mama e negativas para mutações nos genes *BRCA1/2*, sete delas apresentaram uma variante germinativa patogênica no gene *PTCH1* c.2479A>G (LANG et al., 2020). Portanto, os achados em literatura demonstram que variantes no gene supressor tumoral *PTCH1* podem contribuir para a predisposição hereditária ao câncer de mama e para o fenótipo da paciente deste estudo. A variante *PTCH1* c.140G>T precisa ser investigada por ensaios funcionais e de segregação para ser confirmada como associada a predisposição hereditária ao câncer de mama e colorretal.

Variações no número de cópias do DNA

Foram identificadas 150 CNVs raras na paciente índice 13 (**Tabela Suplementar 5**). Entre elas, foi detectada a deleção heterozigota em *PMS2* (início: 6048628, fim: 6049129) com 501pb localizado no éxon 1, uma região que não tem homologia com o pseudogene do *PMS2* (**Tabela 3**). Adicionalmente, foi detectada a deleção no gene *ASH2L* (início: 37914599, fim: 37963256) (**Tabela 3**) e ganho em *POLE2* (início: 50120873, fim: 50131392) (**Tabela 3**) anteriormente descrito no item do Paciente 11 (**Tabela Suplementar 6**).

O gene *ASH2L* (*Absent, Small, or Homeotic discs 2-like protein*) é responsável por codificar uma proteína envolvida na regulação epigenética e na ativação transcricional (para revisão CHANG et al., 2018). É um componente do complexo multimérico SET1/MLL histona metiltransferase, que desempenha um papel crucial na embriogênese e na diferenciação de células-tronco (CHANG et al., 2018; CHEN et al., 2011). A *ASH2L* ao interagir com Tbx1, Pax7 ou Mef2, resulta no aumento dos níveis da marca epigenética H3K4me3 (para revisão CHANG et al., 2018). Além disso, a proteína *ASH2L* é um membro chave do complexo

ASH2L, que inclui outras proteínas como WDR5, RBBP5 e DPY30. Juntos, eles facilitam a transferência de grupos metil para a histona H3 na lisina 4 (H3K4), resultando também na metilação de H3K4 (KAWABE et al., 2012). Essa modificação da histona está associada à ativação transcricional e é encontrada em genes transcritos ativamente (STOLLER et al., 2010). Ao promover a metilação do H3K4, a ASH2L ajuda a estabelecer um ambiente de cromatina permissivo que permite a transcrição eficiente do gene (STOLLER et al., 2010). Estudos apontam seu envolvimento em diversos processos biológicos, incluindo desenvolvimento embrionário, autorrenovação de células-tronco, hematopoiese e desenvolvimento tumoral (ZENG et al., 2020). A desregulação da expressão ou função de *ASH2L* tem sido implicada em vários tipos de câncer, incluindo leucemia, câncer de mama, endométrio e pulmão (ZENG et al., 2020). A atuação do *ASH2L* como coativador de GATA3 resulta no aumento da expressão do ER α (CLARKE; ANDERSON; HOWELL, 2004). Qi et al., observaram que a alta expressão de ER α está frequentemente correlacionada com um aumento na expressão de *ASH2L* em linhagens celulares de câncer de mama e cânceres de mama primários (QI et al., 2014). No câncer colorretal, o *ASH2L*, atua positivamente, sendo recrutado para a região promotora de genes associados à apoptose mediada por p53, potencializando sua função e induzindo a morte celular (MUNGAMURI et al., 2015). No câncer cervical, foi observada uma alta expressão dessa proteína, e sua redução inibe a proliferação das células HeLa (LÜSCHER-FIRZLAFF et al., 2008). De acordo com o estudo de Zeng et al., foi observada uma alta expressão do *ASH2L* no câncer de endométrio, a qual foi associada a um prognóstico desfavorável. Esses achados sugerem que a expressão aumentada pode ser atribuída ao papel do *ASH2L* como coativador do ER α , o que estimula a proliferação celular e a migração no câncer de endométrio. Pensando nisso, foi testada a redução de *ASH2L* por *knockdown*, ao qual suprimiu significativamente a proliferação e a migração celular no câncer de endométrio, destacando-o como um possível alvo terapêutico nessa doença. Esses resultados fornecem pistas promissoras para o desenvolvimento de alvos terapêuticos em tumores que apresentem relação com o ER α (YU et al., 2019; ZENG et al., 2020).

Como previamente descrito, a Paciente 11 e Paciente 13 apresentaram uma deleção heterozigota do gene *PMS2* (início: 5764955, fim: 6045662 e início: 6048628, fim: 6049129, respectivamente) enquanto um ganho significativo deste gene foi detectado na probanda do Caso 12 (início: 6013030, fim: 6022622) (**Figura 11**).

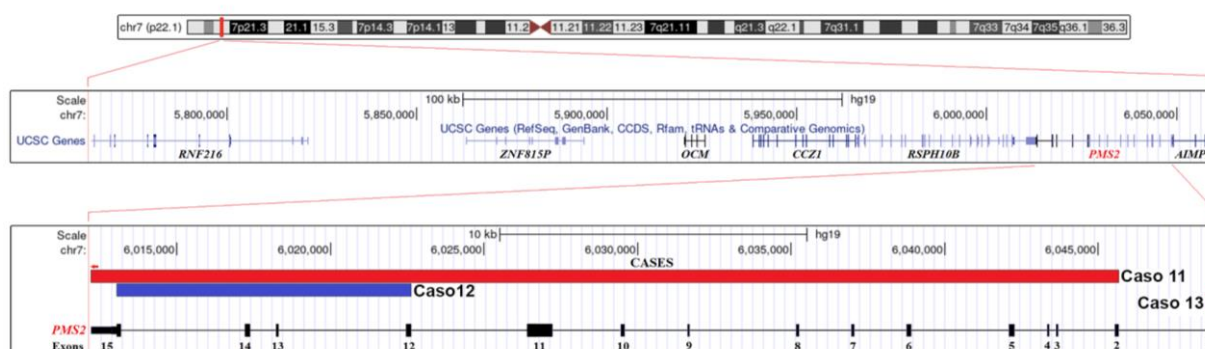


Figura 11. Representação esquemática das CNVs identificadas no gene *PMS2* em três pacientes (Pacientes 11, 12 e 13). Vermelho: deleção heterozigota; Azul: ganho heterozigoto.

A proteína *PMS2* (LYNCH et al., 1991), está envolvida no reparo a danos do DNA, sendo um componente do sistema MMR (ANDINI et al., 2023). Mutações no gene *PMS2* podem causar a SL associada a *PMS2*, uma condição que aumenta em 25% a 32% o risco de desenvolver vários tipos tumorais, em especial o câncer colorretal, mas também de endométrio, ovário, gástrico, pancreático e trato urinário (ANDINI et al., 2023; TEN BROEKE et al., 2015) (**Tabela Suplementar 6**). Treze variantes do gene *PMS2* também foram associadas a HBOC por meio da análise de associação, utilizando bancos de dados públicos brasileiros e internacionais (DA COSTA E SILVA CARVALHO et al., 2020). Em pacientes da Tunísia foram identificadas CNVs associadas a HBOC, incluindo uma deleção heterozigota em *PMS2* (exons 13-15, patogênica) em dois pacientes com câncer de mama sem alterações associadas a SL (BOUJEMAA et al., 2021b). Em um estudo prévio esta variante foi identificada em dois pacientes com câncer de cólon transversal (BOUJEMAA et al., 2021b). A confirmação do papel de CNVs no gene *PMS2* não é uma tarefa simples, devido à complexidade da estrutura do gene e à presença de pseudogenes (HERMAN et al., 2018). Além disso, algumas variantes podem estar localizadas em regiões do gene que são difíceis de sequenciar (HERMAN et al., 2018). O ganho em *PMS2* (início: 6013030, fim: 6022622) na Paciente 12 engloba os éxons 12 a 15 e apresenta 99% de homologia com o pseudogene. Portanto, não é possível afirmar se essa variante teria relevância para o fenótipo devido à sua localização. Vale ressaltar, que o a Paciente 12 apresentou a variante *missense* em *WRN* c.95A>G, a qual pode estar associada ao risco de desenvolvimento de câncer na probanda.

A pequena região envolvida em deleção do exon 1 do Paciente 13 poderia explicar o fenótipo desta família, mas sua confirmação é uma tarefa árdua. Herman et al. descreveram um método preciso para detectar CNVs na região altamente homóloga 3' do gene *PMS2*, usando NGS seguido LR-PCR (*long range* PCR), para confirmação (HERMAN et al., 2018). Infelizmente, não encontramos ensaios específicos disponíveis comercialmente que cubram a

região desejada.

O acúmulo de alterações genômicas, incluindo variantes germinativas e CNVs, em genes relacionados ao câncer, pode contribuir para a manifestação do fenótipo e aumentar o risco da doença. Alguns estudos observaram a presença de mais de uma variante concomitantes no probando, as quais poderiam em conjunto atuar no risco da doença (SUKUMAR et al., 2021). Previamente, nosso grupo mostrou que pacientes diagnosticados com câncer de reto em idade jovem (<40 anos) apresentavam um número significativamente maior de variantes germinativas (BELTRAMI et al., 2022). Em alguns pacientes foram detectadas mais de uma variante de risco mapeada em supressores tumorais, oncogenes, e em genes do sistema MMR. Por exemplo, um dos probandos apresentou as variantes *APC* c.2942_2943insTA e *ATM* c.4414T>G, em outro probando foram observadas variantes em *MSH2* c.1444A>T e *ATM* c.4303A>T, ambas já descritas como associadas a predisposição hereditária ao câncer colorretal. Um dos probandos com câncer de reto de início precoce apresentou variantes concomitantes em quatro genes *MSH2* c.1968C>G, *BRCA1* c.754C>T, *CHEK2* c.962A>C, *BRIP1* c.415T>G (BELTRAMI et al., 2022). Interessantemente, uma paciente diagnosticada com câncer de reto aos 22 anos apresentou as variantes *MSH2* c.2152C>T, *POLD1* c.3010G>A e *AR* c.808G>C (BELTRAMI et al., 2022). Agaoglu e Doganay analisaram 1.090 casos de câncer hereditário para investigar o impacto de múltiplas variantes genéticas no fenótipo (AGAOGU; DOGANAY, 2021). Os autores identificaram que 11 casos (1%) apresentaram variantes patogênicas em mais de um gene, principalmente nos genes *BRCA1/2* (7/11), além de *MUTYH*, *ATM*, *CHECK2*, *NBN* e *RAD50* (AGAOGU; DOGANAY, 2021). Em um relato de caso de uma paciente de 42 anos diagnosticada com câncer de endométrio e histórico familiar de câncer colorretal, foram identificadas duas variantes patogênicas associadas à predisposição ao câncer, como a deleção na região genômica abrangendo os éxons 11–16 do *MSH2* e uma perda de função em *PALB2* c.757_758delCT, p.(Leu253Ilefs*3) (AGIANNITOPOULOS et al., 2020). No estudo de Ferrer-Avargues et al., cinco famílias dentre as 84 analisadas apresentaram duas ou mais variantes patogênicas de linhagem germinativa (FERRER-AVARGUES et al., 2021). Essas variantes estavam associadas a genes de predisposição hereditária ao câncer, como *MLH1-BRCA2-NBN*, *MLH1-BRCA1*, *MSH2-ATM*, *MSH6-NF1* e *MLH1-FANCA* (FERRER-AVARGUES et al., 2021). Thifault et al. relataram a presença de dois indivíduos heterozigotos para mutações truncadas nos genes *MSH2* e *BRCA2* em pacientes com câncer de mama invasivo e câncer colorretal (THIFFAULT et al., 2004). Megid et al. conduziram uma análise em 1156 pacientes com histórico pessoal de câncer de mama de início precoce (<40 anos) (MEGID et al., 2022). Uma das pacientes diagnosticadas aos 49 anos com câncer de mama, apresentou

uma variante em *BRCA2* (c.2516dupA) e *PMS2* (c.2182_2184delinsG), (MEGID et al., 2022). Os autores também relataram três indivíduos com variantes patogênicas em *BRCA1* c.5266dup (p.Gln1756fs) e *PALB2* c.3271C>T (p.Gln1091Ter), os quais apresentaram câncer de mama em idade jovem (32, 40 e 32 anos, respectivamente) (MEGID et al., 2022).

A análise de sequenciamento total do exoma utilizada em nosso estudo é uma estratégia valiosa, pois permite uma ampla identificação de variantes e CNVs germinativas, individuais ou concomitantes que possam ter impacto no risco da doença. Este estudo contribuiu para a identificação de tais alterações além de revelar outras variantes de impacto prognóstico ou de alvos acionáveis de tratamento.

5. CONCLUSÃO

No presente estudo, utilizando os critérios estabelecidos pelo ACMG e ClinVar, foram detectadas cinco variantes P, 39 LP e 2.161 VUS. Não foram observadas variantes em genes clássicos associadas ao fenótipo das famílias aqui estudadas, como *BRCA1* e *BRCA2*. Entretanto, este estudo permitiu a identificação de novos genes potenciais na predisposição hereditária ao câncer de mama e câncer colorretal assim como marcadores prognósticos e alvos acionáveis de drogas. A seguir, serão listadas as variantes mais relevantes identificadas.

Foram identificadas variantes em supressores tumorais e oncogenes que podem ter atuar como um fator de risco ou terem papel prognóstico. Todos os membros investigados da família 1 apresentaram as variantes em *XPC* c.2348C>T (probanda e filha III-1), *EP300* c.6418G>A (probanda e filha III-1) e *ZDHC11B* c.780C>G. A família 2 não apresentou variantes relacionadas ao risco da doença. Na família 3, foram identificadas as variantes em *NOS3* p.Pro115Glyfs*3 (probanda IV-1, mãe III-2 e irmã IV-II), *XPA* c.89G>A (NM_000380.4) (probanda e mãe IV-2) e *NOTCH2* c.4922A>C (NM_024408.4) (probanda e mãe (IV-2)). A paciente 12 apresentou uma variante em *WRN* c.95A>G e a paciente 13 apresentou a variante em *PTCH1* c.140G>T. Estes achados destacam a importância desses genes na predisposição ao câncer nessas famílias e sugerem a necessidade de investigações adicionais para compreender melhor o seu impacto e possíveis implicações clínicas.

Ao todo, foram identificadas 20 variantes em marcadores prognósticos. Esses resultados fornecem informações valiosas sobre o perfil genético dos pacientes, ajudando a direcionar o tratamento de forma mais individualizada e a melhorar as perspectivas de sobrevivência e a sua qualidade de vida. Além disso, 13 variantes ocorrem em genes candidatos a alvos acionáveis de tratamento.

A presença de CNVs raras foi um achado frequente na maioria dos pacientes do estudo. Interessantemente, membros das famílias 2 e 3 apresentaram CNVs em genes que se mapeiam em regiões de sítios frágeis. Estas regiões são propensas a alta instabilidade genética, podendo ser uma possível explicação para o risco aumentado de tumores nestas famílias. Essa hipótese é reforçada pelo fato de que regiões de sítios frágeis serem herdadas. A presença de CNVs nessas regiões específicas fornece uma explicação alternativa para o fenótipo observado nos pacientes, ampliando nosso entendimento sobre os mecanismos genéticos subjacentes ao desenvolvimento tumoral.

Adicionalmente, a análise das CNVs revelou alterações nos genes *PMS2* e *POLE2*. O gene *PMS2* é um componente fundamental do sistema de reparo a erros de pareamento do DNA.

Foi identificada uma deleção heterozigota no gene *PMS2* nas pacientes 11 e 13 e um ganho significativo na paciente 12. A primeira pode estar associada à predisposição ao câncer, entretanto o ganho em *PMS2* está localizado em uma região de sobreposição com o pseudogene e, portanto, não podemos afirmar se há relevância para o fenótipo. O ganho em *POLE2* nas pacientes 11 e 13 é um achado significativo, pois mutações nesse gene estão associadas a síndrome de predisposição ao câncer colorretal e câncer de endométrio.

Um dos grandes dilemas do sequenciamento é a identificação de VUS e seu papel no risco da doença. Neste estudo foram identificadas várias VUS em genes com relevância para o fenótipo em estudo. Entretanto, há a necessidade de análises adicionais, como ensaios funcionais para confirmar sua associação ou especificidade com o fenótipo acrescida de novos dados que possam ser disponibilizados em literatura.

A análise do sequenciamento do exoma em famílias com câncer de mama e colorretal permitiu identificar variantes de potencial significado para o fenótipo além de alterações que podem contribuir como marcadores prognósticos e alvos terapêuticos.

**MATERIAL SUPLEMENTAR DISPONÍVEL TEMPORARIAMENTE NO
LINK ABAIXO:**

https://drive.google.com/drive/folders/1u__mCcV6QgPWGcDYfaNilagDJGrHVW5l?usp=sharing

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL AZIZ, N. A. et al. A 19-Gene expression signature as a predictor of survival in colorectal cancer. **BMC Medical Genomics**, v. 9, n. 1, p. 58, 8 set. 2016.
- ABI NAHED, R. et al. Role of NLRP7 in Normal and Malignant Trophoblast Cells. **Biomedicines**, v. 10, n. 2, p. 252, 24 jan. 2022.
- ADDISON, J. B. et al. KAP1 promotes proliferation and metastatic progression of breast cancer cells. **Cancer research**, v. 75, n. 2, p. 344–355, 15 jan. 2015.
- AGAOGLU, N. B.; DOGANAY, L. Concurrent pathogenic variations in patients with hereditary cancer syndromes. **European Journal of Medical Genetics**, v. 64, n. 12, p. 104366, 1 dez. 2021.
- AGARWAL, N. et al. Increased risk of colorectal cancer following breast cancer. **Annals of Surgery**, v. 203, n. 3, p. 307–310, mar. 1986.
- AGGARWAL, B. B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. **Nature Reviews. Immunology**, v. 3, n. 9, p. 745–756, set. 2003.
- AGIANNITOPOULOS, K. et al. Report of a germline double heterozygote in MSH2 and PALB2. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 8, n. 10, p. e1242, 27 ago. 2020.
- AGRELO, R. et al. Epigenetic inactivation of the premature aging Werner syndrome gene in human cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 23, p. 8822–8827, 6 jun. 2006.
- AITHAL, A. et al. MUC16 as a Novel Target for Cancer Therapy. **Expert opinion on therapeutic targets**, v. 22, n. 8, p. 675–686, ago. 2018.
- AKCAY, I. M. et al. Germline pathogenic variant spectrum in 25 cancer susceptibility genes in Turkish breast and colorectal cancer patients and elderly controls. **International Journal of Cancer**, v. 148, n. 2, p. 285–295, 2021a.
- AKCAY, I. M. et al. Germline pathogenic variant spectrum in 25 cancer susceptibility genes in Turkish breast and colorectal cancer patients and elderly controls. **International Journal of Cancer**, v. 148, n. 2, p. 285–295, 2021b.
- AKSOY, F. et al. Identification of CHEK2 Germline Mutations in BRCA1/2- and PALB2-Negative Breast and Ovarian Cancer Patients. **Human Heredity**, v. 87, n. 2, p. 21–33, 2022.
- AL-SUKHNI, W.; ARONSON, M.; GALLINGER, S. Hereditary colorectal cancer syndromes: familial adenomatous polyposis and lynch syndrome. **The Surgical Clinics of North America**, v. 88, n. 4, p. 819–844, vii, ago. 2008.
- ALTREE-TACHA, D.; TYRRELL, J.; HAAS, T. CDH17 Is a More Sensitive Marker for Gastric Adenocarcinoma Than CK20 and CDX2. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 141, n. 1, p. 144–150, 20 out. 2016.
- ANDINI, K. D. et al. PMS2-associated Lynch syndrome: Past, present and future. **Frontiers in Oncology**, v. 13, p. 1127329, 21 fev. 2023.
- ANTONACOPOULOU, A. et al. NF- κ B2 and RELB offer prognostic information in colorectal cancer and NFKB2 rs7897947 represents a genetic risk factor for disease development. **Translational Oncology**, v. 14, n. 1, p. 100912, 16 out. 2020.
- AOUDE, L. G. et al. Pathogenic germline variants are associated with poor survival in stage III/IV melanoma patients. **Scientific Reports**, v. 10, p. 17687, 19 out. 2020.
- ARAFEH, R.; SAMUELS, Y. PIK3CA in cancer: The past 30 years. **Seminars in Cancer Biology**, PI3K/AKT signaling in human cancer & New insights in melanoma biology: running fast towards precision medicine. v. 59, p. 36–49, 1 dez. 2019.
- ARIKAN, S. et al. The effects of NOS3 Glu298Asp variant on colorectal cancer risk and progression in Turkish population. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 3, p. 3245–3249, 1 mar. 2012.
- ARLT, M. F. et al. Common fragile sites as targets for chromosome rearrangements. **DNA repair**, v. 5, n. 9–10, p. 1126–1135, 8 set. 2006.
- ARLT, M. F. et al. Hydroxyurea induces de novo copy number variants in human cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 42, p. 17360–17365, 18 out. 2011.
- ARUN, B. et al. Loss of FHIT Expression in Breast Cancer Is Correlated with Poor Prognostic Markers. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 14, n. 7, p. 1681–1685, 19 jul. 2005.

- ASADUZZAMAN, M. et al. Tumour suppressor EP300, a modulator of paclitaxel resistance and stemness, is downregulated in metaplastic breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 163, n. 3, p. 461–474, 2017.
- ASIRI, A. et al. Mutated RAP1GDS1 causes a new syndrome of dysmorphic feature, intellectual disability & speech delay. **Annals of Clinical and Translational Neurology**, v. 7, n. 6, p. 956–964, 19 maio 2020.
- ATANACKOVIC, D. et al. Cancer-testis antigen expression and its epigenetic modulation in acute myeloid leukemia. **American Journal of Hematology**, v. 86, n. 11, p. 918–922, 2011.
- BAI, R. et al. The NF- κ B modulated miR-194-5p/IGF1R/PPFIBP axis is crucial for the tumorigenesis of ovarian cancer. **Journal of Cancer**, v. 11, n. 12, p. 3433–3445, 13 mar. 2020.
- BAI, W. et al. Protein succinylation associated with the progress of hepatocellular carcinoma. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 26, n. 22, p. 5702–5712, nov. 2022.
- BAMSHAD, M. J. et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. **Nature Reviews Genetics**, v. 12, n. 11, p. 745–755, nov. 2011.
- BARETTA, Z. et al. Effect of BRCA germline mutations on breast cancer prognosis. **Medicine**, v. 95, n. 40, p. e4975, 7 out. 2016.
- BARTOLOMÉ, R. A. et al. Monoclonal Antibodies Directed against Cadherin RGD Exhibit Therapeutic Activity against Melanoma and Colorectal Cancer Metastasis. **Clinical Cancer Research**, v. 24, n. 2, p. 433–444, 15 jan. 2018.
- BAUMGART, S. et al. Restricted heterochromatin formation links NFATc2 repressor activity with growth promotion in pancreatic cancer. **Gastroenterology**, v. 142, n. 2, p. 388–398.e1–7, fev. 2012.
- BAVIERA-MUÑOZ, R. et al. Clinical and genetic characteristics of 21 Spanish patients with biallelic pathogenic SPG7 mutations. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 429, p. 118062, 15 out. 2021.
- BECK, S. H. et al. Intestinal and extraintestinal neoplasms in patients with NTHL1 tumor syndrome: a systematic review. **Familial Cancer**, v. 21, n. 4, p. 453–462, 1 out. 2022.
- BELHADJ, S. et al. Candidate genes for hereditary colorectal cancer: Mutational screening and systematic review. **Human Mutation**, v. 41, n. 9, p. 1563–1576, set. 2020.
- BELTRAMI, C. M. et al. The repertoire of germline variants in patients with early-onset rectal cancer. **Cancer Communications**, v. 42, n. 5, p. 481–485, 14 jan. 2022.
- BENELLI, R. et al. Aspartate- β -Hydroxylase: A Promising Target to Limit the Local Invasiveness of Colorectal Cancer. **Cancers**, v. 12, n. 4, p. 971, 14 abr. 2020a.
- BENELLI, R. et al. Aspartate- β -Hydroxylase: A Promising Target to Limit the Local Invasiveness of Colorectal Cancer. **Cancers**, v. 12, n. 4, p. 971, 14 abr. 2020b.
- BEROUKHIM, R. et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. **Nature**, v. 463, n. 7283, p. 899–905, 18 fev. 2010.
- BLAIR, I. P. et al. Positional cloning, association analysis and expression studies provide convergent evidence that the cadherin gene FAT contains a bipolar disorder susceptibility allele. **Molecular Psychiatry**, v. 11, n. 4, p. 372–383, abr. 2006.
- BODEWES, F. T. H. et al. Mammographic breast density and the risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis. **The Breast : Official Journal of the European Society of Mastology**, v. 66, p. 62–68, 26 set. 2022.
- BONO, M. et al. Impact of deleterious variants in other genes beyond BRCA1/2 detected in breast/ovarian and pancreatic cancer patients by NGS-based multi-gene panel testing: looking over the hedge. **ESMO open**, v. 6, n. 4, p. 100235, ago. 2021.
- BORDE, J. et al. Performance of Breast Cancer Polygenic Risk Scores in 760 Female CHEK2 Germline Mutation Carriers. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 113, n. 7, p. 893–899, 1 jul. 2021.
- BORSZÉKOVÁ PULZOVÁ, L.; WARD, T. A.; CHOVANEC, M. XPA: DNA Repair Protein of Significant Clinical Importance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 6, p. 2182, 22 mar. 2020.
- BOUJEMAA, M. et al. Germline copy number variations in BRCA1/2 negative families: Role in the molecular etiology of hereditary breast cancer in Tunisia. **PLoS ONE**, v. 16, n. 1, p. e0245362, 27 jan. 2021a.
- BOUJEMAA, M. et al. Germline copy number variations in BRCA1/2 negative families: Role in the molecular etiology of hereditary breast cancer in Tunisia. **PLoS ONE**, v. 16, n. 1, p. e0245362, 27 jan.

2021b.

BOWLER, E. et al. Hypoxia leads to significant changes in alternative splicing and elevated expression of CLK splice factor kinases in PC3 prostate cancer cells. **BMC Cancer**, v. 18, p. 355, 2 abr. 2018.

BRABRAND, S. et al. Exome sequencing of bilateral testicular germ cell tumors suggests independent development lineages. **Neoplasia (New York, N.Y.)**, v. 17, n. 2, p. 167–174, fev. 2015.

BRANDT, A. C. et al. Splice switching an oncogenic ratio of SmgGDS isoforms as a strategy to diminish malignancy. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 7, p. 3627–3636, 18 fev. 2020.

BROWN, L. C. et al. LRP1B mutations are associated with favorable outcomes to immune checkpoint inhibitors across multiple cancer types. **Journal for Immunotherapy of Cancer**, v. 9, n. 3, p. e001792, 2 mar. 2021.

BRYAN, E. J. et al. Mutation analysis of EP300 in colon, breast and ovarian carcinomas. **International Journal of Cancer**, v. 102, n. 2, p. 137–141, 10 nov. 2002.

BURGESS, D. J. Copy-number classifiers for cancer. **Nature Reviews Genetics**, v. 23, n. 8, p. 457–457, ago. 2022.

BUSHRA, M. U. et al. Genetic polymorphisms of GSTP1, XRCC1, XPC and ERCC1: prediction of clinical outcome of platinum-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients of Bangladesh. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 9, p. 7073–7082, set. 2020.

CAI, X. et al. Cyclin-dependent kinase 19 upregulation correlates with an unfavorable prognosis in hepatocellular carcinoma. **BMC gastroenterology**, v. 21, n. 1, p. 377, 14 out. 2021.

CAMPBELL, I. G.; CHOONG, D.; CHENEVIX-TRENCH, G. No germline mutations in the histone acetyltransferase gene EP300 in BRCA1 and BRCA2 negative families with breast cancer and gastric, pancreatic, or colorectal cancer. **Breast Cancer Research**, v. 6, n. 4, p. R366–R371, 2004.

CANNARILE, M. A. et al. Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) inhibitors in cancer therapy. **Journal for Immunotherapy of Cancer**, v. 5, p. 53, 18 jul. 2017.

CAO, C. et al. α -catulin marks the invasion front of squamous cell carcinoma and is important for tumor cell metastasis. **Molecular cancer research : MCR**, v. 10, n. 7, p. 892–903, jul. 2012.

CAPELLINI, A. et al. The Functional Hallmarks of Cancer Predisposition Genes. **Cancer Management and Research**, v. 13, p. 4351–4357, 1 jun. 2021a.

CAPELLINI, A. et al. The Functional Hallmarks of Cancer Predisposition Genes. **Cancer Management and Research**, v. 13, p. 4351–4357, 1 jun. 2021b.

CARNEIRO DA SILVA, F. et al. Clinical and Molecular Characterization of Brazilian Patients Suspected to Have Lynch Syndrome. **PLOS ONE**, v. 10, n. 10, p. e0139753, 5 out. 2015.

CASTRO, M. et al. Synchronous Onset of Breast and Pancreatic Cancers: Results of Germline and Somatic Genetic Analysis. **Case Reports in Oncology**, v. 9, n. 2, p. 387–394, 21 jul. 2016.

CAVAILLÉ, M. et al. Analysis of 11 candidate genes in 849 adult patients with suspected hereditary cancer predisposition. **Genes, Chromosomes & Cancer**, v. 60, n. 2, p. 73–78, fev. 2021.

CHANG, N. C. et al. The Dystrophin Glycoprotein Complex Regulates the Epigenetic Activation of Muscle Stem Cell Commitment. **Cell stem cell**, v. 22, n. 5, p. 755–768.e6, 3 maio 2018.

CHANG, Y.-F. et al. Diagnosing the RGS11 Lung Cancer Biomarker: The Integration of Competitive Immunoassay and Isothermal Nucleic Acid Exponential Amplification Reaction. **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 5, p. 3327–3335, 5 mar. 2019.

CHATRATH, A. et al. The pan-cancer landscape of prognostic germline variants in 10,582 patients. **Genome Medicine**, v. 12, n. 1, p. 15, 17 fev. 2020.

CHEN, D. et al. miR-27b-3p inhibits proliferation and potentially reverses multi-chemoresistance by targeting CBLB/GRB2 in breast cancer cells. **Cell Death & Disease**, v. 9, n. 2, p. 188, 7 fev. 2018.

CHEN, H. et al. Testis developmental related gene 1 (TDRG1) encodes a progressive motility-associated protein in human spermatozoa. **Human Reproduction**, v. 36, n. 2, p. 283–292, 1 fev. 2021a.

CHEN, H. et al. Identification and Validation of CYBB, CD86, and C3AR1 as the Key Genes Related to Macrophage Infiltration of Gastric Cancer. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, p. 756085, 7 dez. 2021b.

CHEN, X. et al. miR-135a acts as a tumor suppressor by targeting ASPH in endometrial cancer. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 12, n. 9, p. 3384–3389, 1 set. 2019a.

CHEN, Y. et al. Crystal structure of the N-terminal region of human Ash2L shows a winged-helix motif

- involved in DNA binding. **EMBO Reports**, v. 12, n. 8, p. 797–803, ago. 2011.
- CHEN, Y. et al. N6-methyladenosine-modified TRAF1 promotes sunitinib resistance by regulating apoptosis and angiogenesis in a METTL14-dependent manner in renal cell carcinoma. **Molecular Cancer**, v. 21, n. 1, p. 111, 10 maio 2022.
- CHEN, Y.-C. et al. Mesenchymal Stem/Stromal Cell Engulfment Reveals Metastatic Advantage in Breast Cancer. **Cell reports**, v. 27, n. 13, p. 3916–3926.e5, 25 jun. 2019b.
- CHENG, H.; ZHANG, N.; PATI, D. Cohesin subunit RAD21: From biology to disease. **Gene**, v. 758, p. 144966, 20 out. 2020.
- CHIARETTI, S. et al. Effects of the scaffold proteins liprin- α 1, β 1 and β 2 on invasion by breast cancer cells. **Biology of the Cell**, v. 108, n. 3, p. 65–75, 2016.
- CHODARY KHAMENEH, S. et al. Weighted correlation network analysis revealed novel long non-coding RNAs for colorectal cancer. **Scientific Reports**, v. 12, p. 2990, 22 fev. 2022.
- CHOI, Y. J. et al. Frameshift mutation of a histone methylation-related gene SETD1B and its regional heterogeneity in gastric and colorectal cancers with high microsatellite instability. **Human Pathology**, v. 45, n. 8, p. 1674–1681, 1 ago. 2014.
- CHU, D. et al. Notch2 Expression Is Decreased in Colorectal Cancer and Related to Tumor Differentiation Status. **Annals of Surgical Oncology**, v. 16, n. 12, p. 3259–3266, 1 dez. 2009.
- CHUBB, D. et al. Rare disruptive mutations and their contribution to the heritable risk of colorectal cancer. **Nature Communications**, v. 7, p. 11883, 22 jun. 2016.
- CHUNG, A. et al. A novel TRIP11-FLT3 fusion in a patient with a myeloid/lymphoid neoplasm with eosinophilia. **Cancer Genetics**, v. 216–217, p. 10–15, out. 2017.
- CLARKE, R. B.; ANDERSON, E.; HOWELL, A. Steroid receptors in human breast cancer. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 15, n. 7, p. 316–323, set. 2004.
- CORNELISSE, C. J.; CORNELIS, R. S.; DEVILEE, P. Genes Responsible for Familial Breast Cancer. **Pathology - Research and Practice**, v. 192, n. 7, p. 684–693, 1 jan. 1996.
- CORTES-URREA, C. et al. Exomes of Ductal Luminal Breast Cancer Patients from Southwest Colombia: Gene Mutational Profile and Related Expression Alterations. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, p. 698, 30 abr. 2020.
- CRUZ, C. et al. RAD51 foci as a functional biomarker of homologous recombination repair and PARP inhibitor resistance in germline BRCA-mutated breast cancer. **Annals of Oncology**, v. 29, n. 5, p. 1203–1210, maio 2018.
- CUI, D. et al. Identification of colorectal cancer-associated macrophage biomarkers by integrated bioinformatic analysis. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 1 jan. 2021.
- CURY, S. S. et al. Germline variants in DNA repair genes are associated with young-onset head and neck cancer. **Oral Oncology**, v. 122, p. 105545, 1 nov. 2021.
- CUSHION, T. D. et al. Overlapping cortical malformations and mutations in TUBB2B and TUBA1A. **Brain: A Journal of Neurology**, v. 136, n. Pt 2, p. 536–548, fev. 2013.
- DA COSTA E SILVA CARVALHO, S. et al. Germline variants in DNA repair genes associated with hereditary breast and ovarian cancer syndrome: analysis of a 21 gene panel in the Brazilian population. **BMC Medical Genomics**, v. 13, p. 21, 10 fev. 2020.
- DAHL, C. A. et al. Identification of a novel gene expressed in activated natural killer cells and T cells. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 148, n. 2, p. 597–603, 15 jan. 1992.
- DAI, C. et al. Identification of paternal germline mosaicism by MicroSeq and targeted next-generation sequencing. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 8, n. 9, set. 2020a.
- DAI, D. et al. Prognostic value of prostaglandin I₂ synthase and its correlation with tumor-infiltrating immune cells in lung cancer, ovarian cancer, and gastric cancer. **Aging**, v. 12, n. 10, p. 9658–9685, 28 maio 2020b.
- DASH, C. et al. Disparities in colorectal cancer screening among breast and prostate cancer survivors. **Cancer Medicine**, v. 10, n. 4, p. 1448–1456, 5 fev. 2021.
- DATTA, A. et al. WRN helicase safeguards deprotected replication forks in BRCA2-mutated cancer cells. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 6561, 12 nov. 2021.
- DE ANDRADE, K. C. et al. Cancer Incidence, Patterns, and Genotype-Phenotype Associations in an Observational Cohort Study of Individuals with Pathogenic or Likely Pathogenic Germline TP53 Variants. **The Lancet. Oncology**, v. 22, n. 12, p. 1787–1798, dez. 2021.

- DE SOUSA LEAL, A. M. et al. XPA deficiency affects the ubiquitin-proteasome system function. **DNA Repair**, v. 94, p. 102937, 1 out. 2020.
- DEB, S. et al. RAD21 cohesin overexpression is a prognostic and predictive marker exacerbating poor prognosis in KRAS mutant colorectal carcinomas. **British Journal of Cancer**, v. 110, n. 6, p. 1606–1613, 18 mar. 2014.
- DENG, J. et al. β -catenin interacts with and inhibits NF- κ B in human colon and breast cancer. **Cancer Cell**, v. 2, n. 4, p. 323–334, 1 out. 2002.
- DENG, P. et al. RAD21 amplification epigenetically suppresses interferon signaling to promote immune evasion in ovarian cancer. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 132, n. 22, p. e159628, [s.d.].
- DEPRISTO, M. A. et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. **Nature Genetics**, v. 43, n. 5, p. 491–498, maio 2011.
- DHARWADKAR, P.; ZAKI, T. A.; MURPHY, C. C. Colorectal Cancer in Younger Adults. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, Colorectal Cancer. v. 36, n. 3, p. 449–470, 1 jun. 2022.
- DI NARDO, M.; PALLOTTA, M. M.; MUSIO, A. The multifaceted roles of cohesin in cancer. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR**, v. 41, p. 96, 14 mar. 2022.
- DIAKOWSKA, D.; KRZYTEK-KORPACKA, M. Local and Systemic Interleukin-32 in Esophageal, Gastric, and Colorectal Cancers: Clinical and Diagnostic Significance. **Diagnostics**, v. 10, n. 10, p. 785, 4 out. 2020.
- DIJK, E. L. VAN et al. The Third Revolution in Sequencing Technology. **Trends in Genetics**, v. 34, n. 9, p. 666–681, 1 set. 2018.
- DING, X. et al. Ubiquitination of NOTCH2 by DTX3 suppresses the proliferation and migration of human esophageal carcinoma. **Cancer Science**, v. 111, n. 2, p. 489–501, fev. 2020.
- DOEBELE, R. C. et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. **The Lancet. Oncology**, v. 21, n. 2, p. 271–282, fev. 2020.
- DOS SANTOS, W. et al. Whole-Exome Sequencing Identifies Pathogenic Germline Variants in Patients with Lynch-Like Syndrome. **Cancers**, v. 14, n. 17, p. 4233, 31 ago. 2022.
- DROST, J. et al. Use of CRISPR-modified human stem cell organoids to study the origin of mutational signatures in cancer. **Science (New York, N.Y.)**, v. 358, n. 6360, p. 234–238, 13 out. 2017.
- DUAN, W. et al. Overexpression of Nodal induces a metastatic phenotype in pancreatic cancer cells via the Smad2/3 pathway. **Oncotarget**, v. 6, n. 3, p. 1490–1506, 30 jan. 2015.
- DUQUE, J.; FRESNO, M.; INIGUEZ, M. A. Expression and Function of the Nuclear Factor of Activated T Cells in Colon Carcinoma Cells: INVOLVEMENT IN THE REGULATION OF CYCLOOXYGENASE-2 *. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 10, p. 8686–8693, 11 mar. 2005.
- DZIKIEWICZ-KRAWCZYK, A. et al. ZDHC11 and ZDHC11B are critical novel components of the oncogenic MYC-miR-150-MYB network in Burkitt lymphoma. **Leukemia**, v. 31, n. 6, p. 1470–1473, jun. 2017.
- EICH, M.-L. et al. Characterization of glycine-N-acyltransferase like 1 (GLYATL1) in prostate cancer. **The Prostate**, v. 79, n. 14, p. 1629–1639, out. 2019.
- EL-HELIEBI, A. et al. Resolving Tumor Heterogeneity: Genes Involved in Chordoma Cell Development Identified by Low-Template Analysis of Morphologically Distinct Cells. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e87663, 4 fev. 2014.
- ES, T. et al. Prognostic and Predictive Value of PIK3CA Mutations in Metastatic Colorectal Cancer. **Targeted oncology**, v. 17, n. 4, jul. 2022.
- ESTEBAN-JURADO, C. et al. Whole-exome sequencing identifies rare pathogenic variants in new predisposition genes for familial colorectal cancer. **Genetics in Medicine**, v. 17, n. 2, p. 131–142, fev. 2015.
- EVANS, H. S. et al. The risk of subsequent primary cancers after colorectal cancer in southeast England. **Gut**, v. 50, n. 5, p. 647–652, maio 2002.
- FANALE, D. et al. BRCA1/2 variants of unknown significance in hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) syndrome: Looking for the hidden meaning. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 172, p. 103626, 1 abr. 2022.
- FELICIO, P. S. et al. Whole-exome sequencing of non-BRCA1/BRCA2 mutation carrier cases at high-

- risk for hereditary breast/ovarian cancer. **Human Mutation**, v. 42, n. 3, p. 290–299, mar. 2021.
- FENG, X. et al. DNA repair protein XPA is differentially expressed in colorectal cancer and predicts better prognosis. **Cancer Medicine**, v. 7, n. 6, p. 2339–2349, 19 abr. 2018.
- FERRER-AVARGUES, R. et al. Co-occurrence of germline pathogenic variants for different hereditary cancer syndromes in patients with Lynch syndrome. **Cancer Communications**, v. 41, n. 3, p. 218–228, 25 fev. 2021.
- FINAK, G. et al. Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer. **Nature Medicine**, v. 14, n. 5, p. 518–527, maio 2008.
- FRANCESANGELI, F. et al. Dynamic regulation of the cancer stem cell compartment by Cripto-1 in colorectal cancer. **Cell Death and Differentiation**, v. 22, n. 10, p. 1700–1713, out. 2015.
- FRAU, M.; FEO, F.; PASCALE, R. M. Pleiotropic effects of methionine adenosyltransferases deregulation as determinants of liver cancer progression and prognosis. **Journal of Hepatology**, v. 59, n. 4, p. 830–841, 1 out. 2013.
- FRIGOLA, J. et al. Hypermethylation of the prostacyclin synthase (PTGIS) promoter is a frequent event in colorectal cancer and associated with aneuploidy. **Oncogene**, v. 24, n. 49, p. 7320–7326, nov. 2005.
- GAO, H. et al. Pan-cancer analysis of oncogenic role of Programmed Cell Death 2 Like (PDCD2L) and validation in colorectal cancer. **Cancer Cell International**, v. 22, p. 100, 25 fev. 2022.
- GAO, L. et al. Kinectin 1 promotes the growth of triple-negative breast cancer via directly co-activating NF-kappaB/p65 and enhancing its transcriptional activity. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, p. 250, 5 jul. 2021.
- GARBER, J. E.; OFFIT, K. Hereditary Cancer Predisposition Syndromes. **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, n. 2, p. 276–292, 10 jan. 2005a.
- GARBER, J. E.; OFFIT, K. Hereditary Cancer Predisposition Syndromes. **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, n. 2, p. 276–292, 10 jan. 2005b.
- GAUTAM, A.; PANDIT, B. IL32: The multifaceted and unconventional cytokine. **Human Immunology**, v. 82, n. 9, p. 659–667, 1 set. 2021.
- GAYTHER, S. A. et al. Mutations truncating the EP300 acetylase in human cancers. **Nature Genetics**, v. 24, n. 3, p. 300–303, mar. 2000.
- GERLACH, K. et al. Transcription Factor NFATc2 Controls the Emergence of Colon Cancer Associated with IL-6–Dependent Colitis. **Cancer Research**, v. 72, n. 17, p. 4340–4350, 30 ago. 2012.
- GHAEDI, H. et al. Whole-exome sequencing identified a novel mutation of MLH1 in an extended family with lynch syndrome. **Genes & Diseases**, v. 7, n. 4, p. 614–619, 27 jul. 2019.
- GINSBURG, O. et al. The global burden of women's cancers: an unmet grand challenge in global health. **Lancet (London, England)**, v. 389, n. 10071, p. 847–860, 25 fev. 2017.
- Global health estimates: Leading causes of death.** Disponível em: <<https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>>. Acesso em: 26 set. 2022.
- GOH, Y. T. et al. METTL4 catalyzes m6Am methylation in U2 snRNA to regulate pre-mRNA splicing. **Nucleic Acids Research**, v. 48, n. 16, p. 9250–9261, 19 ago. 2020.
- GOLDSTEIN, O. et al. Rare homozygosity in amyotrophic lateral sclerosis suggests the contribution of recessive variants to disease genetics. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 402, p. 62–68, 15 jul. 2019.
- GOLLAVILLI, P. N. et al. EWS/ETS-Driven Ewing Sarcoma Requires BET Bromodomain Proteins. **Cancer Research**, v. 78, n. 16, p. 4760–4773, 15 ago. 2018.
- GOODE, G.; PRATAP, S.; ELTOM, S. E. Depletion of the Aryl Hydrocarbon Receptor in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells Altered the Expression of Genes in Key Regulatory Pathways of Cancer. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, p. e100103, 16 jun. 2014.
- GRAUERS WIKTORIN, H. et al. NOX2-Derived Reactive Oxygen Species in Cancer. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 7095902, 27 nov. 2020.
- GREEN, V. L. Breast Cancer Risk Assessment and Management of the High-Risk Patient. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, Management of Benign and Malignant Breast Disease. v. 49, n. 1, p. 87–116, 1 mar. 2022.
- GUAN, R. et al. The expression and prognostic value of GLYATL1 and its potential role in hepatocellular carcinoma. **Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 11, n. 6, p. 1305–1321, dez. 2020a.
- GUAN, R. et al. The expression and prognostic value of GLYATL1 and its potential role in

- hepatocellular carcinoma. **Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 11, n. 6, p. 1305–1321, dez. 2020b.
- HAFFNER, C. et al. Nicalin and its binding partner Nomo are novel Nodal signaling antagonists. **The EMBO journal**, v. 23, n. 15, p. 3041–3050, 4 ago. 2004.
- HALAMKOVA, J. et al. Second primary malignancies in colorectal cancer patients. **Scientific Reports**, v. 11, p. 2759, 2 fev. 2021.
- HAMZAOUI, N. et al. Genetic, structural, and functional characterization of POLE polymerase proofreading variants allows cancer risk prediction. **Genetics in Medicine**, v. 22, n. 9, p. 1533–1541, 1 set. 2020.
- HAN, S.; YANG, Y. Interleukin-32: Frenemy in cancer? **BMB reports**, v. 52, n. 3, p. 165–174, mar. 2019.
- HASSIN, O.; OREN, M. Drugging p53 in cancer: one protein, many targets. **Nature Reviews. Drug Discovery**, v. 22, n. 2, p. 127–144, 2023.
- HAUSER, A. D. et al. The SmgGDS splice variant SmgGDS-558 is a key promoter of tumor growth and RhoA signaling in breast cancer. **Molecular cancer research: MCR**, v. 12, n. 1, p. 130–142, jan. 2014.
- HAYASHI, A.; HONG, J.; IACOBUZIO-DONAHUE, C. A. The pancreatic cancer genome revisited. **Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology**, v. 18, n. 7, p. 469–481, jul. 2021.
- HAYASHI, C. et al. D-2-hydroxyglutarate dehydrogenase in breast carcinoma as a potent prognostic marker associated with proliferation. **Histology and Histopathology**, v. 36, n. 10, p. 1053–1062, out. 2021.
- HE, X.-F. et al. Association between CYP1A2 and CYP1B1 polymorphisms and colorectal cancer risk: a meta-analysis. **PloS One**, v. 9, n. 8, p. e100487, 2014.
- HEIMES, A.-S. et al. Prognostic significance of interferon regulating factor 4 (IRF4) in node-negative breast cancer. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 143, n. 7, p. 1123–1131, 1 jul. 2017.
- HERMAN, D. S. et al. Efficient Detection of Copy Number Mutations in PMS2 Exons with a Close Homolog. **The Journal of molecular diagnostics: JMD**, v. 20, n. 4, p. 512–521, jul. 2018.
- HIROKAWA, Y. et al. Signal therapy of NF1-deficient tumor xenograft in mice by the anti-PAK1 drug FK228. **Cancer Biology & Therapy**, v. 4, n. 4, p. 379–381, abr. 2005.
- HO, R. X.-Y. et al. MINAR1 is a Notch2-binding protein that inhibits angiogenesis and breast cancer growth. **Journal of Molecular Cell Biology**, v. 10, n. 3, p. 195–204, 2 mar. 2018.
- HOLLIS, P. R. et al. CYP1B1 Augments the Mesenchymal, Claudin-Low, and Chemoresistant Phenotypes of Triple-Negative Breast Cancer Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 17, p. 9670, 26 ago. 2022.
- HONDA, R.; TANAKA, H.; YASUDA, H. Oncoprotein MDM2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53. **FEBS Letters**, v. 420, n. 1, p. 25–27, 22 dez. 1997.
- HONG, C.-C. et al. Genetic variants in immune-related pathways and breast cancer risk in African American women in the AMBER consortium. **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology**, v. 27, n. 3, p. 321–330, mar. 2018.
- HONG, J. T. et al. Interleukin 32, inflammation and cancer. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 174, p. 127–137, 1 jun. 2017.
- HOU, G. et al. Recent advances in research on aspartate β -hydroxylase (ASPH) in pancreatic cancer: A brief update. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 18, n. 4, p. 297–304, nov. 2018.
- HSU, H.-C. et al. PTPRT and PTPRD Deleterious Mutations and Deletion Predict Bevacizumab Resistance in Metastatic Colorectal Cancer Patients. **Cancers**, v. 10, n. 9, p. E314, 6 set. 2018.
- HSU, K.-W. et al. METTL4-mediated nuclear N6-deoxyadenosine methylation promotes metastasis through activating multiple metastasis-inducing targets. **Genome Biology**, v. 23, n. 1, p. 249, 2 dez. 2022.
- HU, B. et al. Identification of novel therapeutic target genes and pathway in pancreatic cancer by integrative analysis. **Medicine**, v. 96, n. 42, p. e8261, out. 2017.
- HU, J. et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 14, p. 157, 28 set. 2021a.
- HU, Y. et al. Identification of a five-gene signature of the RGS gene family with prognostic value in

- ovarian cancer. **Genomics**, v. 113, n. 4, p. 2134–2144, jul. 2021b.
- HUANG, J. et al. The Role of CTNNA1 in Malignancies: An Updated Review. **Journal of Cancer**, v. 14, n. 2, p. 219–230, 1 jan. 2023.
- HUANG, K.-C. et al. Analysis of schizophrenia and hepatocellular carcinoma genetic network with corresponding modularity and pathways: novel insights to the immune system. **BMC Genomics**, v. 14, n. Suppl 5, p. S10, 16 out. 2013.
- HUANG, W. et al. Case Report: Coinheritance of Germline Mutations in APC and BRCA1 in Colorectal Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 658389, 25 mar. 2021.
- IGLESIAS-PEDRAZ, J. M. et al. WRN modulates translation by influencing nuclear mRNA export in HeLa cancer cells. **BMC Molecular and Cell Biology**, v. 21, p. 71, 14 out. 2020.
- IMBODEN, S. et al. Phenotype of POLE-mutated endometrial cancer. **PloS One**, v. 14, n. 3, p. e0214318, 2019.
- ISHAQUE, N. et al. Whole genome sequencing puts forward hypotheses on metastasis evolution and therapy in colorectal cancer. **Nature Communications**, v. 9, p. 4782, 14 nov. 2018.
- IVAGNÈS, A. et al. TNFR2/BIRC3-TRAF1 signaling pathway as a novel NK cell immune checkpoint in cancer. **Oncoimmunology**, v. 7, n. 12, p. e1386826, 11 out. 2017.
- IVANOV, S. V. et al. Diagnostic SOX10 gene signatures in salivary adenoid cystic and breast basal-like carcinomas. **British Journal of Cancer**, v. 109, n. 2, p. 444–451, 23 jul. 2013.
- JE, E. M. et al. Frameshift mutations of axon guidance genes ROBO1 and ROBO2 in gastric and colorectal cancers with microsatellite instability. **Pathology**, v. 45, n. 7, p. 645–650, dez. 2013.
- JI, Y. et al. miR-155 harnesses Phf19 to potentiate cancer immunotherapy through epigenetic reprogramming of CD8⁺ T cell fate. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 2157, 14 maio 2019.
- JIANG, C.-P. et al. High COL4A3 expression correlates with poor prognosis after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. **Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine**, v. 34, n. 1, p. 415–420, fev. 2013.
- JIANG, Y. et al. Cysteine transporter SLC3A1 promotes breast cancer tumorigenesis. **Theranostics**, v. 7, n. 4, p. 1036–1046, 26 fev. 2017.
- JIN, N. et al. Therapeutic implications of activating noncanonical PIK3CA mutations in head and neck squamous cell carcinoma. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 131, n. 22, p. e150335, [s.d.].
- JING, Y. et al. Detection of EP300-ZNF384 fusion in patients with acute lymphoblastic leukemia using RNA fusion gene panel sequencing. **Annals of Hematology**, v. 99, n. 11, p. 2611–2617, 2020.
- JOHANSSON, F. K.; GÖRANSSON, H.; WESTERMARK, B. Expression analysis of genes involved in brain tumor progression driven by retroviral insertional mutagenesis in mice. **Oncogene**, v. 24, n. 24, p. 3896–3905, jun. 2005.
- KANDOTH, C. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. **Nature**, v. 502, n. 7471, p. 333–339, 2013.
- KAST, K. et al. Prevalence of BRCA1/2 germline mutations in 21 401 families with breast and ovarian cancer. **Journal of Medical Genetics**, v. 53, n. 7, p. 465–471, jul. 2016.
- KATO, T. et al. Influence of lifestyle choices on risks of CYP1B1 polymorphisms for prostate cancer. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 22, n. 10, p. 4676–4687, out. 2018.
- KATOH, M.; KATOH, M. Precision medicine for human cancers with Notch signaling dysregulation (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, v. 45, n. 2, p. 279–297, fev. 2020.
- KAWABE, Y.-I. et al. Carm1 regulates Pax7 transcriptional activity through MLL1/2 recruitment during asymmetric satellite stem cell divisions. **Cell Stem Cell**, v. 11, n. 3, p. 333–345, 7 set. 2012.
- KHALIL, S.; CECCARELLI, F. Colorectal Cancer after Breast Cancer: Magnitude of Risk in Clinical Practice and in the Literature. **Tumori Journal**, v. 95, n. 1, p. 28–31, 1 jan. 2009.
- KHOTSKAYA, Y. B. et al. Targeting TRK family proteins in cancer. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 173, p. 58–66, 1 maio 2017.
- KIM, G.-C. et al. Upregulation of Ets1 expression by NFATc2 and NFkB1/RELA promotes breast cancer cell invasiveness. **Oncogenesis**, v. 7, n. 11, p. 91, 23 nov. 2018.
- KIM, S.-H. et al. Interleukin-32: a cytokine and inducer of TNFalpha. **Immunity**, v. 22, n. 1, p. 131–142, jan. 2005.
- KLEIN, T. et al. Expression of Prostacyclin-Synthase in Human Breast Cancer: Negative Prognostic Factor and Protection against Cell Death In Vitro. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. 864136,

2015.

KLEMMANN, C. et al. Clinical and Immunological Phenotype of Patients With Primary Immunodeficiency Due to Damaging Mutations in NFKB2. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 297, 19 mar. 2019.

KOTSOPOULOS, J. BRCA Mutations and Breast Cancer Prevention. **Cancers**, v. 10, n. 12, p. 524, 19 dez. 2018.

KOUR, A. et al. In silico pathway analysis based on chromosomal instability in breast cancer patients. **BMC Medical Genomics**, v. 13, p. 168, 9 nov. 2020.

KRAB, L. C. et al. Delineation of phenotypes and genotypes related to cohesin structural protein RAD21. **Human Genetics**, v. 139, n. 5, p. 575–592, 2020.

KRANZ, A.; ANASTASSIADIS, K. The role of SETD1A and SETD1B in development and disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1863, n. 8, p. 194578, 1 ago. 2020.

KRYH, H. et al. Comprehensive SNP array study of frequently used neuroblastoma cell lines; copy neutral loss of heterozygosity is common in the cell lines but uncommon in primary tumors. **BMC Genomics**, v. 12, p. 443, 7 set. 2011.

KUIPER, R. P. et al. **NTHL1 Tumor Syndrome**. [s.l.] University of Washington, Seattle, 2020.

KUIPER, R. P.; HOOGERBRUGGE, N. NTHL1 defines novel cancer syndrome. **Oncotarget**, v. 6, n. 33, p. 34069–34070, 27 out. 2015.

KUMAR, R. et al. HumCFS: a database of fragile sites in human chromosomes. **BMC Genomics**, v. 19, n. 9, p. 985, 18 abr. 2019.

KURIAN, A. W. et al. Clinical evaluation of a multiple-gene sequencing panel for hereditary cancer risk assessment. **Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 32, n. 19, p. 2001–2009, 1 jul. 2014.

L, S. **Looking Beyond the Exons: Splice Altering Variants**. **The Golden Helix Blog**, 5 jun. 2015. Disponível em: <<https://blog.goldenhelix.com/looking-beyond-the-exons-splice-altering-variants/>>. Acesso em: 4 ago. 2021

LAKSHMANAN, I. et al. MUC16 induced rapid G2/M transition via interactions with JAK2 for increased proliferation and anti-apoptosis in breast cancer cells. **Oncogene**, v. 31, n. 7, p. 805–817, 16 fev. 2012.

LANG, T. et al. NFATC2 is a novel therapeutic target for colorectal cancer stem cells. **OncoTargets and Therapy**, v. 11, p. 6911–6924, 2018.

LAWRENCE, M. S. et al. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. **Nature**, v. 505, n. 7484, p. 495–501, 23 jan. 2014.

LEE, H. et al. Persistently activated Stat3 maintains constitutive NF-kappaB activity in tumors. **Cancer Cell**, v. 15, n. 4, p. 283–293, 7 abr. 2009.

LEE, H.-W. et al. E-cigarette smoke damages DNA and reduces repair activity in mouse lung, heart, and bladder as well as in human lung and bladder cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 7, p. E1560–E1569, 13 fev. 2018.

LEE, S. H. et al. Whole-exome sequencing identified mutational profiles of high-grade colon adenomas. **Oncotarget**, v. 8, n. 4, p. 6579–6588, 25 dez. 2016.

LEGGE, D. N. et al. The role of B-Cell Lymphoma-3 (BCL-3) in enabling the hallmarks of cancer: implications for the treatment of colorectal carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 41, n. 3, p. 249–256, maio 2020.

LEHRER, S.; RHEINSTEIN, P. H. Increased Risk of Acute Myelogenous Leukemia After Early Onset but Not Late-Onset Colorectal Cancer. **American journal of clinical oncology**, v. 43, n. 4, p. 263–269, abr. 2020.

LEIDING, J. W.; HOLLAND, S. M. Chronic Granulomatous Disease. Em: **GeneReviews® [Internet]**. [s.l.] University of Washington, Seattle, 2022.

LEMMINK, H. H. et al. The clinical spectrum of type IV collagen mutations. **Human Mutation**, v. 9, n. 6, p. 477–499, 1997.

LEREBOURS, F. et al. NF-kappa B genes have a major role in Inflammatory Breast Cancer. **BMC Cancer**, v. 8, p. 41, 4 fev. 2008.

LESSARD, L. et al. Nuclear localisation of nuclear factor-kappaB transcription factors in prostate cancer: an immunohistochemical study. **British Journal of Cancer**, v. 93, n. 9, p. 1019–1023, 31 out.

2005.

LEWANDOWSKA, A. M. et al. Environmental risk factors for cancer – review paper. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 26, n. 1, p. 1–7, 22 mar. 2019.

LI, F. P. et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. **Cancer Research**, v. 48, n. 18, p. 5358–5362, 15 set. 1988.

LI, G. et al. Development and validation of a CIMP-associated prognostic model for hepatocellular carcinoma. **EBioMedicine**, v. 47, p. 128–141, 4 set. 2019.

LI, H.; DURBIN, R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. **Bioinformatics**, v. 25, n. 14, p. 1754–1760, 15 jul. 2009.

LI, J. et al. Molecular biology of BPIFB1 and its advances in disease. **Annals of Translational Medicine**, v. 8, n. 10, p. 651, maio 2020a.

LI, J. et al. Genetic and biological hallmarks of colorectal cancer. **Genes & Development**, v. 35, n. 11–12, p. 787–820, jun. 2021a.

LI, Q.-L. et al. Genome-wide profiling in colorectal cancer identifies PHF19 and TBC1D16 as oncogenic super enhancers. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 6407, 4 nov. 2021b.

LI, X.-X. et al. RNA-seq reveals determinants for irinotecan sensitivity/resistance in colorectal cancer cell lines. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 7, n. 5, p. 2729–2736, 15 abr. 2014.

LI, Y. et al. Patterns of somatic structural variation in human cancer genomes. **Nature**, v. 578, n. 7793, p. 112–121, fev. 2020b.

LI, Z. et al. A yeast two-hybrid system using Sp17 identified Ropporin as a novel cancer–testis antigen in hematologic malignancies. **International Journal of Cancer**, v. 121, n. 7, p. 1507–1511, 2007.

LI, Z. et al. Integrated analysis of gene expression and methylation profiles of 48 candidate genes in breast cancer patients. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 160, n. 2, p. 371–383, nov. 2016.

LIANG, Y. et al. Prognostic significance of abnormal matrix collagen remodeling in colorectal cancer based on histologic and bioinformatics analysis. **Oncology Reports**, v. 44, n. 4, p. 1671–1685, out. 2020.

LICHAO, S. et al. Overexpression of PTGIS Could Predict Liver Metastasis and is Correlated with Poor Prognosis in Colon Cancer Patients. **Pathology & Oncology Research**, v. 18, n. 3, p. 563–569, jul. 2012.

LIEBER, S. et al. Prognosis of ovarian cancer is associated with effector memory CD8⁺ T cell accumulation in ascites, CXCL9 levels and activation-triggered signal transduction in T cells. **Oncoimmunology**, v. 7, n. 5, p. e1424672, 15 mar. 2018.

LIETMAN, C. D.; MCKEAN, M. Targeting GNAQ/11 through PKC inhibition in uveal melanoma. **Cancer Gene Therapy**, v. 29, n. 12, p. 1809–1813, dez. 2022.

LIMPOSE, K. L. et al. Overexpression of the base excision repair NTHL1 glycosylase causes genomic instability and early cellular hallmarks of cancer. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. 9, p. 4515–4532, 18 maio 2018.

LIN, D. I. et al. Clinicopathological and genomic characterization of BCORL1-driven high-grade endometrial stromal sarcomas. **Modern Pathology**, p. 1–11, 23 jul. 2021a.

LIN, F.-M. et al. Differential gene expression and AKT targeting in triple negative breast cancer. **Oncotarget**, v. 10, n. 43, p. 4356–4368, 9 jul. 2019a.

LIN, Q. et al. Multi-organ metastasis as destination for breast cancer cells guided by biomechanical architecture. **American Journal of Cancer Research**, v. 11, n. 6, p. 2537–2567, 2021b.

LIN, Q. et al. Multi-organ metastasis as destination for breast cancer cells guided by biomechanical architecture. **American Journal of Cancer Research**, v. 11, n. 6, p. 2537–2567, 15 jun. 2021c.

LIN, Q. et al. CYP1B1-catalyzed 4-OHE2 promotes the castration resistance of prostate cancer stem cells by estrogen receptor α -mediated IL6 activation. **Cell Communication and Signaling: CCS**, v. 20, p. 31, 15 mar. 2022.

LIN, W. et al. Function of CSF1 and IL34 in Macrophage Homeostasis, Inflammation, and Cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2019, 4 set. 2019b.

LIN, W. et al. Identification of the pyroptosis-related prognostic gene signature and the associated regulation axis in lung adenocarcinoma. **Cell Death Discovery**, v. 7, p. 161, 25 jun. 2021d.

LIN, X. et al. miR-195-5p/NOTCH2-mediated EMT modulates IL-4 secretion in colorectal cancer to affect M2-like TAM polarization. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 12, p. 20, 26 fev. 2019c.

- LIU, L. et al. Prevalence of multiple malignancies in the Netherlands in 2007. **International Journal of Cancer**, v. 128, n. 7, p. 1659–1667, 2011.
- LIU, Q. et al. RhoGTPase-associated tail protein 1 promotes migration and metastasis in triple negative breast cancer via activation of RhoA. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 34, n. 8, p. 9959–9971, ago. 2020.
- LIU, X. et al. Expression of CYP1B1 and B7-H3 significantly correlates with poor prognosis in colorectal cancer patients. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 11, n. 5, p. 2654–2664, 2018.
- LIU, Z. et al. Mucin 16 Promotes Colorectal Cancer Development and Progression Through Activation of Janus Kinase 2. **Digestive Diseases and Sciences**, 12 maio 2021.
- LÓPEZ-JORNET, P. et al. Salivary biomarkers in breast cancer: a cross-sectional study. **Supportive Care in Cancer**, v. 29, n. 2, p. 889–896, 1 fev. 2021.
- LÓPEZ-OZUNA, V. M. et al. Identification of Predictive Biomarkers for Lymph Node Involvement in Obese Women With Endometrial Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 695404, 7 jul. 2021.
- LOSE, F. et al. BCoR-L1 variation and breast cancer. **Breast cancer research : BCR**, v. 9, n. 4, p. R54, 2007.
- LUCIO-ETEROVIC, A. K.; CARPENTER, P. B. An open and shut case for the role of NSD proteins as oncogenes. **Transcription**, v. 2, n. 4, p. 158–161, 1 jul. 2011.
- LUO, W. et al. Characteristics of genomic alterations of lung adenocarcinoma in young never-smokers. **International Journal of Cancer**, v. 143, n. 7, p. 1696–1705, 1 out. 2018.
- LÜSCHER-FIRZLAFF, J. et al. The human trithorax protein hASH2 functions as an oncoprotein. **Cancer Research**, v. 68, n. 3, p. 749–758, 1 fev. 2008.
- LYNCH, H. T. et al. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndromes I & II): Genetics, pathology, natural history, and cancer control, part I. **Cancer Genetics and Cyto genetics**, v. 53, n. 2, p. 143–160, 1 jun. 1991.
- MA, H. et al. PRSS3/Mesotrypsin and kallikrein-related peptidase 5 are associated with poor prognosis and contribute to tumor cell invasion and growth in lung adenocarcinoma. **Scientific Reports**, v. 9, p. 1844, 12 fev. 2019.
- MA, S. et al. The exploration of new biomarkers for oral cancer through the ceRNA network and immune microenvironment analysis. **Medicine**, v. 101, n. 49, p. e32249, 9 dez. 2022.
- MADSEN, R. R.; VANHAESEBROECK, B.; SEMPLE, R. K. Cancer-Associated PIK3CA Mutations in Overgrowth Disorders. **Trends in Molecular Medicine**, v. 24, n. 10, p. 856–870, out. 2018.
- MAGENIS, R. E.; HECHT, F.; LOVRIEN, E. W. Heritable Fragile Site on Chromosome 16: Probable Localization of Haptoglobin Locus in Man. **Science**, v. 170, n. 3953, p. 85–87, 2 out. 1970.
- MAGRIN, L. et al. POLE, POLD1, and NTHL1: the last but not the least hereditary cancer-predisposing genes. **Oncogene**, v. 40, n. 40, p. 5893–5901, out. 2021.
- MAGRIN, L. et al. MUTYH-associated tumor syndrome: The other face of MAP. **Oncogene**, v. 41, n. 18, p. 2531–2539, abr. 2022.
- MAGUIRE, S. L. et al. Three-dimensional modelling identifies novel genetic dependencies associated with breast cancer progression in the isogenic MCF10 model. **The Journal of Pathology**, v. 240, n. 3, p. 315–328, nov. 2016.
- MAKISHIMA, H. et al. CBL, CBLB, TET2, ASXL1, and IDH1/2 mutations and additional chromosomal aberrations constitute molecular events in chronic myelogenous leukemia. **Blood**, v. 117, n. 21, p. e198–e206, 26 maio 2011.
- MALDONADO, L. Y. et al. Methionine adenosyltransferases in cancers: Mechanisms of dysregulation and implications for therapy. **Experimental Biology and Medicine**, v. 243, n. 2, p. 107–117, jan. 2018.
- MALIK, S. S. et al. XPC as breast cancer susceptibility gene: evidence from genetic profiling, statistical inferences and protein structural analysis. **Breast Cancer**, v. 27, n. 6, p. 1168–1176, 1 nov. 2020.
- MAO, J. J. et al. Integrative oncology: Addressing the global challenges of cancer prevention and treatment. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 72, n. 2, p. 144–164, 2022.
- MAO, R. et al. Genetic testing for inherited colorectal cancer and polyposis, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). **Genetics in Medicine**, v. 23, n. 10, p. 1807–1817, out. 2021.
- MARRERO-RODRÍGUEZ, D. et al. Krüppel-Like Factor 10 participates in cervical cancer immunoediting through transcriptional regulation of Pregnancy-Specific Beta-1 Glycoproteins.

Scientific Reports, v. 8, p. 9445, 21 jun. 2018.

MARTINEZ-CARDÚS, A. et al. Pharmacogenomic approach for the identification of novel determinants of acquired resistance to oxaliplatin in colorectal cancer. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 8, n. 1, p. 194–202, 12 jan. 2009.

MARTIN-MORALES, L. et al. Novel genetic mutations detected by multigene panel are associated with hereditary colorectal cancer predisposition. **PLoS ONE**, v. 13, n. 9, p. e0203885, 26 set. 2018.

MATSUO, M. et al. Designation of enzyme activity of glycine-N-acyltransferase family genes and depression of glycine-N-acyltransferase in human hepatocellular carcinoma. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 420, n. 4, p. 901–906, 20 abr. 2012.

MCKENZIE, C. W. et al. CFAP54 is required for proper ciliary motility and assembly of the central pair apparatus in mice. **Molecular Biology of the Cell**, v. 26, n. 18, p. 3140–3149, 15 set. 2015.

MEGID, T. B. C. et al. Double heterozygous pathogenic variants prevalence in a cohort of patients with hereditary breast cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 2022.

MEIJERS-HEIJBOER, H. et al. The CHEK2 1100delC Mutation Identifies Families with a Hereditary Breast and Colorectal Cancer Phenotype. **American Journal of Human Genetics**, v. 72, n. 5, p. 1308–1314, maio 2003a.

MEIJERS-HEIJBOER, H. et al. **American Journal of Human Genetics**, v. 72, n. 5, p. 1308–1314, maio 2003b.

MENG, T.-C.; FUKADA, T.; TONKS, N. K. Reversible Oxidation and Inactivation of Protein Tyrosine Phosphatases In Vivo. **Molecular Cell**, v. 9, n. 2, p. 387–399, 1 fev. 2002.

MILLER, R. H.; SWEET, R. H. MULTIPLE POLYPOSIS OF THE COLON. **Annals of Surgery**, v. 105, n. 4, p. 511–515, abr. 1937.

MILLIS, S. Z. et al. Landscape of Phosphatidylinositol-3-Kinase Pathway Alterations Across 19 784 Diverse Solid Tumors. **JAMA oncology**, v. 2, n. 12, p. 1565–1573, 1 dez. 2016a.

MILLIS, S. Z. et al. Landscape of Phosphatidylinositol-3-Kinase Pathway Alterations Across 19 784 Diverse Solid Tumors. **JAMA Oncology**, v. 2, n. 12, p. 1565–1573, 1 dez. 2016b.

MIN, J. Y. et al. Upregulation of CYP1B1 by hypoxia is mediated by ER α activation in breast cancer cells. **American Journal of Cancer Research**, v. 12, n. 6, p. 2798–2816, 2022.

MIRCETA, M. et al. Fragile sites, chromosomal lesions, tandem repeats, and disease. **Frontiers in Genetics**, v. 13, p. 985975, 17 nov. 2022.

MISHRA, R. et al. PI3K Inhibitors in Cancer: Clinical Implications and Adverse Effects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3464, 27 mar. 2021.

MOHSENI, M. et al. MACROD2 overexpression mediates estrogen independent growth and tamoxifen resistance in breast cancers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 49, p. 17606–17611, 9 dez. 2014.

MOLINA-MONTES, E. et al. Risk of second cancers cancer after a first primary breast cancer: A systematic review and meta-analysis. **Gynecologic Oncology**, v. 136, n. 1, p. 158–171, jan. 2015.

MOLINA-ZAYAS, M. et al. Identification of hereditary breast and ovarian cancer germline variants in Granada (Spain): NGS perspective. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 297, n. 3, p. 859–871, 2022.

MOORE, T.; DVEKSLER, G. S. Pregnancy-specific glycoproteins: complex gene families regulating maternal-fetal interactions. **International Journal of Developmental Biology**, v. 58, n. 2–3–4, p. 273–280, 10 jul. 2014.

MORGAN, E. et al. Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. **Gut**, v. 72, n. 2, p. 338–344, fev. 2023.

MORRIS, L. G. T. et al. Recurrent somatic mutation of FAT1 in multiple human cancers leads to aberrant Wnt activation. **Nature genetics**, v. 45, n. 3, p. 253–261, mar. 2013.

MULLER, C. et al. Disparities in Early-Onset Colorectal Cancer. **Cells**, v. 10, n. 5, p. 1018, 26 abr. 2021.

MUNGAMURI, S. K. et al. Ash2L enables P53-dependent apoptosis by favoring stable transcription pre-initiation complex formation on its pro-apoptotic target promoters. **Oncogene**, v. 34, n. 19, p. 2461–2470, 7 maio 2015.

MUNK, S. H. N.; VOUTSINOS, V.; OESTERGAARD, V. H. Large Intronic Deletion of the Fragile Site Gene PRKN Dramatically Lowers Its Fragility Without Impacting Gene Expression. **Frontiers in Genetics**, v. 12, 2021.

MUR, P. et al. Role of POLE and POLD1 in familial cancer. **Genetics in Medicine: Official Journal**

- of the American College of Medical Genetics, v. 22, n. 12, p. 2089–2100, dez. 2020.
- MURAOKA, M. et al. p300 gene alterations in colorectal and gastric carcinomas. **Oncogene**, v. 12, n. 7, p. 1565–1569, 4 abr. 1996.
- MURRAY, B. et al. Methionine adenosyltransferases in liver cancer. **World Journal of Gastroenterology**, v. 25, n. 31, p. 4300–4319, 21 ago. 2019.
- MUSANI, V. et al. PTCH1 gene polymorphisms in ovarian tumors: Potential protective role of c.3944T allele. **Gene**, v. 517, n. 1, p. 55–59, 15 mar. 2013.
- NABEKI, B. et al. Interleukin-32 expression and Treg infiltration in esophageal squamous cell carcinoma. **Anticancer Research**, v. 35, n. 5, p. 2941–2947, maio 2015.
- NAKAJIMA, K. et al. Ntrk1 mutation co-segregating with bipolar disorder and inherited kidney disease in a multiplex family causes defects in neuronal growth and depression-like behavior in mice. **Translational Psychiatry**, v. 10, n. 1, p. 407, 24 nov. 2020.
- NAMI, B.; WANG, Z. Genetics and Expression Profile of the Tubulin Gene Superfamily in Breast Cancer Subtypes and Its Relation to Taxane Resistance. **Cancers**, v. 10, n. 8, p. 274, 18 ago. 2018.
- NARAYAN, G. et al. Promoter hypermethylation-mediated inactivation of multiple Slit-Robo pathway genes in cervical cancer progression. **Molecular Cancer**, v. 5, p. 16, 15 maio 2006.
- NASEEM, H. et al. Inherited association of breast and colorectal cancer: limited role of CHEK2 compared with high-penetrance genes. **Clinical Genetics**, v. 70, n. 5, p. 388–395, 21 set. 2006.
- NASSAR, F. J. et al. Methylated circulating tumor DNA as a biomarker for colorectal cancer diagnosis, prognosis, and prediction. **Clinical Epigenetics**, v. 13, p. 111, 17 maio 2021.
- NI, X. et al. Structural Insights into Interaction Mechanisms of Alternative Piperazine-urea YEATS Domain Binders in MLLT1. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, n. 12, p. 1661–1666, 25 nov. 2019.
- NICHOLS, K. E. et al. Germ-line p53 mutations predispose to a wide spectrum of early-onset cancers. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology**, v. 10, n. 2, p. 83–87, fev. 2001.
- NIE, X. et al. COL4A3 expression correlates with pathogenesis, pathologic behaviors, and prognosis of gastric carcinomas. **Human Pathology**, v. 44, n. 1, p. 77–86, 1 jan. 2013.
- NIELSEN, M.; INFANTE, E.; BRAND, R. *MUTYH* Polyposis. Em: ADAM, M. P. et al. (Eds.). **GeneReviews®**. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993.
- NIEUWENHUIS, M. H. et al. Evidence for accelerated colorectal adenoma–carcinoma progression in *MUTYH*-associated polyposis? **Gut**, v. 61, n. 5, p. 734–738, maio 2012.
- NISAR, H. et al. Whole-genome sequencing as a first-tier diagnostic framework for rare genetic diseases. **Experimental Biology and Medicine**, v. 246, n. 24, p. 2610–2617, dez. 2021.
- NOROUZI, M. et al. WRN Germline Mutation Is the Likely Inherited Etiology of Various Cancer Types in One Iranian Family. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 648649, 7 jun. 2021.
- NOVARA, F. et al. Haploinsufficiency for ANKRD11-flanking genes makes the difference between KBG and 16q24.3 microdeletion syndromes: 12 new cases. **European Journal of Human Genetics**, v. 25, n. 6, p. 694–701, jun. 2017.
- OBERNDORFER, F.; MÜLLAUER, L. Molecular pathology of lung cancer: current status and perspectives. **Current Opinion in Oncology**, v. 30, n. 2, p. 69–76, mar. 2018.
- O’CONNOR, E. et al. Identification of mutations in the MYO9A gene in patients with congenital myasthenic syndrome. **Brain: A Journal of Neurology**, v. 139, n. Pt 8, p. 2143–2153, ago. 2016.
- OHNO, K. et al. Clinical and Pathologic Features of Congenital Myasthenic Syndromes Caused by 35 Genes—A Comprehensive Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3730, 13 fev. 2023.
- OKAMOTO, Y. et al. Oxidative DNA damage in XPC-knockout and its wild mice treated with equine estrogen. **Chemical Research in Toxicology**, v. 21, n. 5, p. 1120–1124, maio 2008.
- OLIVIER, M.; HOLLSTEIN, M.; HAINAUT, P. TP53 Mutations in Human Cancers: Origins, Consequences, and Clinical Use. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 1, p. a001008, jan. 2010.
- OLKINUORA, A. P. et al. From APC to the genetics of hereditary and familial colon cancer syndromes. **Human Molecular Genetics**, v. 30, n. R2, p. R206–R224, 30 jul. 2021.
- OLKINUORA, A. P. et al. Mono- and biallelic germline variants of DNA glycosylase genes in colon

- adenomatous polyposis families from two continents. **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 870863, 2022.
- ORLOFF, M. S. et al. Germline PIK3CA and AKT1 Mutations in Cowden and Cowden-like Syndromes. **American Journal of Human Genetics**, v. 92, n. 1, p. 76–80, 10 jan. 2013.
- OSHIMA, J.; MARTIN, G. M.; HISAMA, F. M. Werner Syndrome. Em: ADAM, M. P. et al. (Eds.). **GeneReviews®**. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993.
- OUTTALEB, F. Z. et al. Lynch syndrome or hereditary non polyposis colorectal cancer (HNPCC) in a moroccan family: Case report. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 62, p. 123–126, 17 jan. 2021.
- PALACIOS-ÁLVAREZ, I.; GONZÁLEZ-SARMIENTO, R.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, E. Gorlin Syndrome. **Actas Dermo-Sifiliograficas**, v. 109, n. 3, p. 207–217, abr. 2018.
- PALLES, C. et al. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. **Nature Genetics**, v. 45, n. 2, p. 136–144, fev. 2013a.
- PALLES, C. et al. Germline mutations in the proof-reading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. **Nature genetics**, v. 45, n. 2, p. 136–144, fev. 2013b.
- PARK, D. J. et al. Rare mutations in RINT1 predispose carriers to breast and Lynch Syndrome-spectrum cancers. **Cancer discovery**, v. 4, n. 7, p. 804–815, jul. 2014.
- PARK, S.; SUPEK, F.; LEHNER, B. Systematic discovery of germline cancer predisposition genes through the identification of somatic second hits. **Nature Communications**, v. 9, p. 2601, 4 jul. 2018.
- PARR, C.; WATKINS, G.; JIANG, W. G. The possible correlation of Notch-1 and Notch-2 with clinical outcome and tumour clinicopathological parameters in human breast cancer. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 14, n. 5, p. 779–786, 1 nov. 2004.
- PASCALE, R. M. et al. S-Adenosylmethionine: From the Discovery of Its Inhibition of Tumorigenesis to Its Use as a Therapeutic Agent. **Cells**, v. 11, n. 3, p. 409, 25 jan. 2022.
- PASTUSHENKO, I. et al. Fat1 deletion promotes hybrid EMT state, tumour stemness and metastasis. **Nature**, v. 589, n. 7842, p. 448–455, jan. 2021.
- PATEL, S. G. et al. Early age onset colorectal cancer. Em: **Advances in Cancer Research**. [s.l.] Elsevier, 2021. v. 151p. 1–37.
- PAUL, A. et al. Cell adhesion molecule KIRREL1 is a feedback regulator of Hippo signaling recruiting SAV1 to cell-cell contact sites. **Nature Communications**, v. 13, p. 930, 17 fev. 2022.
- PAVLOVIC, M. et al. Diverse Expression of IL-32 in Diffuse and Intestinal Types of Gastric Cancer. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2018, p. 6578273, 4 out. 2018.
- PENA, S. D. J.; TARAZONA-SANTOS, E. Clinical genomics and precision medicine. **Genetics and Molecular Biology**, v. 45, n. 3, p. e20220150, [s.d.].
- PENG, J.; ZHANG, D. Potentials of CCL21 and CBS as Therapeutic Approaches for Breast Cancer. **European Surgical Research**, v. 63, n. 4, p. 211–223, 2022.
- PENG, Z.; GONG, Y.; LIANG, X. Role of FAT1 in health and disease. **Oncology Letters**, v. 21, n. 5, p. 398, maio 2021.
- PENTZOLD, C. et al. Sites of chromosomal instability in the context of nuclear architecture and function. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 78, n. 5, p. 2095–2103, 1 mar. 2021.
- PEREA, J. et al. NOMO-1 gene is deleted in early-onset colorectal cancer. **Oncotarget**, v. 8, n. 15, p. 24429–24436, 18 fev. 2017.
- PÉREZ-GARCÍA, J. et al. Recurrent NOMO1 Gene Deletion Is a Potential Clinical Marker in Early-Onset Colorectal Cancer and Is Involved in the Regulation of Cell Migration. **Cancers**, v. 14, n. 16, p. 4029, 20 ago. 2022.
- PERLMAN, E. J. et al. MLLT1 YEATS domain mutations in clinically distinctive Favourable Histology Wilms tumours. **Nature Communications**, v. 6, n. 10013, 4 dez. 2015.
- PERRET, R. et al. NFATc2-rearranged sarcomas: clinicopathologic, molecular, and cytogenetic study of 7 cases with evidence of AGGRECAN as a novel diagnostic marker. **Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc**, v. 33, n. 10, p. 1930–1944, out. 2020.
- PETRUCELLI, N.; DALY, M. B.; PAL, T. BRCA1- and BRCA2-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer. Em: ADAM, M. P. et al. (Eds.). **GeneReviews®**. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993.
- PETRUCELLI, N.; DALY, M. B.; PAL, T. **BRCA1- and BRCA2-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer**. [s.l.] University of Washington, Seattle, 2022.
- PHELAN, C. M. et al. Incidence of colorectal cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results

- from a follow-up study. **British Journal of Cancer**, v. 110, n. 2, p. 530–534, 21 jan. 2014.
- PIGA, D. et al. New Mutations in NEB Gene Discovered by Targeted Next-Generation Sequencing in Nemaline Myopathy Italian Patients. **Journal of molecular neuroscience: MN**, v. 59, n. 3, p. 351–359, jul. 2016.
- PINTARELLI, G. et al. Read-through transcripts in normal human lung parenchyma are down-regulated in lung adenocarcinoma. **Oncotarget**, v. 7, n. 19, p. 27889–27898, 2 abr. 2016.
- PIOMBINO, C. et al. Secondary Prevention in Hereditary Breast and/or Ovarian Cancer Syndromes Other Than BRCA. **Journal of Oncology**, v. 2020, 14 jul. 2020.
- PODUVAL, D. B. et al. Assessment of tumor suppressor promoter methylation in healthy individuals. **Clinical Epigenetics**, v. 12, p. 131, 28 ago. 2020.
- POLASCIK, T. J. et al. Distinct regions of allelic loss on chromosome 4 in human primary bladder carcinoma. **Cancer Research**, v. 55, n. 22, p. 5396–5399, 15 nov. 1995.
- POPLAWSKI, P.; PIEKIELKO-WITKOWSKA, A.; NAUMAN, A. The significance of TRIP11 and T3 signalling pathway in renal cancer progression and survival of patients. **Endokrynologia Polska**, v. 68, n. 6, p. 631–641, 2017a.
- POPLAWSKI, P.; PIEKIELKO-WITKOWSKA, A.; NAUMAN, A. The significance of TRIP11 and T3 signalling pathway in renal cancer progression and survival of patients. **Endokrynologia Polska**, v. 68, n. 6, p. 631–641, 2017b.
- POWELL, C. B. et al. Management of ovarian and breast cancer risk in non-BRCA HBOC pathogenic variant carriers in a large California health care system. **Gynecologic Oncology**, v. 167, n. 3, p. 467–475, 1 dez. 2022.
- PRAMESH, C. S. et al. Priorities for cancer research in low- and middle-income countries: a global perspective. **Nature Medicine**, v. 28, n. 4, p. 649–657, abr. 2022.
- PUDOVA, E. A. et al. Differentially Expressed Genes Associated With Prognosis in Locally Advanced Lymph Node-Negative Prostate Cancer. **Frontiers in Genetics**, v. 10, p. 730, 2019.
- QI, J. et al. Absent, Small or Homeotic 2-like Protein (ASH2L) Enhances the Transcription of the Estrogen Receptor α Gene through GATA-binding Protein 3 (GATA3). **The Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 45, p. 31373–31381, 7 nov. 2014.
- QIAN, L. et al. PRSS3 is a prognostic marker in invasive ductal carcinoma of the breast. **Oncotarget**, v. 8, n. 13, p. 21444–21453, 21 fev. 2017.
- QIN, J. et al. Histone Modifications and their Role in Colorectal Cancer (Review). **Pathology Oncology Research**, v. 26, n. 4, p. 2023–2033, 2020.
- RAYCHAUDHURI, S. et al. A review of research on the intersection between breast cancer and cardiovascular research in the Women's Health Initiative (WHI). **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 1039246, 21 mar. 2023.
- REDON, R. et al. Global variation in copy number in the human genome. **Nature**, v. 444, n. 7118, p. 444–454, nov. 2006.
- RENTZSCH, P. et al. CADD: predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D886–D894, 8 jan. 2019.
- RODRIGUEZ-BIGAS, M. A. et al. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 89, n. 23, p. 1758–1762, 3 dez. 1997.
- ROJO, F. et al. Non-canonical NF- κ B pathway activation predicts outcome in borderline oestrogen receptor positive breast carcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 115, n. 3, p. 322–331, jul. 2016.
- ROSSI, E. et al. Uveal Melanoma Metastasis. **Cancers**, v. 13, n. 22, p. 5684, 13 nov. 2021.
- ROTHER, M. et al. A novel family of putative signal transducers associated with the cytoplasmic domain of the 75 kDa tumor necrosis factor receptor. **Cell**, v. 78, n. 4, p. 681–692, 26 ago. 1994.
- ROYO, J. L. et al. Lack of Association Between NOS3 Glu298Asp and Breast Cancer Risk: a Case-control Study. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 100, n. 3, p. 331–333, 1 dez. 2006.
- RÜHLMANN, F. et al. The prognostic capacities of CBP and p300 in locally advanced rectal cancer. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 17, p. 224, 19 dez. 2019.
- RYU, J. M. et al. Prognosis of BRCA1/2-negative breast cancer patients with HBOC risk factors compared with sporadic breast cancer patients without HBOC risk factors. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, v. 50, n. 2, p. 104–113, 17 fev. 2020.
- SALAHSHOR, S. et al. Differential gene expression profile reveals deregulation of pregnancy specific

- β 1 glycoprotein 9 early during colorectal carcinogenesis. **BMC Cancer**, v. 5, p. 66, 27 jun. 2005.
- SANTIAGO, K. M. et al. Comprehensive germline mutation analysis and clinical profile in a large cohort of Brazilian xeroderma pigmentosum patients. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV**, v. 34, n. 10, p. 2392–2401, out. 2020.
- SAVIGE, J.; HARRAKA, P. Pathogenic Variants in the Genes Affected in Alport Syndrome (COL4A3–COL4A5) and Their Association With Other Kidney Conditions: A Review. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 78, n. 6, p. 857–864, 1 dez. 2021.
- SAVVA, C. et al. Werner Syndrome Protein Expression in Breast Cancer. **Clinical Breast Cancer**, v. 21, n. 1, p. 57–73.e7, 1 fev. 2021.
- SCHIERDING, W.; HORSFIELD, J. A.; O’SULLIVAN, J. Genetic variation as a long-distance modulator of RAD21 expression in humans. **Scientific Reports**, v. 12, p. 13035, 29 jul. 2022.
- SCHMID, W.; VISCHER, D. Spontaneous fragility of an abnormally wide secondary constriction region in a human chromosome No. 9. **Humangenetik**, v. 7, n. 1, p. 22–27, 1 mar. 1969.
- SCHUBERT, S. A. et al. The missing heritability of familial colorectal cancer. **Mutagenesis**, v. 35, n. 3, p. 221–231, jul. 2020.
- SCHWARTZ, C. J. et al. Breast cancer in Lynch Syndrome patients: genomic and pathologic evidence in support of a potential causal relationship. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research**, v. 28, n. 2, p. 404–413, 15 jan. 2022.
- SCHWARZE, K. et al. Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature. **Genetics in Medicine**, v. 20, n. 10, p. 1122–1130, 1 out. 2018.
- SEO, E.-H. et al. Detection of expressed IL-32 in human stomach cancer using ELISA and immunostaining. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, n. 9, p. 1606–1612, set. 2008.
- SETTASATIAN, C. et al. Genomic structure and expression analysis of the spastic paraplegia gene, SPG7. **Human Genetics**, v. 105, n. 1, p. 139–144, 1 ago. 1999.
- SHAO, H. et al. Myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and FLT3 rearrangement. **Leukemia Research**, v. 99, p. 106460, dez. 2020.
- SHAO, Y. et al. Prognostic factors of non-muscle invasive bladder cancer: a study based on next-generation sequencing. **Cancer Cell International**, v. 21, p. 23, 6 jan. 2021.
- SHELL, S. M. et al. Checkpoint Kinase ATR Promotes Nucleotide Excision Repair of UV-induced DNA Damage via Physical Interaction with Xeroderma Pigmentosum Group A. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 36, p. 24213–24222, 4 set. 2009.
- SHIMADA, I. S. et al. Prdm16 is required for the maintenance of neural stem cells in the postnatal forebrain and their differentiation into ependymal cells. **Genes & Development**, v. 31, n. 11, p. 1134–1146, 1 jun. 2017.
- SHUM, A. K. et al. BPIFB1 IS A LUNG-SPECIFIC AUTOANTIGEN ASSOCIATED WITH INTERSTITIAL LUNG DISEASE. **Science translational medicine**, v. 5, n. 206, p. 10.1126/scitranslmed.3006998, 9 out. 2013.
- SIAMAKPOUR-REIHANI, S. et al. Prognostic significance of differential expression of angiogenic genes in women with high-grade serous ovarian carcinoma. **Gynecologic oncology**, v. 139, n. 1, p. 23–29, out. 2015.
- SIMPSON, B. S.; PYE, H.; WHITAKER, H. C. The oncological relevance of fragile sites in cancer. **Communications Biology**, v. 4, n. 1, p. 1–4, 12 maio 2021.
- SINICROPE, F. A. Increasing Incidence of Early-Onset Colorectal Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 386, n. 16, p. 1547–1558, 21 abr. 2022.
- SOLANKI, A. K. et al. Mutations in KIRREL1, a slit diaphragm component, cause steroid-resistant nephrotic syndrome. **Kidney international**, v. 96, n. 4, p. 883–889, out. 2019.
- SOLOMON, J. P. et al. Identifying patients with NTRK fusion cancer. **Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology**, v. 30, n. Suppl_8, p. viii16–viii22, 1 nov. 2019.
- SOMMERFELD, L. et al. Prostacyclin Released by Cancer-Associated Fibroblasts Promotes Immunosuppressive and Pro-Metastatic Macrophage Polarization in the Ovarian Cancer Microenvironment. **Cancers**, v. 14, n. 24, p. 6154, 13 dez. 2022.
- SONG, Q. et al. SIRPB1 Promotes Prostate Cancer Cell Proliferation via Akt Activation. **The Prostate**, v. 80, n. 4, p. 352–364, mar. 2020.
- SORRENTINO, C.; DI CARLO, E. Expression of IL-32 in human lung cancer is related to the histotype

- and metastatic phenotype. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 180, n. 8, p. 769–779, 15 out. 2009.
- SOUZA, V. G. P. et al. Advances in the Molecular Landscape of Lung Cancer Brain Metastasis. **Cancers**, v. 15, n. 3, p. 722, 24 jan. 2023.
- SPIER, I. et al. Frequency and phenotypic spectrum of germline mutations in POLE and seven other polymerase genes in 266 patients with colorectal adenomas and carcinomas. **International Journal of Cancer**, v. 137, n. 2, p. 320–331, 15 jul. 2015.
- STOLLER, J. Z. et al. Ash2l interacts with Tbx1 and is required during early embryogenesis. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, v. 235, n. 5, p. 569–576, maio 2010.
- SU, M.-C. et al. Cadherin-17 is a useful diagnostic marker for adenocarcinomas of the digestive system. **Modern Pathology**, v. 21, n. 11, p. 1379–1386, nov. 2008.
- SUKUMAR, J. et al. Concurrent germline BRCA1, BRCA2, and CHEK2 pathogenic variants in hereditary breast cancer: a case series. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 186, n. 2, p. 569–575, 2021.
- SUMITANI, N. et al. Identification of Malignant Cell Populations Associated with Poor Prognosis in High-Grade Serous Ovarian Cancer Using Single-Cell RNA Sequencing. **Cancers**, v. 14, n. 15, p. 3580, 22 jul. 2022.
- SUN, R. et al. The Emerging Role of the SLCO1B3 Protein in Cancer Resistance. **Protein and Peptide Letters**, v. 27, n. 1, p. 17–29, 2020.
- SUN, Y.; LI, T.; QIAN, X. Biological Role of Nodal Modulator: A Comprehensive Review of the Last Two Decades. **DNA and cell biology**, v. 41, n. 4, p. 336–341, abr. 2022.
- SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021a.
- SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021b.
- SUPERNAT, A. et al. Deregulation of RAD21 and RUNX1 expression in endometrial cancer. **Oncology Letters**, v. 4, n. 4, p. 727–732, out. 2012.
- TAKESHIMA, H.; USHIJIMA, T. Accumulation of genetic and epigenetic alterations in normal cells and cancer risk. **npj Precision Oncology**, v. 3, n. 1, p. 1–8, 6 mar. 2019.
- TAN, Z. et al. PRSS contributes to cetuximab resistance in colorectal cancer. **Science Advances**, v. 6, n. 1, p. eaax5576, 1 jan. 2020.
- TANG, T. et al. Highly expressed SLCO1B3 inhibits the occurrence and development of breast cancer and can be used as a clinical indicator of prognosis. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 631, 12 jan. 2021.
- TANIGUCHI, K.; KARIN, M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. **Nature Reviews Immunology**, v. 18, n. 5, p. 309–324, maio 2018.
- TAO, D. et al. Identification of Angiogenesis-Related Prognostic Biomarkers Associated With Immune Cell Infiltration in Breast Cancer. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, p. 853324, 6 maio 2022.
- TAO, F. et al. miR-211 sponges lncRNA MALAT1 to suppress tumor growth and progression through inhibiting PHF19 in ovarian carcinoma. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, p. fj201800495RR, 6 jun. 2018.
- TEN BROEKE, S. W. et al. Lynch syndrome caused by germline PMS2 mutations: delineating the cancer risk. **Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 33, n. 4, p. 319–325, 1 fev. 2015.
- TEW, G. W. et al. SmgGDS Regulates Cell Proliferation, Migration, and NF- κ B Transcriptional Activity in Non-small Cell Lung Carcinoma *. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 2, p. 963–976, 11 jan. 2008.
- THAVANESWARAN, S. et al. Therapeutic implications of germline genetic findings in cancer. **Nature Reviews. Clinical Oncology**, v. 16, n. 6, p. 386–396, jun. 2019.
- THENNAVAN, A. et al. Molecular signatures of in situ to invasive progression for basal-like breast cancers: An integrated mouse model and human DCIS study. **NPJ Breast Cancer**, v. 8, p. 83, 18 jul. 2022.
- THIBODEAU, M. L. et al. Base excision repair deficiency signatures implicate germline and somatic

- MUTYH aberrations in pancreatic ductal adenocarcinoma and breast cancer oncogenesis. **Molecular Case Studies**, v. 5, n. 2, p. a003681, 4 jan. 2019.
- THIFFAULT, I. et al. Germline truncating mutations in both MSH2 and BRCA2 in a single kindred. **British Journal of Cancer**, v. 90, n. 2, p. 483–491, 26 jan. 2004.
- TÓKÉS, A.-M. et al. Expression of Tight Junction Molecules in Breast Carcinomas Analysed by Array PCR and Immunohistochemistry. **Pathology & Oncology Research**, v. 18, n. 3, p. 593–606, jul. 2012.
- TRAPANI, D. et al. Global challenges and policy solutions in breast cancer control. **Cancer Treatment Reviews**, v. 104, 1 mar. 2022.
- TSITSIKOV, E. N. et al. TRAF1 is a negative regulator of TNF signaling. enhanced TNF signaling in TRAF1-deficient mice. **Immunity**, v. 15, n. 4, p. 647–657, out. 2001.
- URBIOLA-SALVADOR, V. et al. Plasma protein changes reflect colorectal cancer development and associated inflammation. **Frontiers in Oncology**, v. 13, p. 1158261, 2023.
- URSO, E. D. L. et al. Definition and management of colorectal polyposis not associated with APC/MUTYH germline pathogenic variants: AIFEG consensus statement. **Digestive and Liver Disease**, v. 53, n. 4, p. 409–417, 1 abr. 2021.
- VALLE, L. et al. Genetic predisposition to colorectal cancer: syndromes, genes, classification of genetic variants and implications for precision medicine. **The Journal of Pathology**, v. 247, n. 5, p. 574–588, abr. 2019.
- VAN TRIGT, W. K.; KELLY, K. M.; HUGHES, C. C. W. GNAQ mutations drive port wine birthmark-associated Sturge-Weber syndrome: A review of pathobiology, therapies, and current models. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 16, p. 1006027, 2022.
- VAN WIETMARSCHE, N.; NATHAN, W. J.; NUSSENZWEIG, A. The WRN helicase: resolving a new target in microsatellite unstable cancers. **Current Opinion in Genetics & Development**, Mechanisms of Homologous Recombination. v. 71, p. 34–38, 1 dez. 2021.
- VARLEY, J. M. et al. Germ-line mutations of TP53 in Li-Fraumeni families: an extended study of 39 families. **Cancer Research**, v. 57, n. 15, p. 3245–3252, 1 ago. 1997.
- VASAN, N.; TOSKA, E.; SCALTRITI, M. Overview of the relevance of PI3K pathway in HR-positive breast cancer. **Annals of Oncology**, v. 30, n. Suppl 10, p. x3–x11, dez. 2019.
- VASEN, H. F. et al. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). **Diseases of the Colon and Rectum**, v. 34, n. 5, p. 424–425, maio 1991.
- VASEN, H. F. et al. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. **Gastroenterology**, v. 116, n. 6, p. 1453–1456, jun. 1999.
- VEERIAH, S. et al. The tyrosine phosphatase PTPRD is a tumor suppressor that is frequently inactivated and mutated in glioblastoma and other human cancers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 23, p. 9435–9440, 9 jun. 2009.
- VEGUNTA, S. et al. Identifying women with increased risk of breast cancer and implementing risk-reducing strategies and supplemental imaging. **Breast Cancer**, v. 29, n. 1, p. 19–29, 1 jan. 2022.
- VENABLE, E. R. et al. A TRIP11: FLT3 gene fusion in a patient with myeloid/lymphoid neoplasm with eosinophilia and tyrosine kinase gene fusions: a case report and review of the literature. **Cold Spring Harbor Molecular Case Studies**, p. mcs.a006243, 10 jan. 2023.
- VIDAL, A. F. et al. Comprehensive analysis of germline mutations in northern Brazil: a panel of 16 genes for hereditary cancer-predisposing syndrome investigation. **BMC Cancer**, v. 21, p. 363, 7 abr. 2021.
- VIEIRA, L. M. et al. Competing Endogenous RNA in Colorectal Cancer: An Analysis for Colon, Rectum, and Rectosigmoid Junction. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 681579, 10 jun. 2021.
- VILLACIS, R. A. R. et al. ROBO1 deletion as a novel germline alteration in breast and colorectal cancer patients. **Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine**, v. 37, n. 3, p. 3145–3153, mar. 2016.
- VILLACIS, R. A. R. et al. Germline large genomic alterations on 7q in patients with multiple primary cancers. **Scientific Reports**, v. 7, 31 jan. 2017a.
- VILLACIS, R. A. R. et al. Rare germline alterations in cancer-related genes associated with the risk of multiple primary tumor development. **Journal of Molecular Medicine**, v. 95, n. 5, p. 523–533, maio 2017b.
- VISANI, G. et al. SNPs Array Karyotyping Reveals a Novel Recurrent 20p13 Amplification in Primary

- Myelofibrosis. **PLoS ONE**, v. 6, n. 11, p. e27560, 14 nov. 2011.
- VISHNUBALAJI, R.; ALAJEZ, N. M. Epigenetic regulation of triple negative breast cancer (TNBC) by TGF- β signaling. **Scientific Reports**, v. 11, p. 15410, 29 jul. 2021.
- VOGEL, S. Z. et al. TCAIM Decreases T Cell Priming Capacity of Dendritic Cells by Inhibiting TLR-Induced Ca²⁺ Influx and IL-2 Production. **The Journal of Immunology**, v. 194, n. 7, p. 3136–3146, 1 abr. 2015.
- VOSOUGHI, A. et al. Common germline-somatic variant interactions in advanced urothelial cancer. **Nature Communications**, v. 11, p. 6195, 3 dez. 2020.
- WANG, C.-Y. et al. Mutation of the PTCH1 gene predicts recurrence of breast cancer. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 16359, 8 nov. 2019.
- WANG, H. et al. Bioinformatics Analysis and High-Throughput Sequencing to Identify Differentially Expressed Genes in Nebulin Gene (NEB) Mutations Mice. **Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 26, p. e922953-1-e922953-9, 11 maio 2020a.
- WANG, H. et al. Downregulation of PHF19 inhibits cell growth and migration in gastric cancer. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 55, n. 6, p. 687–693, jun. 2020b.
- WANG, J. et al. Overexpression of lipid metabolism genes and PBX1 in the contralateral breasts of women with estrogen receptor-negative breast cancer. **International Journal of Cancer**, v. 140, n. 11, p. 2484–2497, 1 jun. 2017a.
- WANG, J. et al. FGF19/SOCE/NFATc2 signaling circuit facilitates the self-renewal of liver cancer stem cells. **Theranostics**, v. 11, n. 10, p. 5045–5060, 5 mar. 2021.
- WANG, L. et al. ECHS1 suppresses renal cell carcinoma development through inhibiting mTOR signaling activation. **Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie**, v. 123, p. 109750, mar. 2020c.
- WANG, S.; CHEN, F.; TANG, L. IL-32 promotes breast cancer cell growth and invasiveness. **Oncology Letters**, v. 9, n. 1, p. 305–307, jan. 2015.
- WANG, W.-J. et al. CEP162 is an axoneme-recognition protein promoting ciliary transition zone assembly at the cilia base. **Nature cell biology**, v. 15, n. 6, p. 591–601, jun. 2013.
- WANG, Y. A. et al. Germline breast cancer susceptibility gene mutations and breast cancer outcomes. **BMC Cancer**, v. 18, p. 315, 22 mar. 2018.
- WANG, Z. et al. Down-regulation of LRP1B in colon cancer promoted the growth and migration of cancer cells. **Experimental Cell Research**, v. 357, n. 1, p. 1–8, 1 ago. 2017b.
- WARD, T. M. et al. Tumour genotypes account for survival differences in right- and left-sided colon cancers. **Colorectal Disease**, v. 24, n. 5, p. 601–610, 2022.
- WEN, J. et al. CSF1R inhibitors are emerging immunotherapeutic drugs for cancer treatment. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 245, p. 114884, 5 jan. 2023.
- WHITMAN, M. et al. Type I phosphatidylinositol kinase makes a novel inositol phospholipid, phosphatidylinositol-3-phosphate. **Nature**, v. 332, n. 6165, p. 644–646, 14 abr. 1988.
- WILKINSON, L.; GATHANI, T. Understanding breast cancer as a global health concern. **The British Journal of Radiology**, v. 95, n. 1130, p. 20211033, 1 fev. 2022.
- WIN, A. K. et al. Risk of colorectal cancer for people with a mutation in both a MUTYH and a DNA mismatch repair gene. **Familial Cancer**, v. 14, n. 4, p. 575–583, dez. 2015.
- WIN, A. K. et al. Variation in the Risk of Colorectal Cancer for Lynch Syndrome: A retrospective family cohort study. **The Lancet. Oncology**, v. 22, n. 7, p. 1014–1022, jul. 2021.
- WONG, M. C. S. et al. Differences in Incidence and Mortality Trends of Colorectal Cancer Worldwide Based on Sex, Age, and Anatomic Location. **Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association**, v. 19, n. 5, p. 955–966.e61, maio 2021.
- WOOSTER, R. et al. Localization of a Breast Cancer Susceptibility Gene, BRCA2, to Chromosome 13q12-13. **Science**, v. 265, n. 5181, p. 2088–2090, 30 set. 1994.
- WU, K. C.; REISMAN, S. A.; KLAASSEN, C. D. Tissue Distribution, Hormonal Regulation, Ontogeny, Diurnal Expression, and Induction of Mouse Cystine transporters Slc3a1 and Slc7a9. **Free radical research**, v. 54, n. 7, p. 525–534, jul. 2020.
- WU, X. et al. PTGIS May Be a Predictive Marker for Ovarian Cancer by Regulating Fatty Acid Metabolism. **Computational and Mathematical Methods in Medicine**, v. 2023, p. 2397728, 2 fev.

2023.

WU, Z.-X. et al. Development and Validation of a Prognostic Index Based on Genes Participating in Autophagy in Patients With Lung Adenocarcinoma. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 799759, 25 jan. 2022.

XIA, C. et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants. **Chinese Medical Journal**, v. 135, n. 5, p. 584–590, 9 fev. 2022.

XIAN, D. et al. Emerging Perspective: Role of Increased ROS and Redox Imbalance in Skin Carcinogenesis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 8127362, 2019.

XIAO, F. et al. An accurate and powerful method for copy number variation detection. **Bioinformatics**, v. 35, n. 17, p. 2891–2898, 1 set. 2019.

XIAO, W. et al. Toward best practice in cancer mutation detection with whole-genome and whole-exome sequencing. **Nature biotechnology**, v. 39, n. 9, p. 1141–1150, set. 2021.

XIAO, Z.-J. et al. NFATc2 enhances tumor-initiating phenotypes through the NFATc2/SOX2/ALDH axis in lung adenocarcinoma. **eLife**, v. 6, p. e26733, 24 jul. 2017.

XIE, F. et al. Analysis of cancer-promoting genes related to chemotherapy resistance in esophageal squamous cell carcinoma. **Annals of Translational Medicine**, v. 10, n. 2, p. 92, jan. 2022.

XIU, M.-X.; LIU, Y.-M. The role of oncogenic Notch2 signaling in cancer: a novel therapeutic target. **American Journal of Cancer Research**, v. 9, n. 5, p. 837–854, 1 maio 2019.

XU, D.; JI, Z.; QIANG, L. Molecular Characteristics, Clinical Implication, and Cancer Immunity Interactions of Pyroptosis-Related Genes in Breast Cancer. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 702638, 13 set. 2021.

XU, H. et al. Enhanced RAD21 cohesin expression confers poor prognosis and resistance to chemotherapy in high grade luminal, basal and HER2 breast cancers. **Breast Cancer Research : BCR**, v. 13, n. 1, p. R9, 2011a.

XU, H. et al. Enhanced RAD21 cohesin expression confers poor prognosis and resistance to chemotherapy in high grade luminal, basal and HER2 breast cancers. **Breast cancer research: BCR**, v. 13, n. 1, p. R9, 21 jan. 2011b.

XU, L. et al. HMGA2 regulates circular RNA ASPH to promote tumor growth in lung adenocarcinoma. **Cell Death & Disease**, v. 11, n. 7, p. 593, 27 jul. 2020.

YAN, H. et al. Role of interleukin-32 in cancer biology. **Oncology Letters**, v. 16, n. 1, p. 41–47, jul. 2018.

YANG, C. et al. Role of NSD1 as potential therapeutic target in tumor. **Pharmacological Research**, v. 173, p. 105888, 1 nov. 2021a.

YANG, H. et al. RhoGAP domain-containing fusions and PPAPDC1A fusions are recurrent and prognostic in diffuse gastric cancer. **Nature Communications**, v. 9, p. 4439, 25 out. 2018.

YANG, J. et al. American Society for Gastrointestinal Endoscopy guideline on the role of endoscopy in familial adenomatous polyposis syndromes. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 91, n. 5, p. 963–982.e2, maio 2020.

YANG, L. et al. A Novel WRN Frameshift Mutation Identified by Multiplex Genetic Testing in a Family with Multiple Cases of Cancer. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0133020, 2015a.

YANG, X. et al. Differential expression of COL4A3 and collagen in upward and downward progressing types of nasopharyngeal carcinoma. **Oncology Letters**, v. 21, n. 3, p. 223, mar. 2021b.

YANG, X.-H. et al. Inherited rare and common variants in PTCH1 and PTCH2 contributing to the predisposition to reproductive cancers. **Gene**, v. 814, p. 146157, 10 mar. 2022.

YANG, Y. et al. Dysregulation of over-expressed IL-32 in colorectal cancer induces metastasis. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 13, p. 146, 12 abr. 2015b.

YAO, W.-F.; LIU, J.-W.; HUANG, D.-S. MiR-200a inhibits cell proliferation and EMT by down-regulating the ASPH expression levels and affecting ERK and PI3K/Akt pathways in human hepatoma cells. **American Journal of Translational Research**, v. 10, n. 4, p. 1117–1130, 2018.

YAO, Y.; DENG, S.; ZHU, F. Prenatal Detection of Novel Compound Heterozygous Splice Site Variants of the KIAA0825 Gene in a Fetus with Postaxial Polydactyly Type A. **Genes**, v. 13, n. 7, p. 1230, 11 jul. 2022.

YE, Z. et al. A novel role of TCAIM: suppressing renal carcinoma growth and enhancing its sensitivity to sunitinib. **The FEBS journal**, v. 289, n. 17, p. 5259–5278, set. 2022.

YOSHIDA, R. Hereditary breast and ovarian cancer (HBOC): review of its molecular characteristics,

- screening, treatment, and prognosis. **Breast Cancer (Tokyo, Japan)**, 29 ago. 2020.
- YOUNESS, R. A. et al. Targeting hydrogen sulphide signaling in breast cancer. **Journal of Advanced Research**, v. 27, p. 177–190, jan. 2021.
- YU, J.; LI, H. The expression of FAT1 is associated with overall survival in children with medulloblastoma. **Tumori**, v. 103, n. 1, p. 44–52, 21 jan. 2017.
- YU, P. et al. Cbl-b regulates the sensitivity of cetuximab through ubiquitin-proteasome system in human gastric cancer cells. **Journal of B.U.ON.: official journal of the Balkan Union of Oncology**, v. 21, n. 4, p. 867–873, ago. 2016.
- YU, W. et al. GATA3 recruits UTX for gene transcriptional activation to suppress metastasis of breast cancer. **Cell Death & Disease**, v. 10, n. 11, p. 832, 4 nov. 2019.
- ZAVALA, V. A. et al. Genetic Epidemiology of Breast Cancer in Latin America. **Genes**, v. 10, n. 2, p. 153, 18 fev. 2019.
- ZENG, C. et al. Association of Pathogenic Variants in Hereditary Cancer Genes With Multiple Diseases. **JAMA Oncology**, v. 8, n. 6, p. 835–844, 1 jun. 2022.
- ZENG, K. et al. ASH2L is involved in promotion of endometrial cancer progression via upregulation of PAX2 transcription. **Cancer Science**, v. 111, n. 6, p. 2062–2077, jun. 2020.
- ZHANG, B. N. et al. rad21 Is Involved in Corneal Stroma Development by Regulating Neural Crest Migration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 7807, 21 out. 2020.
- ZHANG, L. et al. Genomic analyses reveal mutational signatures and frequently altered genes in esophageal squamous cell carcinoma. **American Journal of Human Genetics**, v. 96, n. 4, p. 597–611, 2 abr. 2015.
- ZHANG, L. et al. LncRNA KTN1-AS1 promotes tumor growth of hepatocellular carcinoma by targeting miR-23c/ERBB2IP axis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 1140–1147, 1 jan. 2019a.
- ZHANG, M.-J.; HONG, Y.-Y.; LI, N. Overexpression of Kin of IRRE-Like Protein 1 (KIRREL) in Gastric Cancer and Its Clinical Prognostic Significance. **Medical Science Monitor**, v. 24, p. 2711–2719, 2 maio 2018.
- ZHANG, S. et al. Copy Number Variation Pattern for Discriminating MACROD2 States of Colorectal Cancer Subtypes. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, p. 407, 19 dez. 2019b.
- ZHANG, W. et al. Electrochemical biosensors for measurement of colorectal cancer biomarkers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 413, n. 9, p. 2407–2428, 1 abr. 2021a.
- ZHANG, Y. et al. Integrated Analysis of Genetic Abnormalities of the Histone Lysine Methyltransferases in Prostate Cancer. **Medical Science Monitor**, v. 25, p. 193–239, 7 jan. 2019c.
- ZHANG, Z. et al. The correlation between polymorphisms in the XPC gene and glioma susceptibility in a Chinese pediatric population. **Translational Pediatrics**, v. 10, n. 7, p. 1896–1904, jul. 2021b.
- ZHAO, J. et al. Low CBS expression can identify patients who benefit from adjuvant chemotherapy in gastric cancer. **Expert Review of Anticancer Therapy**, v. 21, n. 11, p. 1287–1298, nov. 2021.
- ZHAO, X. et al. A Novel Prognostic Four-Gene Signature of Breast Cancer Identified by Integrated Bioinformatics Analysis. **Disease Markers**, v. 2022, p. 5925982, 2022.
- ZHENG, W. et al. Diverse molecular functions of aspartate β -hydroxylase in cancer (Review). **Oncology Reports**, v. 44, n. 6, p. 2364–2372, dez. 2020.
- ZHENG, W. et al. Multi-omics analysis of tumor angiogenesis characteristics and potential epigenetic regulation mechanisms in renal clear cell carcinoma. **Cell Communication and Signaling : CCS**, v. 19, p. 39, 24 mar. 2021.
- ZHENG, W. et al. Transcriptional information underlying the generation of CSCs and the construction of a nine-mRNA signature to improve prognosis prediction in colorectal cancer. **Cancer Biology & Therapy**, v. 21, n. 8, p. 688–697, [s.d.].
- ZHONG, J. et al. A Transcriptome-Wide Association Study Identifies Novel Candidate Susceptibility Genes for Pancreatic Cancer. **JNCI Journal of the National Cancer Institute**, 5 abr. 2020.
- ZHU, B. et al. DNMT1-induced miR-378a-3p silencing promotes angiogenesis via the NF- κ B signaling pathway by targeting TRAF1 in hepatocellular carcinoma. **Journal of experimental & clinical cancer research: CR**, v. 40, n. 1, p. 352, 8 nov. 2021.
- ZHU, T. et al. High expression of RAD21 predicts poor survival in patients with operated non-small-cell lung cancer. **Tumori**, p. 300891620910805, 17 mar. 2020.
- ZHUANG, Y. et al. Multi gene mutation signatures in colorectal cancer patients: predict for the diagnosis, pathological classification, staging and prognosis. **BMC Cancer**, v. 21, p. 380, 9 abr. 2021.

- ZHUNUSSOVA, G. et al. Mutation Spectrum of Cancer-Associated Genes in Patients With Early Onset of Colorectal Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 9, p. 673, 2019.
- ZIMMER, K. et al. WRN-Mutated Colorectal Cancer Is Characterized by a Distinct Genetic Phenotype. **Cancers**, v. 12, n. 5, p. 1319, 22 maio 2020.
- ZOU, D. et al. Pan-Cancer Analysis of NOS3 Identifies Its Expression and Clinical Relevance in Gastric Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 592761, 4 mar. 2021.
- ZOU, Q. et al. Hydroxylase Activity of ASPH Promotes Hepatocellular Carcinoma Metastasis Through Epithelial-to-Mesenchymal Transition Pathway. **EBioMedicine**, v. 31, p. 287–298, maio 2018.
- ZYGULSKA, A. L.; PIERZCHALSKI, P. Novel Diagnostic Biomarkers in Colorectal Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, p. 852, 13 jan. 2022.