



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Filipa Alexandra Magalhães de Sousa Prior

EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE E SÍNDROMES HEREDITÁRIAS DO CANCRO

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica, orientada pela Professora Doutora Ana Salomé Pires Lourenço e pela Mestre Inês Alexandra Figueira Marques e apresentada ao Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologia.

Outubro 2020



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Filipa Alexandra Magalhães de Sousa Prior

Efeitos da radiação ionizante e síndromes hereditárias do cancro

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica, orientada pela Professora Doutora Ana Salomé Pires Lourenço e pela Mestre Inês Alexandra Figueira Marques e apresentada ao Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologia.

Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica

Outubro 2020

Esta cópia da tese é fornecida na condição de que quem a consulta reconhece que os direitos de autor são pertença do autor da tese e que nenhuma citação ou informação obtida a partir dela pode ser publicada sem a referência apropriada.

This copy of the thesis has been supplied on condition that anyone who consults it is understood to recognize that its copyright rests with its author and that no quotation from the thesis and no information derived from it may be published without proper acknowledgement.

*“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for.
O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem
qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?”*

Fernando Pessoa

Agradecimentos

2020, o ano em que o mundo parou...

Para mim, o ano turbilhão, o ano que foi capaz de despertar em mim o maior turbilhão de sentimentos e de emoções que alguma vez sentira. Desde o desespero de ter que abandonar todo um projeto que já tinha exigido muito de mim, ao conforto e alento sentido por poder estar em casa, junto dos meus. Desde a tristeza de não poder passar o meu último semestre na companhia dos meus amigos, à alegria de ter aprendido a valorizar, ainda mais, a importância dos momentos vividos em família. Foi um ano pautado de indecisão, incosntância, muito trabalho, mas também de muito amor, muito companheirismo e de muita motivação. Posto isto, só me resta agradecer a todas as pessoas que, de uma maneira ou de outra, foram a minha fonte de inspiração. Sem este conjunto de pessoas, as minhas pessoas, não teria tido forças para concretizar este projeto. Foram elas que estiveram sempre do meu lado, que me acalmaram, apoiaram e incentivaram a lutar para que este projeto fosse bem sucedido e para que 2020 fosse lembrado como o ano em que concluí o meu mestrado, o ano em que me tornei uma mulher. A este conjunto de pessoas, estarei para sempre grata.

À Professora Doutora Salomé Pires Lourenço, Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, orientadora desta dissertação, agradeço todo o apoio, companheirismo e confiança demonstrados ao longo deste meu percurso. Obrigada pelo tempo e paciência dedicados à revisão minuciosa deste manuscrito. Foi um enorme prazer trabalhar e aprender consigo. A sua dedicação e paixão avassaladoras pelo seu trabalho são uma verdadeira fonte de inspiração. Obrigada por tudo!

À Mestre Inês Marques, co-orientadora desta dissertação, agradeço toda a disponibilidade demonstrada, as muitas palavras de encorajamento, o olhar crítico e a revisão pormenorizada deste documento. São pessoas como tu, cheias de vontade de trabalhar e de inovar a cada dia que passa, que me fazem querer lutar pelos meus sonhos. Obrigada por tudo!

À Professora Doutora Maria Filomena Botelho, Professora da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e diretora do Instituto de Biofísica, agradeço toda a disponibilidade, a partilha do conhecimento científico e a revisão do presente manuscrito.

Aos *Outsiders*, os meus melhores amigos, que me acompanharam durante cinco lindos e loucos anos. Obrigada é uma palavra demasiado redutora para agradecer todos os momentos fantásticos e inesquecíveis que vivemos juntos. Memórias de outro mundo que serão, com certeza, aquelas histórias giras e longas que irei contar aos meus filhos e netos. Aliás, eles vão implorar que eu conte, porque histórias como aquelas que vivemos não existem muitas. Ao meu Berto, aos meus Luíses, ao meu Tiago e ao meu Samuel, um obrigada do tamanho do mundo por fazerem de mim, todos os dias, uma pessoa mais feliz. Tal como já percebemos, existem poucas certezas na vida, mas de uma coisa eu tenho a certeza, “juntos até sermos velhinhos”.

Ao meu querido João e à minha doce Rita, obrigada por serem, simplesmente, as pessoas únicas, maravilhosas e puras que são. Amigos como vocês são raros e eu, sem dúvida nenhuma, sou a rapariga mais sortuda de todas por vos ter aos dois na minha vida. Obrigada por tudo, por tudo mesmo! São pessoas como vocês que dão cor ao meu mundo.

À minha família de praxe, as minhas Potas, obrigada por serem a família mais louca de todos os tempos. Que saudades que tenho dos nossos jantares, das nossas gargalhadas, das nossas aventuras na biblioteca e no nosso querido RS... Obrigada pela força constante, pelo apoio incondicional, pelos miminhos que sempre me deram, a todo o minuto e a todo o segundo. Obrigada por todas as horas que “perderam” para me ouvir, aconselhar e também para me

darem na cabeça. Este foi o meu último ano no departamento, mas se há coisa que vos garanto é que nunca mais se vão ver livres de mim. Fizeram com que me apaixonasse perdidamente por vocês, portanto agora aguentem comigo! Adoro-vos com todo o meu coração. Potas para sempre!

Ao Gui, agradeço todo o carinho e amor demonstrados ao longo desta fase agitada da minha vida. Obrigada pela paciência, pelo apoio incondicional e pelas lágrimas de nervosismo que ajudaste a secar com as tuas piadas que, na verdade, não têm assim tanta piada. Obrigada por seres quem és e por me conseguires arrancar sempre o maior dos sorrisos. Que continues por muitos e longos anos ao meu lado. Sem ti, nada disto teria sido possível.

Ao meu Becas, aquele que, para mim, será sempre o meu irmãozinho pequenino e reguila que me morde as pernas e que foge de mim para eu não lhe puxar os cabelos. A ti te agradeço por todo o apoio, amor e calma que, desde sempre, me consegues transmitir. A tua força de vontade, a tua dedicação e a tua paixão pelo que mais gostas são uma fonte de inspiração para mim. És o orgulho da mana!

Aos meus queridos e doces papás, as pessoas mais importantes da minha vida, os meus portos de abrigo. A vocês a quem devo tudo, um obrigada do tamanho do mundo. Obrigada por todos os beijinhos, abraços, conselhos, apoio, dedicação... Desde pequenina que vos digo que quando for grande quero ser como vocês e, de facto, este meu desejo ainda se mantém. Tal como vocês, quero levantar-me todos os dias da cama com o desejo imenso de tornar o mundo um bocadinho mais bonito. É um orgulho gigante poder dizer que sou vossa filha, que tenho os melhores papás deste mundo e do outro. Amo-vos com todo o meu coração, daqui à Lua e da Lua até aqui!

E, por último, à minha querida avó, a minha verdadeira musa inspiradora, obrigada por me teres amado e ensinado a amar tanto e tão intensamente. As saudades que tenho tuas são impossíveis de descrever. Amo-te hoje e sempre, para sempre, meu amor.

Índice

Resumo	11
Abstract	16
Lista de Abreviaturas	21
Índice de Tabelas e Figuras	27
1. Introdução	33
1.1. Radiação Ionizante	35
1.2. Lesões no DNA e cancro	38
2. Objetivos	49
3. Síndromes Hereditárias	53
3.1. Síndrome hereditária do cancro da mama e ovário	55
3.1.1. História/conceito básico	55
3.1.2. Predisposição genética	56
3.1.3. Prevalência e caracterização da HBOC	62
3.1.4. Diagnóstico	66
3.1.5. Vigilância e prevenção	68
3.1.6. Abordagens terapêuticas e avanços	72
3.1.7. HBOC e efeitos da radiação ionizante	85
3.2. Síndrome de Li-Fraumeni	100
3.2.1. História/conceito básico	100
3.2.2. Predisposição genética	101
3.2.3. Prevalência e caracterização da LFS	103
3.2.4. Diagnóstico	106
3.2.5. Vigilância e prevenção	108
3.2.6. Abordagens terapêuticas e avanços	112
3.2.7. LFS e efeitos da radiação ionizante	113
3.3. Anemia de Fanconi	129
3.3.1. História/conceito básico	129
3.3.2. Predisposição genética	130
3.3.3. Prevalência e caracterização da FA	132
3.3.4. Diagnóstico	136
3.3.5. Vigilância e prevenção	137
3.3.6. Abordagens terapêuticas e avanços	139
3.3.7. FA e efeitos da radiação ionizante	141

3.4. Ataxia-telangiectasia	152
3.4.1. História/conceito básico.....	152
3.4.2. Predisposição genética	153
3.4.3. Prevalência e caracterização da A-T.....	155
3.4.4. Diagnóstico	162
3.4.5. Abordagens terapêuticas e avanços	164
3.4.6. A-T e efeitos da radiação ionizante.....	166
4. Conclusões e Perspetivas Futuras	176
5. Referências Bibliográficas	184

Resumo

Cerca de 5% a 10% de todos os casos oncológicos relatados surgem no contexto de uma síndrome de predisposição para cancro familiar. Com o decorrer dos anos, muitos têm sido os relatos publicados na literatura que afirmam a existência de um conjunto de indivíduos que apresenta uma hipersensibilidade à radiação ionizante em comparação com a população em geral. Esses indivíduos, por sua vez, apresentam neoplasias resultantes da existência de mutações em genes que detêm um papel fulcral na manutenção da estabilidade genómica. Quando mutados, estes genes deixam de conseguir garantir a estabilidade do genoma, o que promove a indução do processo de carcinogénese. Estas mutações são habitualmente herdadas de forma autossómica dominante e conduzem ao desenvolvimento de determinadas síndromes hereditárias do cancro. Visto que muitas dessas síndromes surgem da reparação incorreta de lesões existentes no DNA, as quatro síndromes hereditárias relatadas nesta dissertação apresentam esse mesmo fator em comum. Na verdade, todas elas se desenvolvem a partir de mutações que comprometem genes essenciais que desempenham um papel crítico na ativação e indução das inúmeras vias que em conjunto formam a resposta a lesões no DNA. De facto, apesar de vários estudos epidemiológicos retrospectivos terem mostrado que a exposição a diferentes doses de radiação ionizante é capaz de induzir a formação de cancro em indivíduos diagnosticados com qualquer uma destas quatro síndromes, esses mesmos resultados ainda são inconsistentes e insuficientes. Além disso, não existem diretrizes ou recomendações que definam os limites das doses de exposição ou quais os métodos de imagem e de terapia mais adequados para estes doentes.

Atualmente, as técnicas imagiológicas de diagnóstico que utilizam radiação ionizante são uma ferramenta crucial para uso médico, visto que são estes exames que permitem prevenir, diagnosticar e descrever qual o tipo de terapia que deve ser administrado ao doente oncológico. O último relatório da Comissão Internacional de Proteção Radiológica (2007-2010) demonstrou que a tomografia computadorizada é responsável por mais de 50% da exposição da população europeia à radiação de origem médica. Em Portugal, a prevalência de exames de tomografia computadorizada é bastante elevada, constituindo 74% da dose coletiva total. Por outro lado, a radioterapia adjuvante continua a fazer parte da maioria dos planos de tratamento associados ao diagnóstico de um determinado tipo de cancro, sendo administrada em cerca de 60% dos doentes oncológicos. Desta forma, é crucial garantir a justificação e a otimização dos protocolos relativos aos exames de imagem médica e às abordagens radioterapêuticas, tal como incluir informações sobre a exposição como parte do relatório destas técnicas.

Desta forma, o objetivo primordial deste projeto foi expor e tentar clarificar quais os conhecimentos atuais acerca dos efeitos da radiação ionizante no aumento do risco de desenvolvimento de lesões e de cancro em indivíduos diagnosticados com quatro síndromes hereditárias do cancro: síndrome hereditária do cancro da mama e do ovário (HBOC), síndrome de Li-Fraumeni (LFS), anemia de Fanconi (FA) e ataxia-telangiectasia (A-T). Assim, esta dissertação envolve a descrição pormenorizada destas quatro síndromes hereditárias, tal como uma análise dos efeitos adversos da radiação ionizante conhecidos até ao momento em indivíduos diagnosticados com cada uma destas síndromes hereditárias do cancro.

A análise de vários estudos retrospectivos permitiu verificar que a exposição de portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*, previamente diagnosticados com HBOC, à radiação ionizante induz o aumento do risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama nestes indivíduos. Mais especificamente, após estes doentes terem sido expostos a baixas doses de radiação ionizante, decorrentes da realização de exames imagiológicos de diagnóstico (como

mamografias e radiografias torácicas), foi possível perceber que portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* possuem uma predisposição mais elevada para desenvolverem cancro da mama primário em comparação com indivíduos que não possuam esses genes mutados. Relativamente à exposição a doses altas de radiação ionizante, características da realização de abordagens radioterapêuticas, foi possível perceber que os portadores destas mutações que estejam a receber radioterapia adjuvante para tratamento de um cancro da mama primário, possuem um risco aumentado de desenvolverem, futuramente, cancro da mama contralateral.

Por outro lado, a análise de vários estudos e casos clínicos retrospectivos acerca de portadores de mutações no gene *TP53*, previamente diagnosticados com LFS, permitiu verificar que estes doentes possuem um risco significativamente superior de desenvolverem um segundo tumor do que a população em geral. Mais concretamente, foi possível constatar que estes indivíduos, após terem realizado radioterapia adjuvante, apresentam um maior risco de desenvolverem uma segunda neoplasia do que indivíduos que não apresentem LFS, sendo os sarcomas os tipos de carcinomas mais frequentemente observados.

De outra forma, a análise de 8 estudos retrospectivos, que avaliaram os efeitos adversos da radiação ionizante em portadores de mutações nos genes *FANC*, previamente diagnosticados com FA, permitiu constatar que estes indivíduos são mais suscetíveis ao desenvolvimento de lesões decorrentes dessa exposição em comparação com indivíduos sem FA. Com base nos resultados destes estudos, foi possível concluir que doentes com FA e que tinham sido diagnosticados com carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço (HNSCC), um dos tumores mais frequentemente associados a esta síndrome, apresentam uma toxicidade excessiva decorrente da realização da radioterapia adjuvante. Essa toxicidade severa inclui vários sintomas a curto e a longo-prazo, culminando na morte da maioria dos doentes em causa.

Relativamente à última síndrome abordada nesta dissertação, a A-T, a análise de estudos retrospectivos que incluíram portadores de mutações no gene *ATM*, permitiu verificar que a exposição destes indivíduos a elevadas doses de radiação ionizante aumentava o risco destes desenvolverem lesões a curto e a longo-prazo em comparação com indivíduos sem A-T. Os estudos que foram analisados e que avaliaram os efeitos adversos da radioterapia em doentes com esta patologia permitiram compreender que também estes indivíduos revelaram uma toxicidade exacerbada a este tipo de terapia, levando à morte de muitos dos indivíduos com A-T.

Abstract

About 5% to 10% of all reported cancer cases arise in the context of a syndrome of predisposition to familial cancer. Over the years, there have been many reports published in the literature that claim the existence of a group of people who are hypersensitive to ionizing radiation compared to the overall population. These individuals, in turn, have neoplasms resulting from the existence of mutations in genes that play a key role in maintaining genomic stability. When mutated, these genes fail to guarantee the stability of the genome, which promotes the induction of carcinogenesis. These mutations are usually inherited in an autosomal dominant manner and lead to the development of certain inherited cancer syndromes. Since many of these syndromes arise from the incorrect repair of existing DNA damage, the four hereditary syndromes reported in this dissertation have this same factor in common. In fact, all of them develop from mutations that compromise fundamental genes that play a critical role in the activation and induction of the countless pathways that together form DNA damage response. In fact, although several retrospective epidemiological studies have shown that exposure to different doses of ionizing radiation is able to induce cancer formation in individuals diagnosed with any of these four syndromes, these same results are inconsistent and insufficient. Moreover, there are no guidelines or recommendations to establish the exposure dose-limit or to guide these individuals for the best imaging modality or therapy.

Currently, diagnostic imaging techniques that use ionizing radiation are an essential tool for medical use, since these tests prevent, diagnose and help to define the type of therapy that should be administered to cancer patients. The latest report of the International Commission for Radiological Protection (2007-2010) demonstrated that computed tomography is responsible for more than 50% of the exposure of the European population to radiation of medical origin. In Portugal, the prevalence of computed tomography examinations is quite high, constituting 74% of the total collective dose. On the other hand, adjuvant radiotherapy continues to be part of most treatment plans associated with the diagnosis of a certain type of cancer, being administered in about 60% of cancer patients. Therefore, it is very important to ensure the justification and optimization of the protocols related to medical imaging exams and radiotherapeutic approaches, as well as including information on exposure as part of the report on these techniques.

Thus, the main objective of this project was to expose and try to clarify what is the current knowledge about the effects of ionizing radiation in increasing the risk of developing cancer in individuals diagnosed with four hereditary cancer syndromes: hereditary breast and ovarian cancer syndrome (HBOC), Li-Fraumeni syndrome (LFS), Fanconi anemia (FA) and ataxia-telangiectasia (A-T). Thus, this dissertation involves the detailed description of these four hereditary syndromes, as well as an analysis of the adverse effects of ionizing radiation in individuals diagnosed with each of these hereditary cancer syndromes.

The analysis of several retrospective studies showed that the exposure to ionizing radiation of carriers of mutations in the *BRCA1/2* genes previously diagnosed with HBOC induces an increased risk associated with the development of breast cancer in these individuals. More specifically, after exposure to low doses of ionizing radiation, resulting from diagnostic imaging tests (such as mammographies and chest X-rays), carriers of mutations in the *BRCA1/2* genes have a higher predisposition to develop primary breast cancer compared to individuals who do not have these mutated genes. Regarding the exposure to high doses of ionizing radiation, characteristics of the realization of radiotherapeutic approaches, it was possible to perceive that the carriers of these mutations who are receiving adjuvant radiotherapy for the treatment of a

primary breast cancer, have an increased risk of developing contralateral breast cancer in the future.

On the other hand, the analysis of several retrospective studies and clinical cases about carriers of mutations in the *TP53* gene, previously diagnosed with LFS, showed that these patients have a significantly higher risk of developing a second tumor than the general population. More specifically, it was found that these individuals, after having undergone adjuvant radiotherapy, have a greater risk of developing a second neoplasia than individuals who do not have LFS, with sarcomas being the most frequently observed types of carcinoma.

Moreover, the analysis of 8 retrospective studies, which evaluated the adverse effects of ionizing radiation in patients with mutations in the *FANC* genes, previously diagnosed with FA, showed that these individuals are more susceptible to the development of injuries resulting from this exposure compared to individuals without FA. Based on the results of these studies, it was possible to conclude that patients with FA who had been diagnosed with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), one of the tumors most often associated to this syndrome, have an excessive toxicity resulting from radiotherapy adjuvant. This severe toxicity includes several symptoms in the short and long term, culminating in the death of the majority of the patients concerned.

Regarding the last syndrome addressed in this dissertation, A-T, the analysis of retrospective studies that included carriers of mutations in the *ATM* gene, showed that the exposure of these individuals to high doses of ionizing radiation increased their risk of developing lesions in the short and long term. compared to individuals without A-T. The studies that evaluate the adverse effects of radiotherapy in patients with this pathology allowed to understand that these individuals also revealed an exacerbated toxicity to this type of therapy, leading to the death of many of the individuals with A-T.

Lista de Abreviaturas

SSBs - quebras nas cadeias simples do DNA, do inglês "*single-strand breaks*"

DSBs - quebras nas cadeias duplas do DNA, do inglês "*double-strand breaks*"

CT - tomografia computadorizada

DDR - do inglês "*DNA damage response*"

BER - reparação por excisão de base, do inglês "*base excision repair*"

NER - reparação por excisão de nucleotídeo, do inglês "*nucleotide excision repair*"

MMR - reparação por *mismatch* , do inglês "*mismatch repair*"

NHEJ - união de extremidade não-homóloga, do inglês "*non-homologous end joining*"

Cdc25 - fosfatases Cdc25, do inglês "*cell division cycle 25*"

BRCA1 - proteína BRCA1, do inglês "*Breast cancer type 1 susceptibility protein*"

ATM – proteína ATM, do inglês "*Ataxia telangiectasia mutated*"

ATR – proteína ATR, do inglês "*Ataxia Telangiectasia And Rad3-Related Protein*"

ATM – gene *ATM*, do inglês "*ATM serine/threonine kinase*"

DNA-PK - do inglês "*DNA protein kinase*"

CHEK1 – proteína CHEK1, do inglês "*serine/threonine-protein kinase Chk1*"

CHEK2 – proteína CHEK2, do inglês "*serine/threonine-protein kinase Chk1*"

BRCA1 – gene *BRCA1*, do inglês "*BRCA1 DNA repair associated*"

CtIP - proteínas CtIP, do inglês "*C-terminal interacting protein*"

RPA - do inglês "*replication protein A*"

BLM - helicase síndrome de Bloom, do inglês "*Bloom syndrome helicase*"

BARD1 – gene *BARD1*, do inglês "*BRCA1-associated RING domain 1*"

SDSA - síntese dependente de anelamento da cadeia, do inglês "*synthesis-dependent strand annealing*")

BIR - replicação induzida por quebra, do inglês "*break induced replication*"

LTGC - conversão génica de trato longo, do inglês "*long-tract gene conversion*"

LIG4- DNA ligases IV

XRCC4 - proteínas XRCC4, do inglês "*X-ray repair cross-complementing protein 4*"

XLF – proteínas XLF, do inglês "*XRCC4 like-factor*"

PAXX - proteínas PAXX, do inglês "*PAXX non-homologous end joining factor*"

A-T - ataxia-telangiectasia

ATLD - do inglês "*ataxia-telangiectasia-like disorder*"

FA - anemia de Fanconi, do inglês *"Fanconi anemia"*

HBOC – síndrome hereditária do cancro da mama e do ovário, do inglês *"Hereditary Breast and Ovarian Cancer syndrome"*

LFS - síndrome de Li-Fraumeni, do inglês *"Li-Fraumeni syndrome"*

BRCA1 – gene BRCA1, do inglês *"BRCA1 DNA repair associated"*

BRCA2 – gene BRCA2, do inglês *"BRCA2 DNA repair associated"*

ATM – gene ATM, do inglês *"ATM serine/threonine kinase"*

PTEN – gene PTEN, do inglês *"phosphatase and tensin homolog"*

CDH1 – gene CDH1, do inglês *"cadherin 1"*

CHEK2 – gene CHEK2, do inglês *"checkpoint kinase 2"*

PALB2 – gene PALB2, do inglês *"partner and localizer of BRCA2"*

SKT11 – gene SKT11, do inglês *"serine/threonine kinase 11"*

TP53 – gene TP53, do inglês *"tumor protein p53"*

MLH1 – gene MLH1, do inglês *"mutL Homolog 1"*

MSH2 – gene MSH2, do inglês *"mutS Homolog 2"*

RAD51C – gene RAD51C, do inglês *"RAD51 paralog C"*

RAD51D - gene RAD51D, do inglês *"RAD51 paralog D"*

IPOC - Instituto Português de Oncologia de Coimbra (IPOC)

IPOP - Instituto Português de Oncologia do Porto

BRIP1 – gene BRIP1, do inglês *"BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1"*

RING – domínio RING, do inglês *"Really Interesting New Gene finger domain"*

BRCT – domínio BRCT, do inglês *"BRCA1 C-terminal domain"*

BRCA2 - proteína BRCA2, do inglês *"Breast cancer type 2 susceptibility protein"*

NLS – sequência de localização nuclear, do inglês *"nuclear localization sequence"*

BASC - complexo de vigilância do genoma associado ao gene BRCA1, do inglês *"BRCA1-associated genome surveillance complex"*

DBD - domínio de ligação ao DNA, do inglês *"DNA-binding domain"*

DSS1 – proteína DSS1, do inglês *"Deleted in Split-hand/Split-foot malformation 1"*

KEAP1 - proteína KEAP1, do inglês *"Kelch Like ECH Associated Protein 1"*

ChAM - domínio ChAM, do inglês *"Chromatin Associated Motif"*

CMTN – cancro da mama triplo negativo

RE – recetor de estrogénio

RP – recetor de progesterona

HER2 - receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano, do inglês *“human epidermal growth factor receptor 2”*

PCR – reação em cadeia da polimerase, do inglês *“polymerase chain reaction”*

BOADICEA – modelo BOADICEA, do inglês *“Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm”*

STAR - ensaio clínico STAR, do inglês *“Study of Tamoxifen and Raloxifen”*

PARPis - inibidores da poli (ADP-ribose) polimerase, do inglês *“poly ADP ribose polymerase inhibitors”*

FDA - do inglês *“Food and Drug Administration”*

EMA – do inglês *“European Medicines Agency”*

IMRT - radioterapia de intensidade modulada, do inglês *“intensity-modulated radiation therapy”*

VMAT - arcoterapia volumétrica modulada, do inglês *“volumetric modulated arc rtherapy”*

3D-CRT - radioterapia conformacional 3D, do inglês *“three-dimensional conformal radiotherapy”*

WBRT – do inglês *“whole breast radiation therapy”*

APBI – do inglês *“accelerated partial breast irradiation”*

IORT – do inglês *“intraoperative radiation therapy”*

PARPs - poli (ADP-ribose) polimerases, do inglês *“poly (ADP ribose) polymerases”*

SNC - sistema nervoso central

MDM2 - proteína MDM2, do inglês *“murine double minute 2”*

ALL - leucemia linfoblástica aguda, do inglês *“acute lymphoblastic leukemia”*

AML - leucemia mieloblástica aguda, do inglês *“acute myeloid leukemia”*

PET/CT - do inglês *“positron emission tomography/computed tomography”*

CIR – cancro induzido pela radiação ionizante

FANC – família de genes FANC, do inglês *“Fanconi anemia complementation group”*

FANCA – gene FANCA, do inglês *“Fanconi anemia complementation group A”*

FANCC – gene FANCC, do inglês *“Fanconi anemia complementation group C”*

FANCG – gene FANCG, do inglês *“Fanconi anemia complementation group G”*

FAAPs - proteínas associadas ao complexo FA, do inglês *“FA-associated proteins”*

USP1 - do inglês *“ubiquitin-specific peptidase 1”*

HHR6 - do inglês *“human homologs of yeast Rad6”*

TAR - do inglês *“thrombocytopenia-absent radius”*

HNSCC - tumor espinocelular da cabeça e do pescoço, do inglês *"head and neck squamous cell carcinoma"*

DNA-PKcs - proteína cinase dependente de DNA, do inglês *"DNA-dependent protein kinase"*

mTOR - do inglês *"mammalian target of rapamycin"*

SMG1 - do inglês *"suppressor with morphological effect on genitalia family member"*

ROS - espécies reativas de oxigênio, do inglês *"reactive oxygen species"*

HIF-1 - do inglês *"hypoxia-inducible factors"*

VEGF - do inglês *"vascular endothelial growth factor"*

AFP - alfa-fetoproteína

ATLD2 - do inglês *"ataxia-telangiectasia-like disorder 2"*

ATLD1 - do inglês *"ataxia-telangiectasia-like disorder 1"*

AOA1 - do inglês *"ataxia with oculomotor apraxia type 1"*

AOA2 - do inglês *"ataxia with oculomotor apraxia type 2"*

SCAN1 - do inglês *"spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy type 1"*

TREC - do inglês *"T-cell receptor excision circles"*

Índice de Tabelas e Figuras

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Mutações genéticas associadas à HBOC.....	55
Tabela 2 - Relação entre a idade relativa à 1ª mamografia e o risco de desenvolvimento de cancro da mama em portadoras de mutações nos genes <i>BRCA1/2</i>	86
Tabela 3 – Relação entre a idade da 1ª mamografia e o número de radiografias torácicas realizadas por portadoras de mutações no gene <i>BRCA1</i> e a suscetibilidade destas desenvolverem cancro da mama.....	91
Tabela 4 – Relação entre a idade da 1ª mamografia e o número de radiografias torácicas realizadas por portadoras de mutações no gene <i>BRCA2</i> e a suscetibilidade destas desenvolverem cancro da mama.....	91
Tabela 5 - Radiação de diagnóstico e risco de desenvolvimento de cancro da mama primário em portadores das mutações <i>BRCA1/2</i>	96
Tabela 6 - Radioterapia para tratamento de um tumor mamário primário e risco de desenvolvimento de um cancro da mama contralateral em portadores das mutações <i>BRCA1/2</i>	98
Tabela 7 - Estudos que avaliam o risco de desenvolvimento de neoplasias induzidas pela radiação ionizante após a realização de radioterapia em doentes com LFS.....	126
Tabela 8 - Casos clínicos que relataram o desenvolvimento de 2 ^{as} neoplasias induzidas pela radiação ionizante após a realização de radioterapia em doentes com LFS.....	127
Tabela 9 - Doentes oncológicos com FA e complicações observadas após realização de radioterapia adjuvante.....	142
Tabela 10 - Doentes oncológicos com FA e desenvolvimento de 2 ^{as} neoplasias após realização de radioterapia adjuvante.....	144
Tabela 11 - Doentes oncológicos com FA e desenvolvimento de complicações decorrentes da realização de radioterapia adjuvante pós-operatória.....	147
Tabela 12 -Estudos que avaliam os efeitos adversos da radiação ionizante após realização de radioterapia em doentes com FA e que foram diagnosticados com HNSCC.....	149
Tabela 13 - Características clínicas observadas em doentes com A-T e a sua prevalência durante o curso da doença ou como uma manifestação inicial.....	155
Tabela 14 - Características clínicas e laboratoriais de alguns distúrbios genéticos que podem ser confundidos com a síndrome A-T.....	163
Tabela 15 - Estudos que avaliam os efeitos adversos decorrentes da realização de radioterapia em doentes com A-T.....	173

Índice de Figuras

Figura 1 - Ionização de um átomo.....	35
Figura 2 - Efeitos biológicos da radiação ionizante.....	36

Figura 3 - Distribuição mundial da exposição à radiação ionizante.....	37
Figura 4 - Potenciais destinos de uma célula no decorrer do controlo do ciclo celular.....	40
Figura 5 - Regulação da DDR pelas proteínas ATM e ATR aquando da existência de lesões no DNA nas fases S/G2.....	41
Figura 6 - Regulação da DDR pela proteína ATM aquando da existência de lesões no DNA nas fases G1/S.....	42
Figura 7 - Mecanismos de reparação de DSBs.....	45
Figura 8 - Papel das vias DRR na indução da carcinogénese.....	47
Figura 9 - Domínios funcionais da proteína BRCA1.....	58
Figura 10 - Domínios funcionais da proteína BRCA2.....	60
Figura 11 - Domínios funcionais da proteína PALB2.....	61
Figura 12 - Domínios funcionais das proteínas RAD51C e RAD51D.....	62
Figura 13 - Representação esquemática dos exames mamários que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com HBOC, com o intuito de se tentar diagnosticar um cancro da mama.....	69
Figura 14 - Representação esquemática dos exames que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com HBOC, com o intuito de se tentar diagnosticar um cancro do ovário.....	71
Figura 15 - Representação esquemática da administração de radioterapia externa aquando da existência de um tumor mamário.....	76
Figura 16 - Planeamento de uma WBRT.....	77
Figura 17 - Planeamento de uma APBI.....	77
Figura 18 - Representação esquemática de uma IORT.....	78
Figura 19 - Representação esquemática do papel dos inibidores PARP na “letalidade sintética”	81
Figura 20 - Domínios funcionais da proteína P53.....	101
Figura 21 - Funções da proteína P53.....	102
Figura 22 - Representação esquemática dos exames mamários que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.....	110
Figura 23 - Representação esquemática dos exames neurológicos que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.....	110
Figura 24 - Representação esquemática dos exames imagiológicos associados à deteção precoce de sarcomas que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.....	111
Figura 25 - Representação esquemática dos exames imagiológicos associados à deteção precoce de neoplasias do córtex suprarrenal que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.....	111
Figura 26 - Representação esquemática dos exames imagiológicos associados à deteção precoce de tumores colorretais que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.....	112

Figura 27 - Via de sinalização FA.....	131
Figura 28 - Anomalias físicas observadas em doentes diagnosticados com FA.....	133
Figura 29 - Cariótipo característico de um doente com FA.....	137
Figura 30 - Representação esquemática dos exames hematológicos que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com FA.....	138
Figura 31 - Representação esquemática dos exames da cabeça e do pescoço que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com FA.....	139
Figura 32 - Representação esquemática dos exames ginecológicos que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com FA.....	139
Figura 33 - Manifestações clínicas da A-T.....	152
Figura 34 - Domínios funcionais da proteína ATM.....	153
Figura 35 - Ativação da proteína ATM.....	154

1. Introdução

1.1. Radiação Ionizante

A radiação pode ser descrita, fisicamente, como uma forma de energia que pode estar sob a forma de onda eletromagnética ou sob a forma de partículas. A radiação pode ter origem natural ou artificial, sendo classificada em dois tipos diferentes: a radiação não ionizante, que inclui a radiação ultravioleta, a radiação infravermelha, a radiação visível, as microondas e as ondas de rádio, e a radiação ionizante, que contempla, entre outras, partículas α , partículas β , prótons, neutrões, radiação-X e radiação-gama. A radiação não ionizante não possui energia suficiente para provocar a ionização de um átomo ou molécula. Contrariamente, a radiação ionizante, ao interagir, pode ceder uma quantidade de energia capaz de arrancar electrões a átomos ou moléculas (Figura 1). Daqui resulta uma maior agressividade biológica [1], [2].

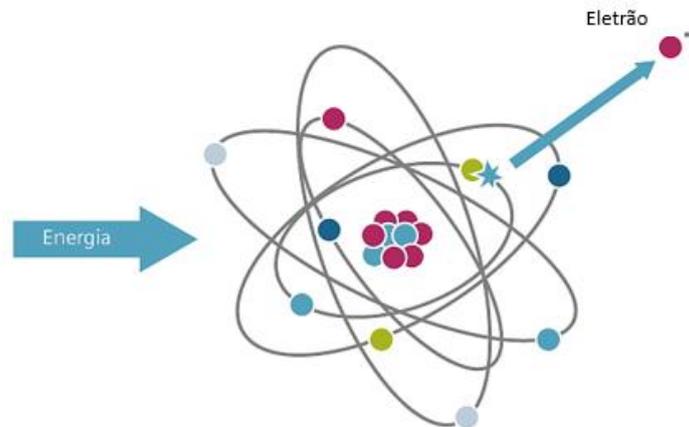


Figura 1 - Ionização de um átomo. Adaptado de <http://www.radiacao-medica.com.br/dados-sobre-radiacao/o-que-e-radiacao/radiacao-ionizante/>

Quando existe cedência de energia ao meio que a radiação percorre, diz-se que a radiação ionizante interagiu com a matéria. Na verdade, quando um feixe de radiações ionizantes interage com um determinado sistema biológico, o primeiro efeito dessa interação resulta da transferência de energia aos componentes desse sistema, sendo acompanhada da produção de pares de iões, à medida que atravessa a matéria. De facto, esta transferência de energia varia com o tipo de radiação ionizante em causa. A radiação-X, a radiação- γ e as partículas β de alta energia, por serem bastante penetrantes, possuem longos trajetos antes de cederem toda a sua energia, apresentando baixa transferência linear de energia (LET, do inglês "*linear energy transfer*"). As partículas α , os prótons e os neutrões, por apresentarem percursos mais reduzidos, são menos penetrantes e apresentam LET elevado [2].

Quando a radiação ionizante interage com o meio biológico, o efeito depende da quantidade de energia transferida, o que significa que o efeito biológico depende da LET. Quando o meio biológico é uma célula, a interação da radiação ionizante pode provocar lesões mais ou menos severas ou até mesmo conduzir à morte celular. Este tipo de ações, por sua vez, pode ocorrer através de dois mecanismos diferentes, sendo eles a ação direta e a ação indireta (Figura 2) [1], [2].

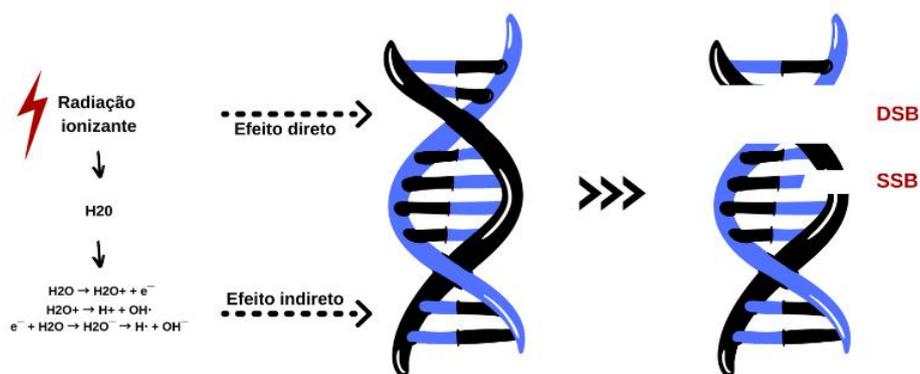
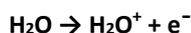


Figura 2- Efeitos biológicos da radiação ionizante. A radiação ionizante pode interagir de forma direta ou indireta com constituintes celulares críticos (neste caso, a molécula de DNA). Ambos os tipos de interações induzem o desenvolvimento de lesões na molécula de DNA, levando ao aparecimento de quebras numa só das cadeias do DNA (SSBs, do inglês “single-strand breaks”) e/ou de quebras nas duas cadeias do DNA (DSBs, do inglês “double-strand breaks”).

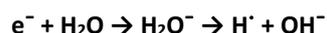
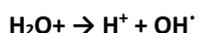
Entende-se por ação direta da radiação ionizante a interação direta com um determinado componente celular fundamental para o normal funcionamento da célula. Este tipo de ação é o mecanismo predominante quando as células interagem com radiação de elevado LET (partículas α , neutrões e protões). Adicionalmente, este tipo de ação da radiação ionizante está associada a efeitos para os quais se admite uma dose sem limiar (limiar zero), ou seja, que podem induzir efeitos na linha germinativa. Assim, as lesões provocadas pela ação direta da radiação ionizante podem ser transmitidas às futuras gerações celulares [1], [2].

Por outro lado, se a interação da radiação ionizante for com um constituinte celular não crítico, é possível induzir a produção de espécies reativas de oxigénio que, por sua vez, vão provocar lesões em estruturas celulares críticas. Este tipo de interação é designada de ação indireta da radiação ionizante. Esta ocorre através do processo de radiólise da água ou do efeito oxigénio [1], [2].

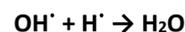
No processo da radiólise da água, a radiação ionizante ao interagir com a molécula de água (H_2O) induz a sua ionização, dando origem a iões cuja recombinação é bastante improvável:



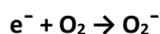
Por sua vez, estes iões irão induzir outras reações:



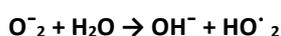
Os radicais OH^{\cdot} (radical hidroxilo livre) e H^{\cdot} (radical hidrogénio livre) são espécies radicalares extremamente reativas do ponto de vista químico, podendo reagir entre si ou desencadear reações de oxidação-redução noutras moléculas do meio, com formação de novas moléculas bastante instáveis e capazes de induzir lesões:



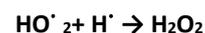
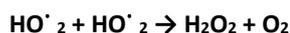
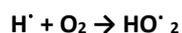
Paralelamente, a radiação ionizante também pode interagir indiretamente com as moléculas de oxigénio existentes no meio celular. De facto, o eletrão livre formado aquando do processo de radiólise da água, pode reagir com a molécula de oxigénio, originando uma molécula de oxigénio com um eletrão desemparelhado:



O O_2^- pode reagir com moléculas de água, induzindo, assim, a formação de novos iões e espécies radicalares bastante reativos:



Adicionalmente, o radical H^\cdot pode reagir com a molécula de oxigénio, dando origem a HO^\cdot_2 . Este, por sua vez, reage com outro HO^\cdot_2 ou com um radical H^\cdot , formando-se assim outras espécies radicalares quimicamente muito agressivas:



Na verdade, todas as espécies radicalares formadas podem agir como agentes oxidantes ou como agentes redutores ou então como indutores da formação de peróxidos, aquando da sua reação com a água. Todas elas, por sua vez, têm a capacidade de inativar mecanismos celulares ou de interagir com o DNA celular [2]. Estas espécies radicalares são capazes de provocar vários tipos de lesões no DNA, tais como SSBs, DSBs, troca de bases, ligações cruzadas com proteínas ou ligações cruzadas com outra molécula de DNA [3].

Quanto à origem da radiação ionizante, podem-se distinguir fontes de radiação naturais de fontes de radiação artificiais. A radiação natural é responsável por cerca de 80% da exposição da população mundial à radiação ionizante, incluindo a radiação terrestre, a radiação cósmica, o radão (gás radioativo decorrente do decaimento do urânio presente nas rochas e solos terrestres) e também a radiação presente nos alimentos e na água que ingerimos. Por outro lado, desde que a radiação foi descoberta, a sua aplicação nas áreas da medicina e indústria começaram a revelar-se bastante benéficas, o que impulsionou a produção de fontes de radiação artificiais. A radiação produzida artificialmente representa 20% da exposição da população global à radiação, sendo que, nos países mais desenvolvidos esta percentagem pode atingir valores bastante mais elevados. De facto, a radiação usada na medicina, seja em procedimentos imagiológicos de diagnóstico ou nas abordagens radioterapêuticas, representa a maior fonte de radiação artificial a que a população está sujeita (Figura 3) [4].



Figura 3 - Distribuição mundial da exposição à radiação ionizante. Retirado de “Radiation effects and Sources - UNEP”, 2016

1.2. Lesões no DNA e cancro

1.2.1. Exposição à radiação ionizante

A exposição à radiação ionizante, de origem médica, pode decorrer da realização de exames imagiológicos de diagnóstico (de medicina nuclear ou radiológicos), que fazem uso de baixas doses, ou dos diferentes tipos de abordagens radioterapêuticas que, por sua vez, administram elevadas doses, maioritariamente a doentes oncológicos.

Atualmente, as técnicas imagiológicas de diagnóstico que utilizam radiação ionizante constituem uma ferramenta essencial para o uso médico, visto que estão intimamente envolvidas na prevenção, diagnóstico, terapia e prognóstico de várias doenças. Segundo dados divulgados em Maio de 2020 pela *World Nuclear Association*, mais de 40 milhões de exames de diagnóstico de medicina nuclear são realizados, por ano, em todo o mundo. Ao longo dos anos, tem-se verificado que o número deste tipo de exames tem aumentado, estimando-se que, a cada ano, esse número aumenta cerca de 5%. Mais especificamente, nos Estados Unidos da América e na Europa, por ano, realizam-se mais de 20 milhões e cerca de 10 milhões de exames de diagnóstico de medicina nuclear, respetivamente [5]. Por outro lado, tendo em conta os exames de diagnóstico usados em Radiologia e segundo a *International Commission On Radiological Protection*, sabe-se que a tomografia computadorizada (CT, do inglês “*computer tomography*”) é responsável por mais de metade da exposição da população europeia à radiação ionizante de origem médica [6]. Em Portugal, o trabalho desenvolvido pela equipa de investigação do Instituto Politécnico de Coimbra demonstrou que existe uma grande prevalência de exames CT, constituindo estes exames cerca de 74% da dose coletiva total [7].

Em relação à radioterapia, uma das metodologias mais frequentemente usadas para tratar casos oncológicos (cerca de 60%), pode ser utilizada isoladamente ou em combinação com a quimioterapia e/ou cirurgia [8]. Adicionalmente, estimou-se que cerca de 7 milhões de doentes

oncológicos realizaram radioterapia no ano de 2012, comparativamente ao ano de 2002, que apresentou um valor de cerca de 6,1 milhões [9]. Embora a radioterapia seja uma ferramenta curativa e paliativa eficaz em muitos tumores, sabe-se que apresenta vários riscos associados a uma possível toxicidade. Os principais efeitos nocivos decorrentes da radioterapia incluem fadiga, náuseas associadas ou não a vômitos, edemas, alterações dermatológicas, queda de cabelo, disfunção neurológica, infertilidade e aumento do risco associado ao desenvolvimento de neoplasias secundárias. Porém, uma grande variedade de tumores apresentam resistência à radioterapia, o que limita a sua utilidade como uma modalidade de tratamento [10].

Como nos últimos anos se tem verificado um aumento significativo da incidência de novos casos de tumores malignos (cerca de 3% ao ano), é crucial garantir a justificação e a otimização dos protocolos de imagem médica e de radioterapia, tal como incluir informações sobre a exposição como parte do relatório dos exames médicos [8].

1.2.2. Lesões induzidas pela radiação ionizante e reparação do DNA

Como resultado dos efeitos adversos associados à exposição dos doentes à radiação ionizante, muitas têm sido as pesquisas realizadas com o objetivo de elucidar os mecanismos pelos quais este tipo de radiação induz lesões e morte celular. De facto, a radiação ionizante tem a capacidade de danificar as células através de vários mecanismos, sendo que o mecanismo principalmente envolvido no processo de carcinogénese é a lesão no DNA. Esta, como já foi mencionado, pode ocorrer devido ao efeito direto da radiação nas moléculas de DNA, sendo este efeito responsável por 30% a 40% das lesões, pela produção de espécies radicalares que, por sua vez, danificam o DNA, causando cerca de 60% a 70% dessas lesões [10]. A ocorrência dessas lesões nas cadeias do DNA, especialmente quando se formam DSBs, desencadeiam vias sofisticadas e altamente reguladas de resposta e reparação dos danos no DNA (DRR, do inglês “*DNA damage response*”). A DDR inclui cinco das principais vias de reparação do DNA: a reparação por excisão de base (BER, do inglês “*base excision repair*”), a reparação por excisão de nucleótido (NER, do inglês “*nucleotide excision repair*”), a reparação por *mismatch* (MMR, do inglês “*mismatch repair*”), a recombinação homóloga e a união de extremidade não-homóloga (NHEJ, do inglês “*non-homologous end joining*”) [11].

1.2.2.1. Regulação do ciclo celular

Para garantir a fidelidade de todos os processos que decorrem no ciclo celular, existem vias primorosamente reguladas, capazes de induzir a progressão ou a paragem do ciclo celular. Na verdade, existem três pontos de verificação durante o ciclo celular:

- no final da fase G1, para verificar se existem lesões no DNA, se a célula possui o tamanho correto e se a célula possui todos os nutrientes e fatores de crescimento necessários para prosseguir para a fase S, na qual ocorre a replicação do DNA;
- no final da fase G2, para analisar se existem lesões no DNA, se a célula possui o tamanho correto e se o processo de replicação do DNA ocorreu de forma correta, para que a célula possa progredir para a mitose;
- na transição da metáfase para a anáfase, para verificar se os cromátídeos alinhados no centro da célula estão todos ligados corretamente ao fuso acromático, de

maneira que, aquando da anáfase, cada célula-filha receba um desses cromatídeos [12].

No caso da célula não detetar erros no DNA, seja no ponto de verificação no final da fase G1 ou no ponto de verificação no final da fase G2, o ciclo celular progride. Se, por outro lado, a célula detetar erros num desses dois pontos de verificação, estas lesões irão ser avaliadas. No caso de serem reparáveis, serão corrigidos, o que permitirá à célula progredir para o processo de divisão mitótica. Caso seja impossível proceder à reparação dessas lesões, a célula sofrerá apoptose ou sobrevive acumulando lesões. A sobrevivência da célula decorre do comprometimento da sinalização da via apoptótica, o que desencadeia a propagação das lesões no DNA na forma de mutações (Figura 4). Os mecanismos específicos que coordenam e regulam todo este processo de verificação do ciclo celular foram e continuam a ser extensivamente estudados, sendo importante destacar o papel fundamental dos membros da família PI3-quinase, as proteínas ATM (do inglês “*Ataxia telangiectasia mutated*”), ATR (do inglês “*Ataxia Telangiectasia And Rad3-Related Protein*”) e DNA-PK (do inglês “*DNA protein kinase*”), para a correta ativação das vias de DDR aquando da existência de DSBs [10].

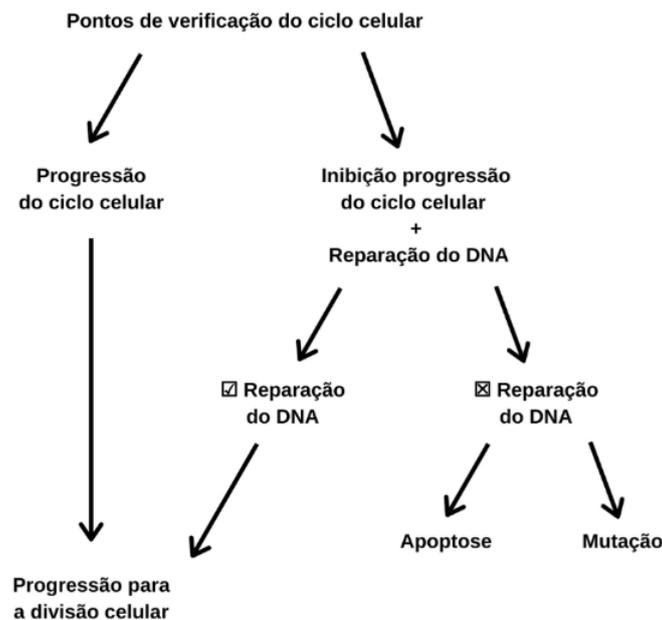


Figura 4 - Potenciais destinos de uma célula no decorrer do controlo do ciclo celular. Representação esquemática que descreve os possíveis comportamentos celulares determinados pelos elementos responsáveis pela verificação e controlo do ciclo celular, que incluem progressão, apoptose e desenvolvimento de mutações.

A via de sinalização mais bem caracterizada e que tem a capacidade de controlar a paragem do ciclo celular em G1 é a via P53-P21. A proteína cinase ATM fosforila a proteína P53 que, por sua vez, induz a ativação da proteína P21. Na sua forma ativa, esta proteína induz a progressão do ciclo celular, permitindo que a célula transite da fase G1 para a fase S. Por outro lado, a ATM tem a capacidade de fosforilar e de ativar Ku, um importante complexo dimérico (composto pelas proteínas Ku70 e Ku80) que se liga às extremidades das DSBs e que é necessário para a reparação das lesões no DNA através do mecanismo NHEJ. Assim, a DNA-PK é recrutada pelo heterodímero Ku para formar o complexo DNA-PK/Ku funcional, que, por sua vez, facilita o

acesso da enzima à extremidade do DNA para reparação via NHEJ. Além disso, o complexo DNA-PK/Ku tem a capacidade de regular o ponto de verificação do ciclo celular G1/S através da via dependente de P53 e de P21 (Figura 5) [10].

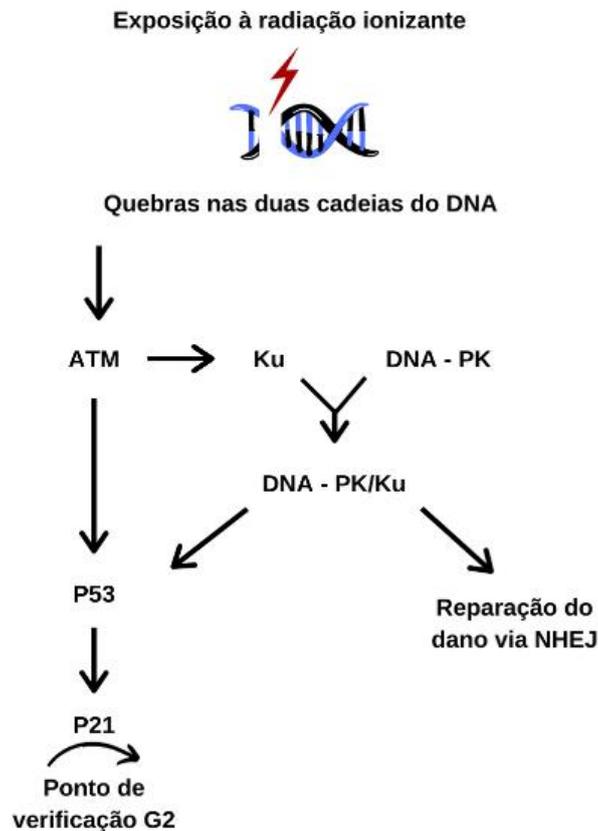


Figura 5 - Regulação da DDR pela proteína ATM quando da existência de lesões no DNA nas fases G1/S. Representação esquemática que descreve o controle do processo NHEJ através da atuação das DNA-PKs. Devido à existência de lesões no DNA, são ativadas as proteínas DNA-PK/Ku que, por sua vez, induzem a regulação positiva da reparação destas lesões através do mecanismo NHEJ e na inibição da progressão do ciclo celular no ponto de verificação no final da fase G1, via ativação da P53 e e da P21.

Uma via de resposta semelhante é verificada no ponto de verificação existente no final da fase G2. A ATR é uma proteína cinase específica de resíduos de serina/treonina, que é ativada pela presença de SSBs na molécula de DNA que, por sua vez, foram geradas a partir do desacoplamento da helicase e da DNA polimerase durante o garfo de replicação. Por outro lado, a proteína cinase ATM específica para resíduos de serina/treonina é ativada pela presença de DSBs no DNA. Quando estas lesões são detetadas, tanto a ATR como a ATM procedem à fosforilação e à consequente ativação de muitos transdutores e efetores que são responsáveis pela reparação ou pela sinalização apoptótica da célula em questão. Na verdade, a ativação da proteína CHEK1 (do inglês *"serine/threonine-protein kinase Chk1"*), pela cinase ATR, ou a ativação da proteína CHEK2 (do inglês *"serine/threonine-protein kinase Chk2"*), pela cinase ATM, inicia a paragem do ciclo celular no final da fase G2, que é conseguida através da inibição das fosfatases Cdc25 (do inglês *"cell division cycle 25"*). Por sua vez, a proteína BRCA1 (do inglês *"Breast cancer type 1 susceptibility protein"*) regula os vários pontos de verificação do ciclo celular e a reparação de DSBs através do mecanismo de recombinação homóloga. Enquanto que

a ATR ativa a BRCA1 através da fosforilação de múltiplos resíduos de serina, incluindo a Ser1423, a ATM ativa a BRCA1 através da fosforilação de outros resíduos de serina, tal como a Ser1423 e a Ser1526. Como tal, a ativação de ATM e de ATR decorrente da existência de lesões no DNA permite a indução do processo de reparação destas lesões através da recombinação homóloga e a inibição da progressão do ciclo celular (**Error! Reference source not found.**) [10].

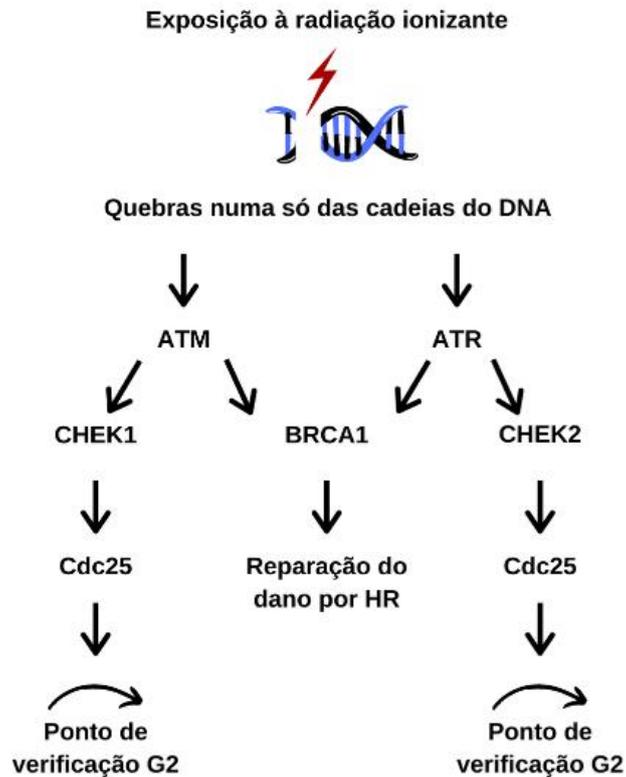


Figura 6 - Regulação da DDR pelas proteínas ATM e ATR quando da existência de lesões no DNA nas fases S/G2. Representação esquemática que descreve o controlo de CHEK1, CHEK2 e BRCA1 pelas cinases ATM e ATR. A fosforilação e subseqüente ativação destes efetores resultam no início da inibição da progressão do ciclo celular no ponto de verificação no final da fase G2 e na regulação positiva da reparação do DNA mediado por recombinação homóloga.

1.2.2.2. DSBs e mecanismos de reparação

Tal como foi supracitado, existem vários mecanismos pelos quais o DNA pode ser reparado. Na verdade, o caso específico da reparação das DSBs é de particular interesse, visto que este é o tipo de lesões mais comuns após exposição do DNA, de forma direta ou indireta, à radiação ionizante. A reparação errônea das DSBs pode levar a um rearranjo genómico, que, por sua vez, pode induzir instabilidade genómica, resistência a várias terapias e à carcinogénese. Como tal, a reparação eficiente das DSBs revela-se um fator crítico para a sobrevivência e para a manutenção da função celular, bem como para a prevenção da transformação destas células em células neoplásicas. Atualmente, está bem estabelecido que, em células de mamíferos, as DSBs são reparadas através de, pelo menos, duas vias distintas: a via de recombinação homóloga e a via NHEJ (Figura 7) [10],[13].

Recombinação homóloga

A recombinação homóloga é um processo crítico imprescindível à reparação precisa e eficaz das DSBs e para que a estabilidade genómica seja mantida. Este mecanismo está intimamente associado ao risco de desenvolvimento de cancro, especialmente porque compromete inúmeros genes associados ao aparecimento de múltiplas doenças hereditárias [13]. A recombinação homóloga permite a reparação das DSBs de uma forma muito mais eficaz quando comparada com a via NHEJ. De facto, este processo envolve a ressecção das extremidades danificadas do DNA através da atuação de nucleases, a polimerização de novas cadeias de DNA e, por último, a ligação destas cadeias para que se consiga restaurar a sua integridade. Esta via de reparação do DNA apenas opera nas fases S e G2 do ciclo celular, visto que, nestas fases, a disponibilidade de cromátídeos irmãos ainda é elevada, podendo estes ser usados como modelos de reparação [10].

Uma das proteínas mais importantes na via de recombinação homóloga é a BRCA1, uma importante proteína supressora tumoral. Um dos muitos papéis da BRCA1 é ligar e regular o complexo Mre11-Rad50-NBS1 (MRN) que, por sua vez, se liga às extremidades do DNA danificado, recrutando nucleases para que se removam as bases danificadas e para que se possa dar início ao processo de recombinação homóloga. A ligação deste complexo às extremidades do DNA também ativa a proteína ATM que, subsequentemente, fosforila e ativa a função da proteína BRCA1 na ativação dos pontos de verificação do ciclo celular [10]. A iniciação eficiente da ressecção de “curto alcance” executada pela endonuclease Mre11 requer interação com a proteína CtBP (do inglês “*CtBP-interacting protein*”), sendo posteriormente estimulada pela proteína que está a bloquear a extremidade do DNA, tal como o heterodímero Ku70/Ku80, a proteína de replicação A (RPA, do inglês “*replication protein A*”) ou os nucleossomas. Esta etapa de processamento inicial é importante para que se consiga deslocar Ku70 e Ku80 das extremidades do DNA, fornecendo também um ponto de entrada para os fatores que sejam necessários para procederem à ressecção de “longo alcance”. Esta última etapa é mediada pela exonuclease 1 (EXO1), pela endonuclease DNA2 e pela helicase síndrome de Bloom (BLM, do inglês “*Bloom syndrome helicase*”), que têm a capacidade de mediar a separação e a digestão nucleolítica da cadeia 5’ da extremidade do DNA para formar uma longa cadeia simples 3’ de DNA. Outros reguladores de ressecção da extremidade do DNA, tanto positivos quanto negativos, são já conhecidos, tal como a proteína BRCA1. Esta, em conjunto com a proteína BARD1 (do inglês “*BRCA1-associated RING domain 1*”), interage com as proteínas CtIP (do inglês “*C-terminal interacting protein*”) e com o complexo MRN de maneira a auxiliar na ressecção final do DNA, bem como em estágios posteriores da recombinação homóloga. Após a ressecção de todos os filamentos danificados, começa a sinapse, que se define como o processo de invasão da cadeia de DNA a ser reparada pelo seu molde de reparação, e que resulta numa estrutura chamada de D-loop. Seguidamente, ocorre a síntese desta região para que se consiga reestabelecer a informação ali presente, destacando-se 4 caminhos possíveis para que este processo aconteça: a via da síntese dependente de anelamento da cadeia (SDSA, do inglês “*synthesis-dependent strand annealing*”), a formação da junção dupla de Holliday (em células meióticas), a replicação induzida por quebra (BIR, do inglês “*break induced replication*”) e a conversão génica de trato longo (LTGC, do inglês “*long-tract gene conversion*”) [13].

Via NHEJ

Em contraste com o mecanismo de recombinação homóloga, a via NHEJ repara uma ampla variedade de DSBs que apresentam estruturas e sequências de ruturas distintas, funcionando predominantemente durante a fase G1 quando a via de recombinação homóloga não se encontra disponível. Este tipo de reparação é regulado principalmente pela ação do complexo DNA-PKcs/Ku. No entanto, quando comparado com o mecanismo de recombinação homóloga, a via NHEJ verifica-se menos eficiente na reparação das DSBs, visto que usa poucos ou nenhuns modelos homólogos para garantir que a cadeia reparada reflita a sequência de DNA original. Semelhante ao processo de recombinação homóloga, o mecanismo NHEJ envolve um mecanismo de eliminação das bases danificadas, repolimerização/reparação das cadeias de DNA e a ligação destas novas cadeias [10].

Após a identificação de uma DSB pela célula, as proteínas Ku70 e Ku80 ligam-se aos pontos de rutura das cadeias de DNA, formando, desta maneira, o heterodímero Ku que, subsequentemente, é responsável pelo recrutamento de outras proteínas necessárias para que a lesão seja reparada. Assim, as cinases DNA-PKs, as DNA ligases IV (LIG4), as proteínas XRCC4 (do inglês "*X-ray repair cross-complementing protein 4*"), as XLF (do inglês "*XRCC4 like-factor*") e as PAXX (do inglês "*PAXX non-homologous end joining factor*") são recrutadas para o local lesado. Numa primeira fase, forma-se o complexo Ku/DNA-PKs, sendo este responsável pelo estabelecimento da sinapse de "longo alcance". Posteriormente, as duas extremidades do DNA são alinhadas através de um processo que requer as proteínas XLF, XRCC4, LIG4 e a atividade cinase desempenhada pelas DNA-PKcs. Por último, a união das 2 extremidades das cadeias simples de DNA é desempenhada pela nuclease *Artemis*, pelas DNA polimerases especializadas λ e μ e por outras enzimas importantes [10],[13].

1.2.2.3. Lesões no DNA e apoptose

A apoptose é uma forma de morte celular programada que resulta da remoção ordenada e eficiente das células que se encontram danificadas. Esta induz uma série de mudanças bioquímicas e morfológicas distintas, tais como a ativação de proteases endógenas, a condensação celular, a perda das especializações de membrana, o desenvolvimento de vesículas na superfície da membrana celular, a condensação da cromatina, a degradação oligonucleossómica do DNA através da ativação de endonucleases e a fragmentação da célula em "corpos apoptóticos" (sendo posteriormente fagocitados por macrófagos, sem que a resposta inflamatória seja induzida). Assim, conclui-se que a apoptose é um mecanismo muito importante para a manutenção da homeostasia celular, visto que regula o número de células presente no nosso organismo. Adicionalmente, esta via também possui um papel crucial na defesa celular, pois é através da apoptose que as células mutadas e potencialmente perigosas, tal como os linfócitos auto-reativos, as células infetadas por vírus ou as células tumorais, são eliminadas [14].

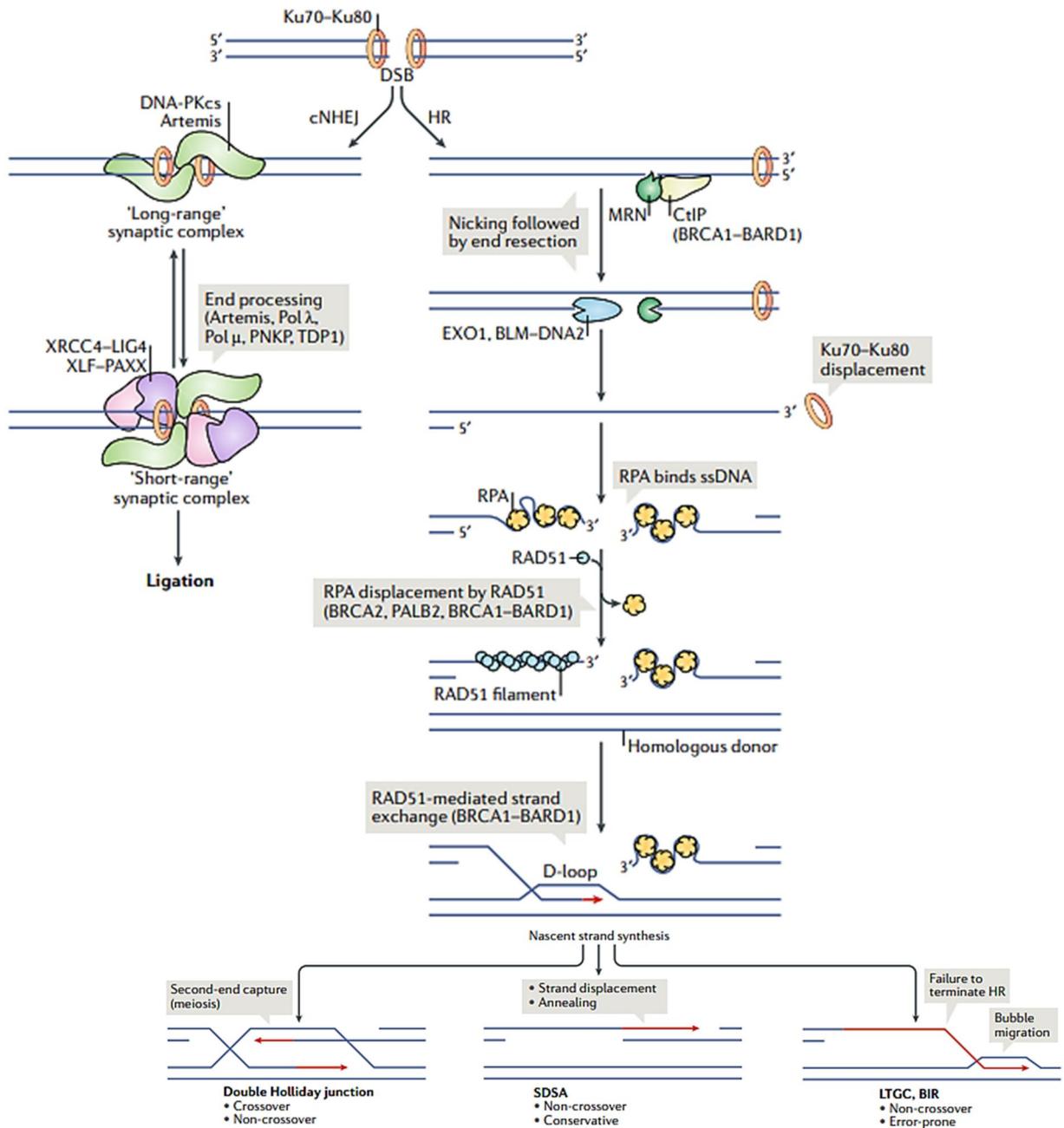


Figura 7 - Mecanismos de reparação de DSBs. HR: Reparação através do mecanismo de recombinação homóloga. O complexo MRE11-RAD50-NBS1 (MRN) reconhece e deteta a existência de DSBs. Este complexo ativa a cinase ATM, que, por sua vez, inicia a resposta a lesões no DNA, particularmente nas regiões de heterocromatina dos cromossomas. A atividade das nucleases EXO1, DNA2 e BLM, mediada por CtIP, é necessária para a resseção de "curto alcance", o que leva à formação de novas cadeias simples de DNA através da estimulação destas enzimas pelas proteínas que estão a bloquear as extremidades do DNA (heterodímero Ku, RPA ou nucleossomas). Desta maneira, Ku70 e Ku80 são deslocados das extremidades do DNA, o que estimula o início da resseção de "longo alcance". O complexo formado pelas RPA liga-se às cadeias simples do DNA, devendo ser deslocado por "mediadores" de recombinação para permitir a formação de um filamento de nucleoproteína RAD51. Após a formação da região D-loop, inicia-se a sinapse. Esta pode ocorrer através de 4 vias: formação da dupla junção de Holliday (células meióticas), a SDSA (via predominante em células somáticas), a BIR e a LTGC. Setas vermelhas indicam cadeias de DNA recém-sintetizadas. cNHEJ: Reparação via NHEJ. As 2 extremidades quebradas são processadas e ligadas diretamente através da ação do complexo de ligação Ku (Ku70 + Ku80)/ DNA-PKcs seguido da atuação da ligase XRCC4, LIG4, XLF e PAXX. O processamento final é levado a cabo pela nuclease Artemis e pelas DNA polimerases λ e μ . Retirado de "DNA double-strand break repair-pathway choice in somatic mammalian cells", 2019

Lesões no DNA e indução do processo de carcinogénese

O cancro é uma doença complexa que é mediada por inúmeras vias moleculares e celulares. Assim, tal como foi discutido acima, se as DSBs não puderem ser corrigidas e se a sinalização apoptótica da célula estiver comprometida, esta não irá sofrer morte apoptótica. Como consequência, as células permanecerão mutadas, podendo induzir o processo de carcinogénese [15]. Este processo, de uma forma geral, decorre do aparecimento de mutações em genes críticos que, subsequentemente, levam à alteração da expressão das suas proteínas. Em conjunto, estas proteínas mutadas induzem a transformação de uma célula normal numa célula cancerígena. A sinalização celular alterada induz o aumento da proliferação celular e/ou a diminuição da apoptose, de forma que as células se expandem clonalmente e levam ao desenvolvimento de tumores. À medida que a neoplasia cresce, várias são as mudanças que são verificadas no metabolismo das células, tais como o aumento da utilização de diferentes substratos para obtenção de energia necessária para o desenvolvimento do tumor e a privação de nutrientes essenciais para que as células circundantes se mantenham saudáveis. Aquando da formação de um tumor, novos vasos sanguíneos poderão formar-se (angiogénese), numa tentativa de resolver as condições de hipóxia. Desta maneira, o processo de angiogénese vai permitir que exista um maior fornecimento de oxigénio ao tumor, tendo ele condições para se continuar a desenvolver. Este processo é mediado por vários fatores de crescimento, tal como o fator de crescimento endotelial VEGF (do inglês “*vascular endothelial growth factor*”). À medida que o tumor continua a proliferar e a replicar diferentes mutações, torna-se mais agressivo e pode migrar e invadir, levando ao aparecimento de metástases à distância [16].

Alterações nas vias DDR promovem etapas críticas na etiologia da carcinogénese (Figura 8). Uma célula saudável possui uma infinidade de processos DDR que, por sua vez, têm a capacidade de proteger o seu DNA de agentes nocivos, sejam esses exógenos ou endógenos, como é a radiação ionizante. No entanto, estes processos não funcionam sempre de maneira correta, o que leva ao desenvolvimento de uma ou mais mudanças mutacionais nestas células. Estas alterações podem resultar na ativação de oncogenes, de forma direta ou indireta, o que leva ao surgimento de stresse replicativo e/ou oxidativo. A predisposição genética para o desenvolvimento de cancro pode surgir quando os mecanismos subjacentes à reparação das lesões no DNA se encontram comprometidos. No entanto, embora o stresse replicativo desencadeie o aumento dos número de ruturas, mutações ou rearranjos no DNA, continuam a existir uma série de respostas que poderão prevenir a proliferação dessas células pré-cancerígenas. Um exemplo, é a recuperação eficaz do processo de replicação, a ativação do controlo do ciclo celular através do correto funcionamento dos pontos de verificação ou a partir de outras respostas dependentes do correto funcionamento da proteína P53. A progressão deste estado pré-cancerígeno para um estado onde se verifica uma proliferação contínua requer a regulação negativa desses processos DDR, o que gera instabilidade genómica. Posto isto, nessas condições, as células pré-cancerígenas irão dar origem a células cancerígenas, levando à formação de um tumor [17], [18].

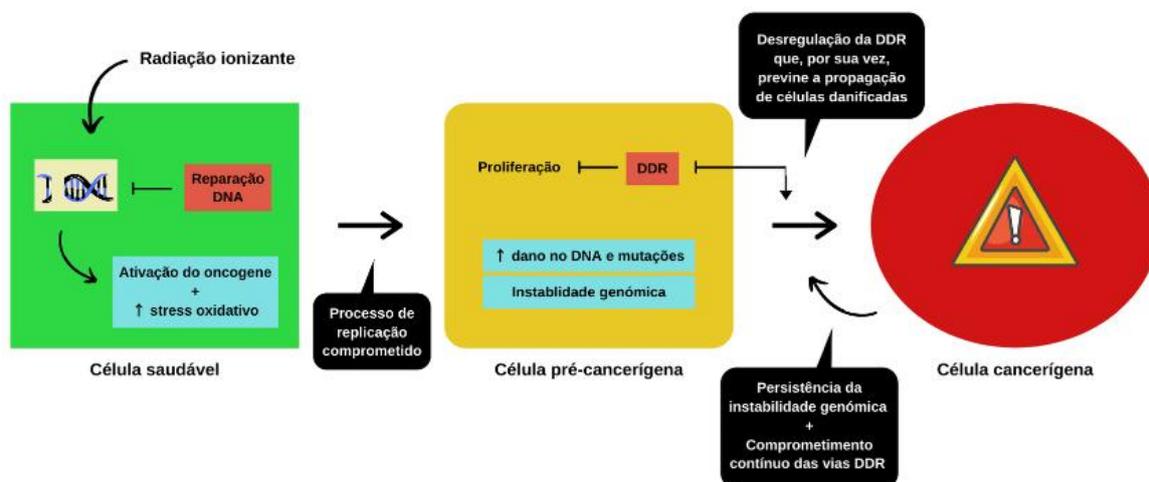


Figura 8 - Papel das vias DDR na indução da carcinogênese. A figura mostra como as mudanças nas vias de resposta às lesões no DNA (DDR) promovem etapas críticas no processo de carcinogênese. Legenda: "↑"significa aumento e "T"significa inibição.

Posto isto, como consequência da existência de inúmeros e distintos polimorfismos genéticos nos genes envolvidos no processo de reparação do DNA, constatou-se que a eficácia das reparações dessas lesões varia bastante entre a população. De facto, a reparação defeituosa do DNA representa a principal causa associada ao desenvolvimento de determinadas doenças hereditárias, tais como a ataxia telangiectasia (A-T), a síndrome de rutura de Nijmegen, a síndrome "tipo ataxia-telangiectasia" (ATLD, do inglês "ataxia-telangiectasia-like disorder"), a anemia de Fanconi (FA, do inglês "Fanconi anemia"), a síndrome hereditária do cancro da mama e do ovário (HBOC, do inglês "Hereditary Breast and Ovarian Cancer syndrome") e a síndrome de Li-Fraumeni (LFS, do inglês "Li-Fraumeni syndrome"). Todas elas estão intimamente relacionadas com o desenvolvimento de vários tipos de tumores [15].

2. Objetivos

Como já foi supracitado, inúmeras são as situações em que a população geral pode estar exposta a diferentes doses de radiação ionizante. Esta exposição pode ocorrer de forma natural ou artificial, sendo que a radiação produzida artificialmente e que é usada para fins médicos, seja em procedimentos imagiológicos de diagnóstico ou nas abordagens radioterapêuticas, representa a maior fonte deste tipo de radiação, cerca de 20% da exposição da população global à radiação [4]. De facto, o número de exames imagiológicos de diagnóstico realizados ao longo dos anos tem aumentando bastante, tal como o número de doentes oncológicos que é submetido a radioterapia neoadjuvante ou adjuvante [6], [8].

Visto que uma série de estudos epidemiológicos retrospectivos demonstraram que indivíduos com determinadas síndromes hereditárias do cancro, nomeadamente a síndrome hereditária do cancro da mama e do ovário, a síndrome de Li-Fraumeni, a anemia de Fanconi e a ataxia telangiectasia, apresentam uma radiosensibilidade superior à dos indivíduos não portadores, é urgente que se clarifiquem os efeitos da radiação ionizante naqueles doentes. Assim, o principal objetivo desta dissertação é rever o conhecimento atual acerca dos efeitos adversos da radiação ionizante em indivíduos diagnosticados com estas 4 síndromes hereditárias que, por sua vez, decorrem da reparação defeituosa de lesões no DNA.

Posto isto, neste projeto, encontram-se relatados os possíveis efeitos decorrentes da exposição a baixas e a altas doses de radiação ionizante, em indivíduos identificados com mutações nos genes *BRCA1/2* e que foram diagnosticados com síndrome hereditária do cancro da mama e do ovário, tal como os efeitos colaterais que surgiram após a administração de elevadas doses de radiação ionizante em indivíduos diagnosticados com síndrome de Li-Fraumeni, anemia de Fanconi e ataxia telangiectasia. Estes efeitos, no geral, poderão incluir estimativas dos riscos relativos destes indivíduos desenvolverem um determinado tipo de tumor, após a realização de exames de vigilância/diagnóstico ou da realização de radioterapia adjuvante ou neoadjuvante, lesões a curto-prazo e lesões a longo-prazo.

3. Síndromes Hereditárias

3.1. Síndrome hereditária do cancro da mama e ovário

3.1.1. História/conceito básico

A síndrome hereditária do cancro da mama e do ovário (HBOC, do inglês “*Hereditary Breast and Ovarian Cancer syndrome*”) é um distúrbio genético de cariz autossómico dominante, pelo que existe 50% de probabilidade de transmitir esta síndrome à geração seguinte. Esta síndrome é responsável por uma percentagem significativa de todos os casos de cancro da mama, em ambos os sexos, e de cancro do ovário, incluindo o cancro epitelial do ovário, o cancro da trompa de Falópio e o tumor peritoneal primário. Adicionalmente, sabe-se que outros tipos de tumores, tais como o cancro do pâncreas, o cancro da próstata, o melanoma maligno e o cancro colorretal também estão frequentemente associados a indivíduos diagnosticados com HBOC [19], [20]. Segundo a literatura, a causa mais frequentemente associada ao desenvolvimento desta síndrome é a existência de mutações nos genes supressores tumorais *BRCA1* (do inglês “*BRCA1 DNA repair associated*”) e *BRCA2* (do inglês “*BRCA2 DNA repair associated*”) [19]. Adicionalmente, também a presença de mutações nos genes *PTEN* (do inglês “*phosphatase and tensin homolog*”), *ATM* (do inglês “*ATM serine/threonine kinase*”), *CDH1* (do inglês “*cadherin 1*”), *CHEK2* (do inglês “*checkpoint kinase 1*”), *PALB2* (do inglês “*partner and localizer of BRCA2*”), *STK11* (do inglês “*Serine/Threonine Kinase 11*”), *TP53* (do inglês “*tumor protein TP53*”), *MLH1* (do inglês “*mutL homolog 1*”), *MSH2* (do inglês “*mutS homolog 2*”), *RAD51C* (do inglês “*RAD51 paralog C*”), *RAD51D* (do inglês “*RAD51 paralog D*”) e *BRIP1* (do inglês “*BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1*”) estão relacionadas com o aparecimento e consequente desenvolvimento desta síndrome hereditária (Tabela 1) [19], [21], [22]. Mais especificamente, percebeu-se que os genes *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *ATM*, *CDH1*, *CHEK2*, *PALB2*, *STK11* e *TP53* estavam na base de inúmeros casos diagnosticados de cancros da mama, sendo, por isso, responsáveis pelo aumento, de moderado a elevado, do risco associado ao desenvolvimento deste tipo de tumor. Por outro lado, a presença de mutações nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2*, *RAD51C*, *RAD51D* e *BRIP1* também foi associada a muitos casos de cancros ováricos familiares [19], [21], [22].

Tabela 1 - Mutações genéticas associadas à HBOC - Genes envolvidos, risco de desenvolvimento de cancro da mama, de cancro do ovário e de outros tumores.

Gene	Risco elevado de desenvolver cancro da mama	Risco elevado de desenvolver cancro do ovário	Risco de desenvolver outros tumores
<i>ATM</i>	✓	✗	Evidências insuficientes
<i>BRCA1</i>	✓	✓	Próstata
<i>BRCA2</i>	✓	✓	Melanoma, pâncreas, próstata
<i>BRIP1</i>	✗	✓	Evidências insuficientes
<i>CDH1</i>	✓	✗	Estômago
<i>CHEK2</i>	✓	✗	Cólon
<i>MSH2</i> , <i>MLH1</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i> e <i>EPCAM</i> (síndrome de Lynch)	Evidências insuficientes	✓	Cólon, útero, pélvis renal, intestino delgado, etc.
<i>PALB2</i>	✓	✗	Desconhecido
<i>PTEN</i>	✓	✗	Síndrome de Cowden
<i>RAD51C</i>	✗	✓	Desconhecido
<i>RAD51D</i>	✗	✓	Desconhecido

STK11	✓	✓ (tumor dos cordões sexuais do ovário)	Síndrome de Peutz-Jehger
TP53	✓	X	Síndrome de Li-Fraumeni

Na verdade, foi durante o século XIX que o cancro hereditário, em particular o da mama, começou a suscitar curiosidade entre a comunidade médica, devido ao aparecimento de inúmeros casos de cancro da mama associados à mesma família. Esta constatação permitiu concluir que o tumor mamário poderia ser transmitido de geração em geração e que familiares de doentes diagnosticados com este tipo de cancro apresentavam um risco mais elevado de desenvolver a doença. Contudo, as razões responsáveis por este fenómeno permaneciam desconhecidas. Foi *Pierre Broca* [23], um médico anatomista e antropólogo, que relatou pela primeira vez, em 1866, após o estudo da sua família, a predisposição hereditária para desenvolver cancro da mama e a constatação de que este aparecia numa idade inferior à média. Desde a descoberta deste padrão, tanto os médicos como os próprios doentes, começaram a entender que era fulcral que se comesçassem a desenvolver métodos específicos e fidedignos para prever o risco de cancro da mama para todos os membros destas famílias. No entanto, foi apenas em 1971 que o médico e geneticista americano *Alfred Knudson* [24] propôs, pela primeira vez, o conceito da hipótese genética dos “dois hits”. Este modelo, de uma maneira sucinta, permitiu concluir que a perda de uma determinada função de um gene, e não apenas a ativação de um gene causador de cancro, poderia originar o desenvolvimento de um tumor maligno. Na verdade, este modelo inovador foi a chave para a compreensão do cancro hereditário, sendo também fundamental para o estabelecimento do papel crucial desempenhado pelos genes supressores tumorais. Mais tarde, por volta da década de noventa, dois importantes genes envolvidos na reparação do DNA foram finalmente associados à HBOC. Estes designam-se de genes *BRCA1* e *BRCA2* e permitiram a descoberta e o desenvolvimento de um teste genético preditivo [21], [25], [26].

3.1.2. Predisposição genética

Na base da suscetibilidade à HBOC estão genes que codificam proteínas supressoras tumorais que, por sua vez, têm um papel fulcral na estabilidade do genoma, maioritariamente ao nível da recombinação homóloga. Os genes supressores tumorais *BRCA1/2* foram identificados como aqueles que são responsáveis pela maioria dos indivíduos diagnosticados com HBOC, representando cerca de 25% destes casos [19].

Genes com um elevado risco de sofrerem mutações

Genes *BRCA1/2*

Dados apresentados por *Jarhelle et al.*, em 2019, demonstraram a existência de mais de 3000 variantes mutagénicas distintas associadas ao gene *BRCA1* e, cerca de 3400 variantes referentes ao gene *BRCA2*, tendo estas sido identificadas como variantes patogénicas ou como provavelmente patogénicas [22]. Estes dados justificam o facto de os portadores de mutações

nos genes *BRCA1/2* apresentarem uma elevada variabilidade interindividual, no que diz respeito ao risco de desenvolverem um determinado tipo de cancro. Esta variabilidade depende de dois importantes fatores: a idade inicial associada ao aparecimento da doença e a localização específica do tumor [27]. Além disso, também o grau do risco de desenvolvimento de cancro da mama ou do ovário depende da localização e do tipo da mutação em causa, assim como da existência de polimorfismos de nucleótido único, da etnia e dos fatores ambientais a que o indivíduo está sujeito [28].

Em Portugal, trabalho realizado pelos Institutos Português de Oncologia de Coimbra (IPOC) e do Porto (IPOP) e pela EVITA - Associação de Apoio a Portadores de Alterações nos Genes Relacionados com Cancro Hereditário, no âmbito do projeto nacional BRCA2P "Caracterização nacional da mutação fundadora Portuguesa do gene BRCA2", comprovou que existe uma mutação fundadora portuguesa associada ao gene *BRCA2*, a c.156_157insAlu. Esta mutação é responsável por aproximadamente 38% de todas as mutações deletérias da linha germinativa, encontradas nas famílias portuguesas, previamente diagnosticadas com HBOC [29].

▪ ***BRCA1***

O gene *BRCA1* trata-se de um gene supressor tumoral que se localiza na região 21.31 do braço longo do cromossoma 17 (17q21.31). Este gene é responsável pela codificação e respetiva síntese da fosfoproteína nuclear BRCA1 (composta por 1863 aminoácidos) que, por sua vez, desempenha um papel fundamental na manutenção da estabilidade do genoma, atuando também como proteína supressora tumoral. Esta proteína (Figura 9) é constituída por dois terminais, o terminal amino (N-terminal) e o terminal carboxil (C-terminal).

Na região N-terminal podemos destacar a presença de um importante domínio rico em cisteínas, designado de domínio RING (do inglês "*Really Interesting New Gene finger domain*"), descrito como um domínio imprescindível na via de ubiquitinação. De facto, uma das enzimas com maior importância nesta via, a ubiquitina-ligase E3, é responsável pela mediação específica da formação de cadeias de polubiquitina ligadas a 'Lys-6', desempenhando um papel central na reparação do DNA e facilitando as respostas celulares a estas lesões. De facto, esta vê a sua atividade aumentada aquando da formação do heterodímero BRCA1-BARD1, o que permite inferir que este heterodímero possuiu um papel crucial na manutenção da estabilidade genómica e no controlo da via de supressão tumoral. Assim, pode concluir-se que a atividade desta enzima é fulcral para que a proteína BRCA1 consiga exercer corretamente a sua função de supressão tumoral [30].

Na região central da proteína BRCA1 destaca-se a existência de um local específico para a fosforilação da proteína CHEK2 (posição S988). O processo de fosforilação que se desencadeia nesta posição é crucial para que a proteína BRCA1 consiga recrutar a proteína RAD51 para os locais onde existem lesões no DNA [30].

Por outro lado, na região C-terminal, pode-se destacar a existência do domínio BRCT (do inglês "*BRCA1 C-terminal domain*"), que tem a capacidade de se ligar a proteínas fosforiladas, nomeadamente ABRAXAS fosforiladas pela proteína ATM, proteínas CtIP e proteínas BRIP1 [30], [31]. A ABRAXAS, ao nível do complexo BRCA1- ABRAXAS, parece ser uma proteína adaptadora central, visto que interage com vários domínios necessários para que as interações com a proteína BRCA1 e outros componentes do complexo ocorram. Devido ao seu papel fundamental, sabe-se que este complexo está na base do recrutamento da proteína BRCA1 para os locais onde

existem lesões no DNA. O complexo BRCA1-BRIP1, por sua vez, está associado à reparação do DNA durante a fase de replicação. O complexo BRCA1-CtIP promove a ativação das proteínas ATM e ATR, o processo de recombinação homóloga através da sua interação com o complexo MRN (composto pelas proteínas MRE11, RAD50 e NBS1) e o processo de reparação de DSBs. A região central de BRCA1, que contém o SCD, é fosforilada pela proteína ATM. Esta fosforilação é importante na ativação do *checkpoint* G2/M mediada por BRCA1 e na ativação do *checkpoint* da fase S, uma vez que a expressão de BRCA1 mutada carece de três dos locais de fosforilação (S1387, S1423 e S1524). Para além do domínio BRCT, o C-terminal possui outros dois: um domínio *coiled-coil*, que se associa à proteína PALB2 e à proteína BRCA2 (do inglês “*Breast cancer type 2 susceptibility protein*”), tendo um papel importante na reparação de DSBs via recombinação homóloga; e um domínio SCD que contém dez locais de fosforilação destinados à proteína ATM e que abrange os resíduos de aminoácidos 1280 a 1524 [30].

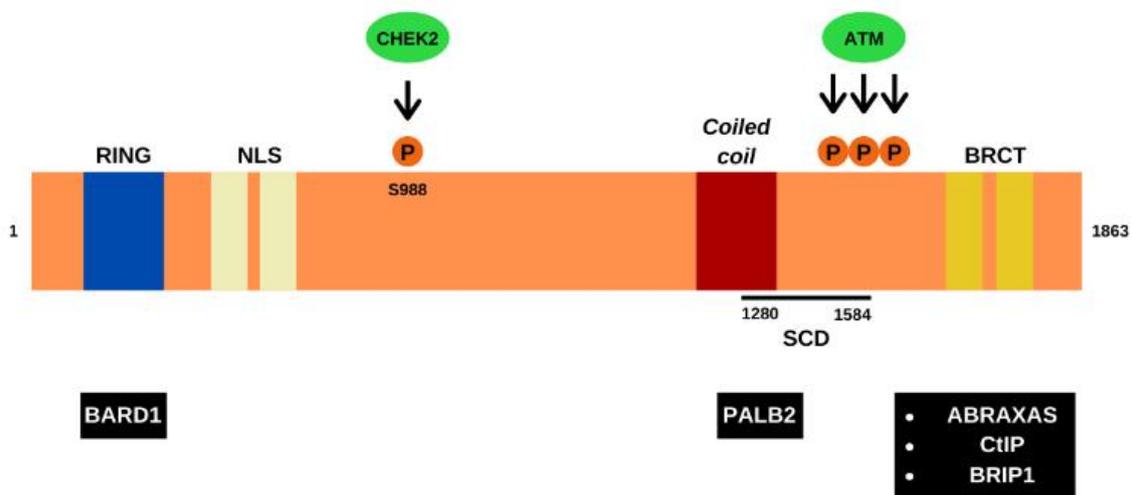


Figura 9 - Domínios funcionais da proteína BRCA1. O N-terminal da proteína BRCA1 contém um domínio RING que se associa à proteína BARD1 e a uma sequência de localização nuclear. A região central de BRCA1 contém um local de fosforilação para a proteína CHEK2 (S988). O C-terminal de BRCA1 contém: um domínio coiled-coil que se associa à proteína PALB2; um domínio SCD que contém cerca de dez locais potenciais de fosforilação destinados à proteína ATM e que abrange os resíduos de aminoácidos 1280–1524; e um domínio BRCT que liga ABRAXAS fosforiladas pela proteína ATM, proteínas CtIP e proteínas BRIP1. O complexo BRCA1-ABRAXAS está associado ao recrutamento de BRCA1 para locais de lesão do DNA. O complexo BRCA1-BRIP1 está associado à reparação do DNA durante a fase de replicação. O complexo BRCA1-CtIP promove a ativação das proteínas ATM e ATR, o processo de recombinação homóloga por associação ao complexo MRN (composto pelas proteínas MRE11, RAD50 e NBS1) e o processo de reparação de DSBs. A região central de BRCA1, que contém o SCD, é fosforilada pela proteína ATM. Esta fosforilação é importante na ativação do *checkpoint* G2/M mediada por BRCA1 e na ativação do *checkpoint* correspondente à fase S, uma vez que a expressão de uma proteína BRCA1 mutada carece de três dos locais de fosforilação (S1387, S1423 e S1524).

Pela descrição, percebemos que a BRCA1 se inter-relaciona com uma série de outros supressores tumorais, sensores que detetam lesões no DNA e com vários transdutores de sinal, constituindo-se um grande complexo de proteínas com várias subunidades. Este é conhecido como complexo de vigilância do genoma associado ao gene *BRCA1* (BASC, do inglês “*BRCA1-associated genome surveillance complex*”). Este complexo associa-se à RNA polimerase II e, através do domínio C-terminal, consegue interagir com as desacetilases das histonas, enzimas bastante importantes aquando da transcrição do DNA. Desta forma, conclui-se que a proteína

BRCA1, através dos seus domínios funcionais, estabelece interações com várias proteínas supressoras tumorais, proteínas responsáveis pela reparação do DNA e com elementos reguladores do ciclo celular. Este conjunto de características mostra-nos o papel preponderante nas várias vias de reparação do DNA e no controlo do ciclo celular [30], [31]. Outros dados sugerem, também, que a proteína BRCA1 é capaz de regular a atividade de outros genes, tendo um papel importante no desenvolvimento embrionário [32].

As várias mutações identificadas no gene *BRCA1* foram encontradas nos domínios RING e BRCT, indicando que ambos os domínios estão envolvidos no desenvolvimento de cancro da mama e do ovário [30], [33].

▪ **BRCA2**

O gene *BRCA2* é um gene supressor tumoral que se localiza na região 13.1 do braço longo do cromossoma 13 (13q13.1). Este gene é responsável pela codificação da proteína BRCA2, composta por 3418 aminoácidos, que, por sua vez, atua como proteína supressora tumoral, principalmente a nível do processo de recombinação homóloga. Esta proteína (Figura 10), tal como a BRCA1, também é composta por dois terminais, o N-terminal e o C-terminal [30], [31].

Na região N-terminal destacam-se 19 aminoácidos (21-39) cruciais para que exista uma interligação entre a proteína BRCA2 e a proteína PALB2, sendo esta responsável pelo auxílio das proteínas BRCA1/2 na reparação do DNA através da especificação da localização nuclear de uma determinada lesão celular [30].

A região central da proteína BRCA2 é constituída por dois importantes domínios: um que contém oito repetições BRC, localizadas entre os resíduos de aminoácidos 1009-2083, que são responsáveis pela associação da BRCA2 à proteína RAD51; e por um domínio de ligação ao DNA (DBD, do inglês "*DNA-binding domain*"), responsável pela ligação da proteína BRCA2 a uma e às duas cadeias do DNA e também à proteína DSS1 (do inglês "*Deleted in Split-hand/Split-foot malformation 1*"). Este último domínio é constituído por três componentes distintos: um domínio α -helicoidal constituído por 190 aminoácidos, responsável pela associação da BRCA2 à proteína DSS1 (papel crucial na estabilização da proteína BRCA2 [34]); três "dobras" de ligação para oligonucleotídeos (OB), responsáveis pela ligação da BRCA2 às cadeias simples do DNA; e um domínio torre (TD), que desempenha um papel fundamental na ligação da BRCA2 às cadeias duplas do DNA [30].

Por último, na região C-terminal, existe um domínio composto por uma sequência de localização nuclear (NLS, do inglês "*nuclear localization sequence*") e por um local de fosforilação de cinases dependente de ciclina que é responsável pela ligação da proteína BRCA2 à recombinase RAD51. É importante referir que esta proteína se encontra envolvida no processo de reparação do DNA e que a sua correta atividade é necessária para que a proteína BRCA2 consiga exercer corretamente a sua função de supressora tumoral [30],[31].

De facto, muitos têm sido os casos de HBOC associados à presença de mutações nas repetições BRC. Desta forma, é facilmente entendido que as interações da BRCA2 com a RAD51 são cruciais para que estas não se desenvolvam [30],[35].

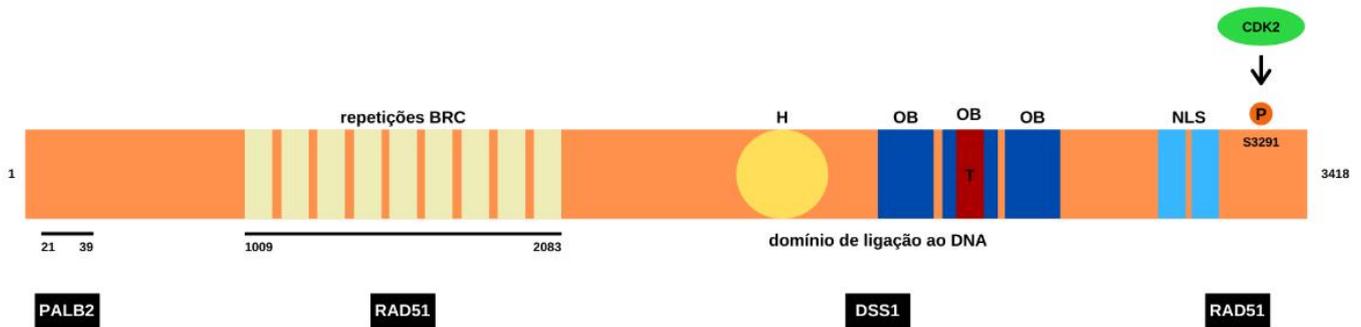


Figura 10 - Domínios funcionais da proteína BRCA2. O N-terminal da proteína BRCA2 liga-se à proteína PALB2 através dos aminoácidos 21-39. A BRCA2 contém oito repetições BRC entre os resíduos de aminoácidos 1009 e 2083 que, por sua vez, se ligam à proteína RAD51. O domínio de ligação ao DNA da proteína BRCA2 contém um domínio helicoidal (H), três “dobras” de ligação para oligonucleotídeos (OB) e um domínio torre (T) que pode facilitar a ligação da BRCA2 às cadeias simples e duplas do DNA. Esta região também se associa à proteína DSS1 (do inglês “Deleted in Split-hand/Split-foot malformation 1”). O C-terminal da BRCA2 contém uma sequência de localização nuclear e um local de fosforilação de cinases dependente de ciclina (CDK) em S3291 que, por sua vez, também se liga à proteína RAD51.

Gene PALB2

O gene *PALB2* localiza-se na região 12.2 do braço curto do cromossoma 16 (16p12.2). Este gene supressor tumoral é responsável pela codificação da proteína PALB2 (Figura 11), composta por 1186 aminoácidos, que forma um complexo com a proteína BRCA2, auxiliando as proteínas BRCA1/2 no processo de reparação do DNA através do processo de recombinação homóloga. Esta proteína é um elemento crucial para a manutenção da integridade do genoma, dado que, na sua ausência o recrutamento das proteínas BRCA2 e de RAD51, necessário para a reparação das DSBs, não é realizado [28],[29].

Na região N-terminal da PALB2 existe, entre os aminoácidos 9-44, um domínio *coiled-coil* responsável pela autorregulação desta proteína e pela sua interação com a proteína BRCA1. Esta interação é crucial, visto que possibilita recrutar a recombinase RAD51. Próximo a este domínio existe, também, uma sequência, que se estende do aminoácido 88-94, que é responsável pela interação da PALB2 com a proteína KEAP1 (do inglês “*Kelch Like ECH Associated Protein 1*”). Na região central da proteína PALB2 encontram-se outros dois domínios: o domínio ChAM (do inglês “*Chromatin Associated Motif*”), localizado entre os aminoácidos 395 e 446; e um domínio FLXP, localizado entre os aminoácidos 612 e 615, que se liga à proteína MRG15. Ambos são necessários para que a proteína PALB2 interaja com a cromatina. Por outro lado, na região C-terminal, existe o domínio WD40 (localizado entre os aminoácidos 867-1186) que é responsável pela interação da proteína PALB2 com as proteínas BRCA2, RAD51, RAD51C, XRCC3, POLE (pol η) e RNF168 [37], [38].

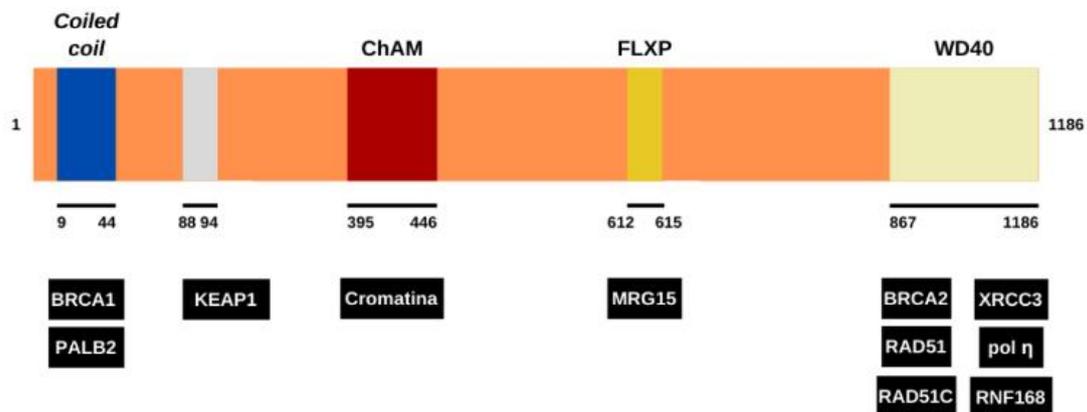


Figura 11 - Domínios funcionais da proteína PALB2. O N-terminal da proteína PALB2 contém um coiled coil (CC) responsável pela autorregulação da proteína em causa e pela sua ligação à proteína BRCA1 (permitindo o recrutamento da RAD51). Entre os aminoácidos 88-94 destaca-se um domínio que liga a PALB2 à KEAP1. Na região central, a PALB2 possui o domínio ChAM e o domínio FLXP que se liga à proteína MRG15. Ambos são necessários para existir interação com a cromatina. Na região C-terminal existe o domínio WD40, sendo este responsável pela interação da proteína PALB2 com as proteínas BRCA2, RAD51, RAD51C, XRCC3, POLE (pol η) e RNF168 (só algumas estão representadas na figura).

Genes RAD51C e RAD51D

Os genes *RAD51C* e *RAD51D* pertencem à família RAD51 que, por sua vez é crucial nos processos de recombinação homóloga e reparação de lesões existentes nas cadeias duplas do DNA. Ambos os genes estão localizados, juntamente com os genes *RAD51A* e *RAD51B*, na região 23 do braço longo do cromossoma 17 (17q23). Estes genes são responsáveis pela codificação das proteínas RAD51C e RAD51D, respetivamente, que, por sua vez, são fulcrais na via de recombinação homóloga [24].

A proteína RAD51C, em conjunto com outras proteínas, forma dois complexos distintos: o complexo RAD51B-RAD51C-RAD51D-XRCC2 (BCDX2) e o complexo RAD51C-XRCC3 (CX3) (Figura 12). Ambos atuam a nível do processo de recombinação homóloga dependente das proteínas BRCA1/2, mas em fases distintas. Enquanto que o complexo BCDX2, após se verificar a existência de uma lesão no DNA, promove o recrutamento das proteínas BRCA2 e RAD51, o complexo CX3 recruta principalmente a RAD51 para os locais lesados. Sabe-se que o complexo BCDX2 se liga preferencialmente às cadeias simples do DNA, promovendo assim a agregação do DNA em cadeias duplas. Para além disto, acredita-se também que o complexo BCDX2 possua um papel importante nas primeiras fases da reparação do DNA. Por outro lado, a proteína RAD51D, também em conjunto com outros membros da família RAD51, faz parte de um único complexo proteico, o BCDX2 (RAD51B-RAD51C-RAD51D-XRCC2) [39], [40].

Atualmente, é aceite que a ocorrência de mutações que envolvam perda da função bialélica do gene *RAD51C* estão na origem do desenvolvimento de um dos sub-tipos de anemia de Fanconi, a anemia de Fanconi associada ao grupo de complementação O, enquanto que as mutações monoalélicas são responsáveis por cerca de 1,3% dos casos associados a famílias com história de desenvolvimento de HBOC. É importante destacar que mutações neste gene não estão associadas, isoladamente, ao desenvolvimento de cancro da mama [40]–[42]. Por outro

lado, mutações no gene *RAD51D* são associadas principalmente ao aumento do risco de desenvolvimento de cancro hereditário do ovário, visto que estas mutações são extremamente raras em doentes diagnosticados com cancro da mama familiar [43], [44].

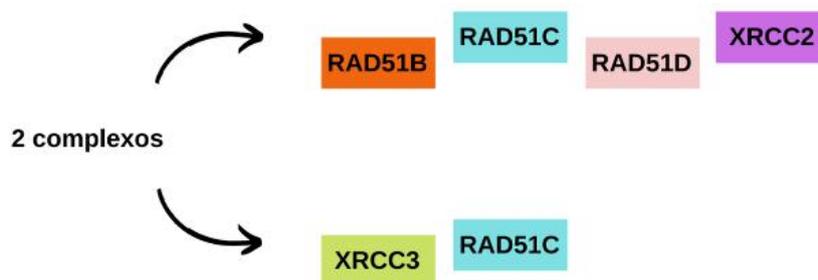


Figura 12 – Representação esquemática dos complexos formados pelas proteínas RAD51C e RAD51D.

3.1.3. Prevalência e caracterização da HBOC

A HBOC trata-se de uma síndrome que, na maioria dos casos, possui uma sintomatologia característica. Comparativamente a outras síndromes e doenças hereditárias, esta patologia surge habitualmente em idade precoce, sendo normalmente acompanhada da ocorrência, no mesmo indivíduo, de tumores síncronos, quando se manifestam num período temporal inferior a 6 meses, ou de tumores metacrónicos, se o intervalo de diagnóstico for superior a 6 meses. Adicionalmente, deve haver uma história familiar que revele a existência de parentes, de primeiro e segundo grau, com tumores semelhantes [45].

Na verdade, apenas cerca de 5% de todas as neoplasias estudadas se podem incluir nas síndromes relativas a tumores hereditários, sendo a HBOC uma das síndromes familiares mais frequentes [46]. Esta é responsável por cerca de 2 a 5% (podendo atingir os 10%, se existirem fatores de risco adicionais) de todos os tumores ováricos e mamários em ambos os sexos [45]. Sabe-se que 5% a 10% dos indivíduos diagnosticados com cancro da mama e que aproximadamente 10% a 15% das doentes diagnosticadas com cancro do ovário apresentam esta síndrome hereditária [47], [48]. Os indivíduos portadores de HBOC, além da maior incidência destes tumores, também podem apresentar uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de tumores do pâncreas, da próstata, da pele (melanoma), entre outros [19], [20].

Atualmente, estima-se que até cerca de 1/4 dos casos de HBOC (de 15% a 25%) se devem à existência de mutações nos genes supressores tumorais *BRCA1* e *BRCA2*. Os restantes casos são atribuídos à presença de mutações noutros genes cruciais, como já referido [21], [22].

3.1.3.1. Cancro da Mama

Cancro da Mama Feminino

Hoje em dia, a existência de determinadas mutações em alguns genes supressores tumorais cruciais, como os genes *BRCA1/2*, estão associadas a um risco hereditário de desenvolvimento de cancro da mama, tal como o que se verifica na HBOC. Mais especificamente, indivíduos que tenham sido diagnosticados com esta síndrome e que possuam mutações nos genes *BRCA1/2* representam 2% de todos os casos de cancros da mama [49]. Com base nos dados recolhidos ao longo dos últimos anos, e considerando que cerca de 12% da população geral está sujeita a um possível risco de desenvolvimento de cancro da mama, ao longo da vida, verifica-se que, para mulheres portadoras de mutações no gene *BRCA1*, o risco de desenvolverem cancro da mama varia entre 57% e 65%, até à idade de 70 anos. Relativamente a portadoras de mutações no gene *BRCA2*, esse risco revela-se ligeiramente mais reduzido, variando entre 45% e 55%, igualmente até à idade de 70 anos [21],[50],[51]. Por outro lado, também é sabido que o pico de incidência de cancro da mama ocorre um pouco mais prematuramente, quando existem mutações no gene *BRCA1*, mais precisamente em idades compreendidas entre os 41 a 50 anos, enquanto para mutações no gene *BRCA2*, o pico se verifica dos 51 aos 60 anos [28], [52].

Também é importante destacar que os subtipos histológicos de cancro da mama variam consideravelmente com os diferentes tipos de mutações presentes nos genes *BRCA1/2*. Cerca de 70% dos tumores que se desenvolvem em portadores de mutações no gene *BRCA1* são denominados de cancros da mama triplo negativos (CMTN), caracterizado pela ausência de expressão de recetores de estrogénio (RE), de recetores de progesterona (RP) e da sobre-expressão do recetor de fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2, do inglês “*human epidermal growth factor receptor 2*”) [28]. O CMTN, devido às suas características particulares, facilmente se distingue dos outros tipos de tumores mamários, apresentando um comportamento bastante agressivo, um perfil molecular único, uma incidência em idade mais jovem e alguns padrões metastáticos distintos, com metástases mais agressivas [53]. Contrariamente a esta situação, verificou-se que apenas 16% dos tumores mamários diagnosticados em portadores de mutações no gene *BRCA2* são do tipo CMTN. Na verdade, a sua maioria, cerca de 77%, apresenta-se positiva para os RE [28].

A existência de mutações no gene *PALB2* está igualmente associada a um aumento significativo do risco de desenvolvimento de cancro da mama. Segundo um estudo de 2014, conduzido por *Antoniou et al.* [54], que envolveu 362 mulheres pertencentes a 154 famílias que apresentavam mutações no gene *PALB2*, estimou-se que o risco absoluto associado ao desenvolvimento de cancro da mama é de 33% para as portadoras de mutações no gene *PALB2*, sem qualquer história familiar de cancro da mama, e de 58% para aquelas que tinham 2 ou mais parentes de 1º grau diagnosticados com cancro da mama, considerando, para ambos os casos, uma idade de 70 anos. Segundo dados recentes, estimou-se que portadoras de mutações no gene *PALB2* diagnosticadas com HBOC possuem um risco de desenvolver cancro da mama de 35%, considerando também uma idade de 70 anos [21].

Cancro da Mama Masculino

Segundo um estudo conduzido por *Tai et al.* [55], em 2007, que envolveu 1939 famílias com HBOC, incluindo-se nestes 97 indivíduos do sexo masculino diagnosticados com cancro da mama, foi possível estimar-se o risco que homens com mutações nos genes *BRCA1/2* tinham para desenvolver este cancro. De facto, demonstrou-se que o risco cumulativo é superior nos indivíduos que possuíam mutações nos genes *BRCA1/2* do que naqueles que não apresentavam nenhuma variante patogénica desses genes. Este risco demonstrou ser superior para homens

com idades compreendidas entre os 30 e os 40 anos, tendo o mesmo diminuído com o aumento da idade. Com base nestes dados e sabendo-se que a população masculina, em geral, está sujeita a um risco de desenvolvimento de cancro da mama, ao longo da sua vida, de cerca de 0,1%, estimou-se que, para homens portadores de mutações no gene *BRCA1*, o risco de desenvolvimento de cancro da mama é de 1,2%, considerando uma idade de 70 anos. No que se refere a portadores de mutações no gene *BRCA2*, esse risco revela-se significativamente mais elevado, sendo cerca de 6,8%, até à idade de 70 anos [21],[50],[55]. Segundo um estudo mais recente, de 2010, que representa o maior estudo focado em famílias com mutações no gene *BRCA2*, foi estimado um novo valor do risco de desenvolvimento de cancro da mama masculino para estes indivíduos, sendo de 8,9% para uma idade média de 80,9 anos [56].

3.1.3.2. Cancro do Ovário

De forma semelhante ao que acontece para os tumores mamários, a presença de mutações nos genes supressores tumorais *BRCA1/2* também é apresentada como fator de risco para o desenvolvimento de cancro do ovário hereditário, nomeadamente em casos diagnosticados com HBOC. Indivíduos que tenham sido diagnosticados com esta síndrome e que possuam mutações nos genes *BRCA1/2* representam cerca de 10% a 15% de todos os casos relativos a cancros do ovário [49]. Para a população em geral, o risco atual de desenvolvimento de cancro do ovário, ao longo da sua vida, é cerca de 1% a 2%, enquanto que, para mulheres portadoras de mutações no gene *BRCA1* e *BRCA2*, o risco varia entre 39% e 44% e entre 11% e 18%, respetivamente, até à idade de 70 anos [21],[50],[51]. Adicionalmente, está patente que o tumor ovárico associado a estas mutações apresenta um fenótipo histológico distinto, sendo o cancro do ovário seroso o subtipo histológico mais frequente [28].

Recentemente, comprovou-se que a ocorrência de mutações em outros genes, para além dos genes *BRCA1/2*, potenciam o desenvolvimento de cancro hereditário do ovário. Mutações nos genes *RAD51C* e *RAD51D* foram descritas como responsáveis por um aumento significativo do risco de desenvolvimento deste tipo de tumor [57]. De facto, considerando a presença de mutações na linha germinativa do *RAD51C*, estima-se que mulheres diagnosticadas com HBOC possuam um risco de desenvolver cancro do ovário de cerca de 9%, até à idade de 80 anos [21]. Relativamente ao gene *RAD51D*, estima-se que este mesmo risco seja aproximadamente 6,3 vezes superior ao risco da população geral [44]

Considerando a associação bem estabelecida entre a existência de mutações no gene *PALB2* e o desenvolvimento de cancro da mama, é legítimo questionar se as mutações neste gene também aumentam o risco de desenvolvimento de cancro do ovário. De facto, variantes patogénicas na linha germinativa do *PALB2* foram observadas em 0,2% a 0,6% das mulheres diagnosticadas com tumor ovárico, da trompa de Falópio e peritoneal [58]. No entanto, um estudo multicêntrico de 2016, realizado por *Southey et al.* [59], verificou que não existia uma associação estatisticamente significativa entre as mutações no gene *PALB2* e o desenvolvimento de cancro do ovário. Posto isto, concluiu-se que não existem evidências suficientes para que o desenvolvimento de cancro do ovário seja associado ao gene *PALB2*.

3.1.3.3. Cancro da Próstata

Tal como acontece no caso dos tumores da mama e do ovário, também se sabe que a existência de mutações nos genes *BRCA1/2* está associado a um maior risco de desenvolvimento de cancro da próstata. De acordo com o estudo de *Leongamornlert et al.* [60], de 2012, o risco de homens portadores de mutações no gene *BRCA1* desenvolverem cancro da próstata é de cerca de 8,6%, para uma idade de 65 anos, enquanto que para a população masculina em geral é cerca de 6% [50]. Já para os portadores de mutações no gene *BRCA2*, *Kote-Jarai et al.* [61], reportaram, no ano de 2011, que o risco era significativamente mais elevado, rondando os 15%, considerando a idade de 65 anos.

3.1.3.4. Cancro do Pâncreas

Ao longo das últimas décadas, verificou-se que a presença de variantes patogénicas nos genes *BRCA1/2* estão relacionadas com o aumento do risco de desenvolvimento de cancro do pâncreas. Sabe-se que o risco de desenvolvimento de cancro pancreático na população em geral é de 0,5% [50], porém, segundo um estudo de *Risch et al.* [62], de 2006, que envolveu familiares de mulheres diagnosticadas com tumores ováricos, estimou-se que o risco de portadores de mutações no gene *BRCA1* e no gene *BRCA2* desenvolverem cancro do pâncreas, considerando uma idade de 80 anos, foi de 3,1% e de 6,6%, respetivamente. Mais recentemente, em 2012, um estudo prospetivo de *Iqbal et al.* [63], que incluiu 5149 mulheres previamente identificadas com variantes patogénicas nos genes *BRCA1/2*, demonstrou que a incidência de cancro pancreático nestas doentes foi 2,4 vezes superior ao risco inerente à população em geral. Mesmo assim, contrariamente aos resultados obtidos por *Risch et al.*, os resultados deste estudo não demonstraram uma variação significativa entre o risco de desenvolvimento deste tumor em indivíduos com mutações no gene *BRCA1* e no gene *BRCA2*.

Por outro lado, apesar do gene *BRCA2* ser o gene que está associado a uma maior frequência de casos de tumores pancreáticos hereditários [64], mutações no gene *PALB2* também são uma causa importante [65]. Até agora, sabe-se que pelo menos as mutações que envolvam a perda de função do gene *PALB2* estão associadas ao desenvolvimento deste tipo de cancro [38].

3.1.3.5. Melanoma

Embora o melanoma seja menos estudado nestas condições, a literatura sugere que o risco de desenvolvimento de um melanoma, cutâneo ou ocular, pode ser superior em portadores de mutações no gene *BRCA2* [50]. Segundo um estudo de *Moran et al.* [66], de 2012, que envolveu 490 famílias previamente identificadas com mutações nos genes *BRCA1/2*, foi possível verificar um aumento do risco associado ao desenvolvimento de melanoma ocular em indivíduos que apresentavam mutações na linha germinativa do gene *BRCA2*.

3.1.3.6. Outros tumores malignos

Além dos tumores supracitados, é sabido que portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* apresentam, também, um maior risco de desenvolverem outras neoplasias. Segundo um estudo de *Thompson et al.* [67], de 2002, constatou-se que portadoras de mutações no gene *BRCA1*, com idade inferior a 65 anos, possuíam uma maior suscetibilidade para desenvolverem tumores

do endométrio e do colo do útero, apresentando riscos de cerca de 2,6% e de 3,7%, respetivamente. No entanto, em 2007, *Beiner* [68] levantou a hipótese de que a relação entre o desenvolvimento de cancro endometrial e a presença de variantes patogénicas nos genes *BRCA1/2* pode estar relacionada com a exposição destas doentes a agentes quimiopreventivos, como o tamoxifeno. Adicionalmente, um estudo publicado em 2005 pelo *Netherlands Collaborative Group on Hereditary Breast Cancer*, relatou também que portadores de mutações no gene *BRCA2* apresentavam maior risco de desenvolverem de tumores da vesícula biliar e do ducto biliar, com riscos de cerca de 3,5% e 5,0%, respetivamente [69].

3.1.4. Diagnóstico

Indivíduos que apresentem história pessoal ou familiar (parente de 1º, 2º ou 3º graus, em qualquer linhagem) que coincida com qualquer uma das características abaixo mencionadas poderão ser possíveis doentes com HBOC [50]:

- cancro da mama diagnosticado antes dos 50 anos de idade;
- cancro do ovário;
- múltiplos cancros primários da mama, mono ou bilaterais;
- cancro da mama masculino;
- cancro da mama triplo negativo (CMTN), principalmente para idades inferiores a 60 anos;
- combinação de cancro pancreático e/ou cancro da próstata (com Gleason ≥ 7) com cancro da mama, e/ou cancro do ovário;
- cancro da mama diagnosticado num indivíduo, de qualquer idade, com ascendência judaica Ashkenazi;
- existência de 2 ou mais parentes diagnosticados com cancro da mama, um deles antes dos 50 anos de idade;
- existência de 3 ou mais parentes, de qualquer idade, diagnosticados com cancro da mama;
- identificação prévia de uma variante patogénica nos genes *BRCA1/2* da família.

Posto isto, indivíduos que se revejam numa ou mais destas características são referenciados para a realização de teste genético preditivo que determinará se estamos ou não perante um caso da HBOC. Visto que durante décadas se assumiu que apenas os genes *BRCA1/2* estavam na origem do desenvolvimento desta síndrome, o diagnóstico molecular da HBOC, até recentemente, restringia-se apenas à identificação de variantes patogénicas presentes nesses genes. Hoje em dia, após a associação de diversas variantes patogénicas noutros genes à HBOC conduziu à integração de algumas delas em vários testes genéticos preditivo específicos para o diagnóstico desta patologia [22],[70]. Mais especificamente, em Portugal, já se realizam vários testes genéticos preditivos deste género, como é exemplo o *Ophi-Breast+*, realizado pelo Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa, que tem capacidade de identificar mutações nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53*, *STK11* e *CDH1* [71].

Para a realização de um teste genético preditivo é necessária uma amostra que contenha DNA, sendo frequentemente colhida e usada uma amostra sanguínea. Como alternativa, também se pode optar por colher uma amostra de saliva ou então proceder-se à excisão de uma amostra de pele através da realização de uma biópsia. Este último deve ser preferencialmente

realizado por indivíduos que, em qualquer altura da sua vida, já tenham sido submetidos a um transplante alogénico de células estaminais [28]. Uma vez recolhida a amostra, esta irá ser processada a nível laboratorial. Atendendo ao facto de que a maioria das mutações nos genes *BRCA1/2* resultar no aparecimento de proteínas truncadas, o teste de truncagem de proteínas é amplamente utilizado. Por outro lado, visto que as deleções, duplicações ou outros rearranjos genómicos representam cerca de 10% de todas as mutações, a análise por PCR (do inglês “*polymerase chain reaction*”) multiplex quantitativo de fragmentos fluorescentes curtos deve fazer parte do protocolo de deteção de portadores HBOC [27].

Caso não seja identificada nenhuma alteração genética, o doente em causa deve ser informado que o risco que apresenta de desenvolver um tumor, ao longo da sua vida, é semelhante ao da população geral. Infelizmente, apesar desta afirmação estar correta, na maioria das vezes, existe a probabilidade de esta não espelhar a verdade em alguns casos, visto que um resultado negativo não permite excluir, com total certeza, uma síndrome de predisposição familiar [15]. Por outro lado, se o teste genético demonstrar um resultado positivo, é sugerido que outros membros da família sejam testados para essa mutação específica. A primeira pessoa a realizar o teste genético deve ser o familiar que foi diagnosticado com um determinado tipo de cancro numa idade precoce. No seguimento deste resultado, irá proceder-se à avaliação cuidadosa do indivíduo em causa [28]. Desta avaliação irá surgir a definição de um plano de vigilância personalizado, que pode incluir a necessidade de se efetuar alguma intervenção cirúrgica, para que os riscos de se desenvolver tumor da mama e/ou ovário possam ser reduzidos. Estas intervenções necessitam de ser ponderadas, uma vez que todas elas apresentam um conjunto de benefícios e de riscos. Atualmente, este conjunto de prós e contras é avaliado através de modelos matemáticos computacionais, especificamente desenvolvidos para este fim. Os modelos mais conhecidos e que estão na base da previsão do risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama são: o modelo BRCAPRO, o modelo Tyrer-Cuzick e o modelo BOADICEA. Relativamente à previsão do risco associado ao desenvolvimento de cancro do ovário destacam-se 2 modelos computacionais: o modelo de Pfeiffer e o modelo de Rosner. Ambos incluem fatores de risco hereditários e não hereditários, tais como: história familiar de cancro da mama e do ovário, idade da primeira menstruação, uso de pílula anticoncepcional oral, história de laqueação das trompas, idade em que a doente atingiu a menopausa e uso de terapia hormonal de substituição durante a menopausa [19], [72], [73].

Modelo BRCAPRO

O modelo BRCAPRO é uma ferramenta computacional que estima a probabilidade associada à identificação de variantes patogénicas nos genes *BRCA1*, *BRCA2* ou em ambos [10]. Para além de conseguir avaliar esta probabilidade, este modelo também possui a capacidade de prever qual o risco genético associado ao desenvolvimento de cancro da mama aquando da identificação de mutações nesses genes. Este modelo tem em consideração uma série de fatores específicos, tais como: o grau de risco associado ao desenvolvimento de tumores em portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*; o estado em que se encontra o tumor no doente (afetado, não afetado ou desconhecido); a idade dos familiares que foram diagnosticados com tumor da mama ou do ovário em algum período da sua vida, considerando familiares de 1º e de 2º grau. Tal como qualquer modelo, este também apresenta desvantagens, destacando-se o facto de não incluir fatores não hereditários e de apenas ter em conta a identificação de mutações nos genes *BRCA1/2* [74], [75].

Modelo Tyrer–Cuzick

O modelo Tyrer-Cuzick foi desenvolvido aquando da realização do estudo *International Breast Intervention Study* e implementado com o intuito de combater e solucionar algumas das limitações sentidas aquando do uso de outros modelos, tal como é o caso do BRCAPRO. Este modelo tem em conta fatores como: a história familiar do doente; a exposição endógena ao estrogénio; a presença de doenças mamárias benignas; considera a identificação de variantes patogénicas noutros genes associados ao desenvolvimento de cancro da mama hereditário, e não apenas aquelas encontradas nos genes *BRCA1/2* [74].

Modelo BOADICEA

O modelo BOADICEA, do inglês “*Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm*”, é outro modelo computacional que estima duas probabilidades inter-relacionadas: a probabilidade associada ao risco de um indivíduo ser portador de uma variante patogénica nos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *CHEK2* e *ATM*; a probabilidade de um indivíduo, ao longo da sua vida, desenvolver cancro da mama e/ou cancro do ovário. Este modelo inclui informações como a história familiar do doente; a identificação de variantes patogénicas nos genes que, atualmente, estão na base da maioria dos casos de cancro da mama e/ou ovário; a história pessoal de patologias tumorais; fatores demográficos básicos, tais como ano de nascimento e o país. No entanto, existem várias limitações associadas ao modelo BOADICEA, podendo-se destacar o facto de este não considerar fatores não hereditários nem a realização de cirurgias profiláticas anteriores [74], [76].

3.1.5. Vigilância e prevenção

Após a confirmação do diagnóstico desta síndrome hereditária, possíveis medidas e opções associadas a maior controlo da doença encontram-se descritas de forma mais detalhada para portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*, visto que são estas que, nos últimos anos, têm sido alvo de mais estudos. Sabe-se que existem três maneiras distintas de prevenir e de reduzir o risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama e/ou do ovário, sendo elas: a vigilância, a quimioprevenção e a cirurgia [47]. Dentro destes três grupos estão incluídas técnicas de diagnóstico específicas, fármacos que têm provado possuir efeitos preventivos e também algumas sugestões de cirurgias profiláticas que são altamente recomendadas, tal como é o caso da mastectomia profilática bilateral e da salpingo-ooforectomia. Através de outros estudos, também foi possível concluir que o tratamento de doentes diagnosticados com síndromes de cancro hereditário alcança melhores resultados se a abordagem for multidisciplinar, envolvendo diferentes especialidades médicas, cirúrgicas e genéticas [28].

3.1.5.1. Cancro da Mama

Vigilância

Nos dias de hoje, é importante que a população feminina entenda que deve realizar, regularmente, exames de rastreio mamários, uma vez que estes poderão permitir a deteção de

algum tumor antes que surjam quaisquer sinais ou sintomas. Desta maneira, massas tumorais existentes irão ser diagnosticadas precocemente, levando ao tratamento atempado do cancro da mama, o que, por sua vez, está diretamente relacionado ao aumento da probabilidade de sucesso e eficácia do tratamento [28].

As recomendações indicadas por várias organizações mundiais, tais como a *United States Preventive Services Taskforce*, a *European Society for Medical Oncology* e a *American Cancer Society*, afirmam que qualquer mulher com mais de 40 anos se deve submeter à realização de alguns tipos de exames mamários, anualmente ou a cada dois anos [77]–[79]. Até ao momento, a mamografia constitui o único exame que foi validado para a realização do rastreio do cancro da mama na população em geral (tanto em mulheres como em homens), sendo a base do rastreio deste tipo de tumores. Devido à dependência inevitável do uso de baixas doses de radiação ionizante, a utilização deste método deve ser ponderado com cuidado. Por outro lado, as recomendações apontam para o não reconhecimento do exame clínico mamário como um método que possa ser usado no rastreio do cancro da mama, pelo menos não sozinho. Segundo vários estudos, a sua adição aos programas de rastreio levou a um aumento do aparecimento de resultados falsos positivos, o que levou à não recomendação deste exame como método de rastreio em países em que a mamografia esteja disponível [78]–[80]. No entanto, em países onde o exame clínico da mama é o único método disponível em larga escala, acaba por ser o exame capaz de detetar um tumor da mama numa fase precoce, devendo ser usado como método de rastreio nestes casos [81].

Para indivíduos que apresentem risco aumentado de desenvolver tumor da mama, tal como é o caso dos doentes diagnosticados com HBOC, a situação acaba por ser inevitavelmente diferente (Figura 13). Estes casos específicos necessitam de um acompanhamento mais personalizado, recomendando-se a realização do exame clínico mamário a cada 6/12 meses, a partir dos 25 anos de idade, ou a partir de uma idade 10 anos inferior àquela que o familiar mais jovem apresentava aquando do seu diagnóstico de cancro da mama. Também a partir dessa mesma idade, estes indivíduos devem passar a realizar, anualmente, uma ressonância magnética mamária com contraste. Quando a idade destes indivíduos está compreendida entre os 30-75 anos, é aconselhável que realizem uma mamografia anual e, também, uma ressonância magnética mamária com contraste, aumentando, desta maneira, a probabilidade de deteção de tumores mamários [28],[78].

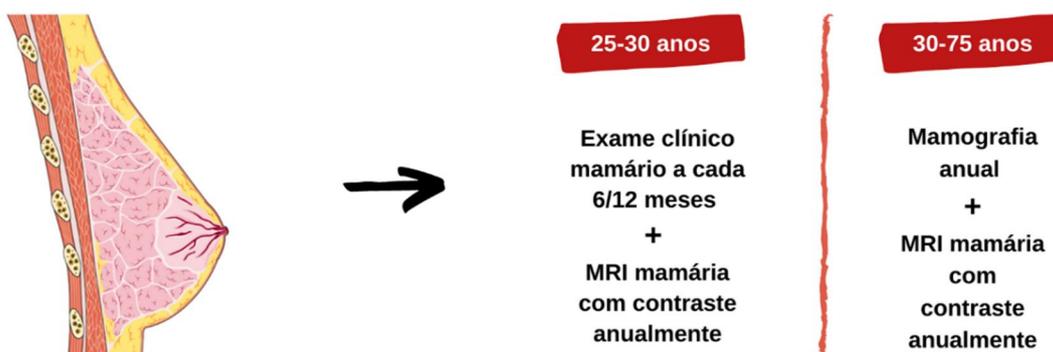


Figura 13- Representação esquemática dos exames mamários que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com HBOC, com o intuito de se tentar diagnosticar um cancro da mama.

Quimioprevenção

Atualmente, as abordagens quimiopreventivas que demonstraram ser especificamente direcionadas para casos de tumores mamários ainda são limitadas. Agentes quimiopreventivos como o tamoxifeno e o raloxifeno têm sido relatados como importantes agentes associados à redução do risco de desenvolvimento de cancro da mama [19].

Em 2001, um estudo conduzido pela *American Medical Association* [82], que incluiu 288 mulheres diagnosticadas com cancro da mama, relatou que a administração oral de tamoxifeno para portadoras de mutações no gene *BRCA2*, durante 5 anos, reduziu o risco de desenvolvimento de cancro da mama em cerca de 62%. Contrariamente ao que foi verificado para estas portadoras, concluiu-se que para portadoras de mutações no gene *BRCA1*, o tamoxifeno não foi capaz de reduzir significativamente o risco associado ao desenvolvimento deste tipo de cancro. Assume-se que estas diferenças resultaram da baixa prevalência de casos de cancro da mama com mutações no gene *BRCA1* e que, simultaneamente, testam positivo para os RE (apenas cerca de 30%) [28]. Por outro lado, a administração de raloxifeno, também durante 5 anos, demonstrou reduzir significativamente o risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama invasivo em mulheres que possuíam história familiar de cancro da mama. Posto isto, com o intuito de se compararem ambos os agentes quimiopreventivos supramencionados, surgiu o ensaio clínico STAR (do inglês “*Study of Tamoxifen and Raloxifen*”) [83], em 2013, que revelou que o tamoxifeno, em comparação com o raloxifeno, estava associado a uma maior redução do risco de desenvolvimento de cancro da mama. Em suma, ambos os medicamentos foram associados a uma diminuição deste risco nos casos de cancro da mama que testem positivo para os RE [19].

Cirurgias

Para casos específicos de tumores mamários, a abordagem cirúrgica recomendada é a mastectomia bilateral. Trata-se de uma abordagem de prevenção que, por sua vez, tem em vista a redução do risco de desenvolvimento de cancro da mama e a melhoria do prognóstico, em doentes que sejam mais suscetíveis a este tipo de tumor. De facto, só a partir de 1999 é que os benefícios destas cirurgias começaram a ser clarificados. Nessa altura começaram a surgir muitos estudos que comparam os resultados obtidos em doentes diagnosticadas com cancro da mama que se submeteram à realização de mastectomia profilática com os resultados obtidos em mulheres que não foram submetidas à cirurgia, mas que apresentavam risco semelhante [84]–[87]. Todos esses estudos demonstraram que o risco de desenvolvimento de cancro da mama em mulheres que se submeteram a mastectomias profiláticas reduziu em, pelo menos, 90% [88]. De acordo com um estudo de *Heemskerk-Gerritsen et al.* [89], de 2015, foi verificada uma taxa de sobrevivência de cerca de 99,6% para portadoras de mutações na linha germinativa dos genes *BRCA1/2* que tinham sido submetidas a mastectomia bilateral. Tendo em conta estes resultados promissores, este procedimento passou a ser realizado e recomendado, tanto como método de prevenção como de tratamento, para o cancro da mama.

Tal como qualquer cirurgia, a mastectomia bilateral é acompanhada, na maioria das vezes, de efeitos adversos. Destacam-se as complicações cirúrgicas associadas, tais como infeções pós-operatórias, hematomas, entre outras, com uma frequência entre 3 a 59%, e a sintomatologia pós-cirúrgica que inclui dor, dormência, edema e fibrose no leito cirúrgico, com uma frequência entre 64% e 87% [19].

3.1.5.2. Cancro do Ovário

Vigilância

Para indivíduos que possuam um risco aumentado de desenvolver cancro do ovário, ainda não se conhecem exames específicos que consigam garantir uma vigilância adequada a estas situações. Apesar de, atualmente, ser recomendada a realização de uma ecografia transvaginal, a cada 6 meses, e de uma avaliação da expressão de CA-125 (um dos marcadores tumorais associados ao desenvolvimento de cancro do ovário), a partir dos 30 anos de idade, em portadores de mutações na linha germinativa dos genes *BRCA1/2*, estes exames não demonstraram ser muito eficazes na deteção deste tipo específico de tumores (Figura 14). Posto isto, ainda não existem métodos suficientemente precisos e fidedignos que garantam a deteção precoce desta patologia maligna [50],[78].



Figura 14 - Representação esquemática dos exames que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com HBOC, com o intuito de se tentar diagnosticar um cancro do ovário.

Quimioprevenção

Segundo uma revisão sistemática da literatura de 2014, foi possível concluir que o uso de anticoncetivos hormonais tinha um grande impacto na redução do risco associado ao desenvolvimento de cancro do ovário, em portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*. Os resultados desta revisão estimaram a redução deste risco após estas mulheres terem tomado anticoncetivos durante um ano. Concluiu-se que, para portadoras de mutações nos genes *BRCA1*, esse risco tinha diminuído em cerca de 33% a 80%, enquanto para as portadoras de mutações nos genes *BRCA2*, o risco tinha reduzido aproximadamente entre 58% e 63% [90]. Posto isto, o uso de anticoncetivos hormonais é visto como uma excelente estratégia quimiopreventiva, sendo aconselhado às mulheres que tenham sido identificadas com mutações nos genes *BRCA1/2*. Embora existam relatos na literatura acerca do efeito adverso que o uso de contraceptivos orais pode ter no aumento do risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama, uma meta-análise de 2013, não conseguiu demonstrar nenhum aumento significativo do risco de portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* desenvolverem este tipo de tumor [19],[91].

Cirurgias

Para casos específicos de tumores ováricos, a terapia cirúrgica recomendada é a salpingo-ooforectomia preventiva bilateral. Trata-se de uma abordagem de prevenção que, por sua vez, tem em vista a redução do risco de desenvolvimento de cancro do ovário e a melhoria do prognóstico, em doentes que sejam mais suscetíveis a este tipo de tumor [47]. De facto, a realização da salpingo-ooforectomia é recomendada, como abordagem preventiva, para mulheres que tenham sido diagnosticadas com cancro da mama e do ovário e que sejam portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*, a partir dos 35 anos. Esta é a única estratégia comprovada que assegura a prevenção do tumor do ovário, conseguindo reduzir o risco de desenvolvimento deste tumor em cerca de 80% a 90% [45]. Por esta mesma razão, após esta cirurgia, na maioria destes casos, estas mulheres necessitam de realizar terapia de reposição hormonal até atingirem a idade natural da menopausa (por volta dos 50 anos).

Em 2015, *Metcalfe et al.* [92] conduziram um estudo que incluiu 676 mulheres. Destas, 345 foram submetidas a uma salpingo-ooforectomia após o diagnóstico de cancro da mama e 331 mantiveram os dois ovários. Neste estudo, verificou-se que a realização da cirurgia estava associada a uma diminuição da taxa de mortalidade das portadoras de mutações no gene *BRCA1* que, por sua vez, tinham sido diagnosticadas com cancro da mama. Visto que estudos anteriores já tinham demonstrado que a salpingo-ooforectomia tinha a capacidade de reduzir o risco de desenvolvimento de cancro do ovário e da mama, este estudo veio relatar que os benefícios da ooforectomia também estão associados a uma redução do risco da mortalidade decorrente do diagnóstico de cancro da mama.

Tal como qualquer cirurgia, a salpingo-ooforectomia é acompanhada, na maioria das vezes, de efeitos adversos. Os efeitos mais frequentes e que habitualmente costumam ser sentidos imediatamente após a realização da cirurgia incluem ondas de calor, líbido diminuída, secura vaginal e dispareunia. Adicionalmente, também é sabido que, entre a população feminina, a menopausa cirúrgica antes dos 45 anos de idade comporta um risco aumentado de osteoporose, doença cardiovascular e até morte [28].

3.1.5.3. Outros tumores malignos

Devido ao risco que estes indivíduos, tanto homens como mulheres, possuem para desenvolver melanomas, é recomendado que ambos os sexos realizem, regularmente, exames do foro dermatológico. Não existe uma periodicidade definida para estes exames, sendo que esta deve ser definida e ajustada de acordo com a história familiar de cada doente [50].

Para casos de indivíduos masculinos que possuam mutações nos genes *BRCA1/2* e/ou que possuam história familiar associado à HBOC, é recomendado que realizem, anualmente, a partir dos 35 anos de idade, o exame clínico mamário. Por outro lado, para estes indivíduos também é recomendada a realização do exame anual de rastreio do cancro da próstata, a partir dos 45 anos de idade [50].

3.1.6. Abordagens terapêuticas e avanços

Atualmente, estão a decorrer vários estudos focados em novas abordagens para o tratamento do tumor da mama e do ovário. Na verdade, a maioria dessas investigações aposta

no papel desempenhado pelos inibidores da poli(ADP-ribose) polimerase (PARPis, do inglês “*poly ADP ribose polymerase inhibitors*”). Estes fármacos revelam ser tão cruciais que já foram aprovados, tanto pela FDA (do inglês “*Food and Drug Administration*”) como pela EMA (do inglês “*European Medicines Agency*”), como agentes eficazes no tratamento de indivíduos diagnosticados com cancro do ovário recorrente e também em certos tipos de tumor mamário metastáticos. Por sua vez, estudos mais recentes visam perceber se o uso destes inibidores específicos também podem desempenhar um papel no tratamento de outros tumores, nomeadamente naqueles que decorrem da existência de mutações nos genes *BRCA1/2* [50].

3.1.6.1. Quimioterapia

A quimioterapia é a abordagem terapêutica mais comum para combater o cancro. Consiste na administração de fármacos, que, por sua vez, têm como objetivo principal a destruição das células cancerígenas existentes (interferindo, portanto, com os processos de crescimento e divisão celulares). Na verdade, a quimioterapia possuiu objetivos mais específicos consoante o estadiamento apresentado pelo tumor, podendo ser classificada como quimioterapia adjuvante, quimioterapia neoadjuvante ou como quimioterapia paliativa. A quimioterapia adjuvante é administrada após a realização de um outro tratamento, como a radioterapia ou a cirurgia, com o principal intuito de evitar a subsequente formação de micrometástases. Por outro lado, a quimioterapia neoadjuvante é administrada antes de um tratamento ou de cirurgia. O seu objetivo prende-se à diminuição do tamanho do tumor, para que seja possível realizar uma cirurgia. Por último, a quimioterapia paliativa é administrada em doentes que apresentam um tumor em estádios mais avançados e metastizado noutros tecidos e/ou órgãos. Desta maneira, o seu objetivo não apresenta qualquer intuito curativo, tentando apenas de aliviar a sintomatologia, com melhoria da qualidade de vida [93].

Na maioria dos casos, especialmente na quimioterapia neoadjuvante, verificam-se melhores resultados quando há a combinação de dois ou mais fármacos. Na base dos agentes quimioterapêuticos mais utilizados na quimioterapia adjuvante e neoadjuvante estão: as antraciclinas, como a doxorubicina e a epirubicina; a ciclofosfamida; os complexos de platina, como a cisplatina e a carboplatina; a 5-fluorouracilo e os taxanos, como o paclitaxel e o docetaxel. Alguns dados parecem mostrar que a administração de antraciclinas e de ciclofosfamida é mais específica e eficaz para doentes diagnosticados com tumores associados à presença de mutações nos genes *BRCA1/2* do que para aqueles que não são portadores destas mutações [47]. Por outro lado, dados anteriores sugerem, também, que o tumor da mama associado à existência de mutações no gene *BRCA1* parece apresentar baixa sensibilidade aos medicamentos inibidores de microtúbulos, tal como é o caso dos taxanos [47],[94].

Até recentemente, as terapias que estavam na base do tratamento de tumores associados à presença de mutações nos genes *BRCA1/2*, nomeadamente de tumores da mama e do ovário, não diferiam daquelas que estavam implementadas para casos esporádicos. Porém, devido às características da HBOC, este cenário tem mudado nos últimos anos, visto que muitos estudos já conseguiram demonstrar que portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* respondem a certos agentes quimioterapêuticos de uma maneira diferente do normal. Mesmo assim, inúmeros ensaios clínicos continuam a ser realizados com uma ampla gama de medicamentos que poderão, possivelmente, oferecer abordagens terapêuticas mais eficazes para estes indivíduos [47].

Ao longo dos anos, vários têm sido os estudos que demonstraram que o cancro da mama associado a mutações nos genes *BRCA1/2* é mais sensível a agentes quimioterapêuticos à base de platina, tais como a cisplatina ou a carboplatina. Em 2014, um estudo conduzido por *Maksimenko* [95], teve como objetivo a investigação da resposta à quimioterapia baseada em compostos de platina em dois grupos de doentes: portadores de mutações no gene *BRCA1* diagnosticados com CMTN e de doentes com CMTN, mas não portadores de mutações no gene *BRCA1*. Os resultados obtidos indicaram que o prognóstico dos portadores do gene *BRCA1* mutado era significativamente melhor, qualquer que fosse o estágio da doença, comparativamente ao prognóstico associado aos indivíduos que não possuíam a mutação (94,9% vs. 76,9%). Estes resultados evidenciaram que os portadores de mutações no gene *BRCA1* podem, de facto, possuir uma maior quimiossensibilidade aos compostos de platina em comparação com os indivíduos que não possuem esse gene mutado. Após este estudo, vários foram os autores que complementaram os resultados obtidos por *Maksimenko et al.*, destacando-se um estudo muito recente que, até ao momento, foi aquele que apresentou os resultados mais promissores acerca da eficácia dos compostos de platina. Este foi apresentado por *Tutt et al.* [96], em 2018, que analisou a resposta decorrente da administração de carboplatina e de docetaxel em 43 doentes com CMTN metastático identificados com mutações nos genes *BRCA1/2*. Os resultados obtidos indicaram que a taxa de resposta à carboplatina (cerca de 68%) era bastante superior à taxa de resposta ao docetaxel (aproximadamente 33%). Posto isto, as diretrizes para o tratamento de casos de cancro da mama avançado relativas ao 4º consenso internacional ESO-ESMO (ABC4) [97], publicadas a 1 de Agosto de 2018, vieram recomendar a realização de um tratamento de quimioterapia à base de compostos de platina em doentes diagnosticados com CMTN e que sejam portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*.

Para além da necessidade de avaliar qual o melhor agente quimioterapêutico para tratar, com maior eficácia, os portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*, também se considera bastante importante entender se estes mesmos doentes serão ou não mais suscetíveis a um determinado regime quimioterapêutico. Nesse sentido, *Clifton et al.* [98], em 2018, analisaram a resposta de doentes diagnosticados com CMTN em estágio inicial, com e sem mutações na linha germinativa dos genes *BRCA1/2*, após a administração de duas terapias diferentes: quimioterapia adjuvante e quimioterapia neoadjuvante. Das 319 doentes envolvidas no estudo, 187 receberam quimioterapia adjuvante (58,6%), enquanto que 132 receberam quimioterapia neoadjuvante (41,4%). Por outro lado, 135 dessas 319 doentes apresentavam mutações nos genes *BRCA1/2* (42,3%), enquanto que as restantes não apresentavam nenhum desses genes mutados. Segundo os resultados obtidos, existem diferenças significativas entre a taxa de sobrevivência global dos doentes que se submeteram à quimioterapia neoadjuvante e aqueles que realizaram quimioterapia adjuvante. Além disso, os autores também não observaram diferenças estatisticamente significativas na resposta à terapêutica, entre os portadores e não portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*. Assim, ficou patente a necessidade da realização de mais estudos para averiguar a eficácia de ambos os regimes nestes doentes.

3.1.6.2. Radioterapia

A radioterapia é uma conhecida abordagem terapêutica localizada, visto que, geralmente, é apenas administrada nas regiões onde o tumor se encontra. Dependendo da maneira como é aplicada, a radioterapia pode ser: interna, também designada de braquiterapia, onde pequenos

implantes que contêm material radioativo são aplicados diretamente na zona do tumor; ou externa, onde um feixe de radiação ionizante específico e externo é direcionado para o local onde se encontra o tumor. Tal como a quimioterapia, a radioterapia possuiu objetivos mais específicos consoante o estadiamento do tumor, podendo ser classificada como radioterapia adjuvante, neoadjuvante ou paliativa. Como efeitos adversos frequentes associados à realização da radioterapia destacam-se astenia, edemas, irritações da pele, perda de cabelo, entre outros [99].

De facto, existem várias técnicas que podem ser usadas aquando da realização desta terapia, visto que a abordagem radioterapêutica varia com o tipo de tumor, a própria anatomia do doente e também com a localização do tumor. Uma das técnicas mais usadas nestes tratamentos é denominada de radioterapia de intensidade modulada (IMRT, do inglês *“intensity-modulated radiation therapy”*). Esta faz uso de aceleradores lineares, que emitem fotões através de vários feixes, com o intuito de irradiar, de uma forma segura e precisa, um determinado volume tumor, conseguindo minimizar a dose no tecido saudável circundante. A arcoterapia volumétrica modulada (VMAT, do inglês *“volumetric modulated arc therapy”*) é um tipo específico de IMRT que, por sua vez, também se concentra na irradiação do tumor, tentando sempre salvaguardar os tecidos saudáveis. Na verdade, este distingue-se do tradicional IMRT, pois é um tratamento mais rápido (concluído em menos de 2 minutos) e que fornece um feixe de radiação contínua segundo um arco (e não segundo vários feixes com diferentes ângulos). Outra abordagem radioterapêutica que também faz uso de fotões é a radioterapia conformacional 3D (3D-CRT, do inglês *“three-dimensional conformal radiotherapy”*). Esta técnica, tal como as anteriores, também tem como principal objetivo a irradiação das massas tumorais, tentando salvaguardar os tecidos sãos. A 3D-CRT, de uma forma simplificada, difere dos outros métodos, pois é usado especificamente para tratar tumores que se encontram muito próximos de órgãos e de estruturas vitais. Por outro lado, destaca-se a inovadora terapia com prótons. Teoricamente, a profundidade de deposição nos tecidos, ao contrário do que acontece com os fotões, é mais controlada, havendo um comprometimento mínimo dos tecidos saudáveis, pois a maior parte da dose de radiação fornecida vai incidir sobre o alvo [100]. Desta maneira, espera-se que a terapia de prótons consiga diminuir o risco de complicações graves, decorrentes da exposição à radiação ionizante.

Radioterapia e cancro da mama

Durante as primeiras décadas em que se realizaram tratamentos de radioterapia em doentes com cancro da mama, foi relatado e documentado, de forma consistente, o controlo local da doença, mas não foi observado impacto significativo na taxa de sobrevivência destes doentes. Atualmente, quase 90 anos após o seu primeiro uso como terapia para este tipo específico de tumor, sabe-se que a radioterapia tem um impacto significativo na taxa de sobrevivência destes doentes, bem como no controlo da doença. Na verdade, os desafios atuais focam-se na procura de novas técnicas associadas à maximização dos benefícios por detrás do uso de radiação ionizante em doentes com cancro da mama (Figura 15) e, simultaneamente, na diminuição da sua conhecida toxicidade, especialmente em órgãos como o coração e os pulmões [100].

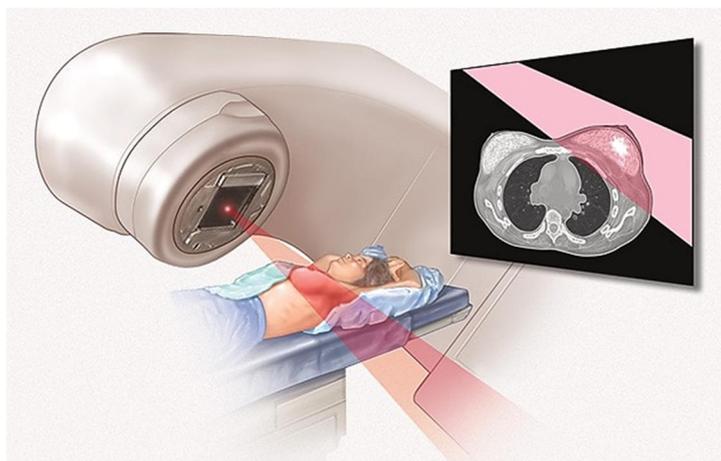


Figura 15 - Representação esquemática da administração de radioterapia externa quando da existência de um carcinoma mamário. Retirado de <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/radiation-therapy-for-breast-cancer/about/pac-20384940>

Whole breast radiation therapy – WBRT

A WBRT (Figura 16) tornou-se a abordagem terapêutica padrão para o tratamento da maioria das mulheres diagnosticadas com cancro da mama invasivo em estágio inicial e em mulheres diagnosticadas com carcinoma ductal *in situ*, na sequência de uma cirurgia mamária (radioterapia adjuvante). Esta abordagem terapêutica faz uso de radiação-X de alta energia, tendo em vista a remoção das células cancerígenas que não conseguiram ser eliminadas na própria cirurgia. . Mesmo assim, e apesar do planeamento de radioterapia pós-mastectomia ser muito mais complexo em doentes diagnosticados com cancro da mama em fase avançada, esta terapia também deve ser administrada nestes indivíduos, visto que se têm obtido resultados bastante promissores. De facto, tem-se verificado que o controlo local deste tipo de cancro nestes doentes, após a realização de WBRT, é de cerca de 60% a 70% e que a taxa de sobrevivência aumentou aproximadamente 10% [101]. Contudo, tal como todas as técnicas, esta também possui desvantagens, tais como a exposição de tecido saudável à radiação ionizante, nomeadamente o pulmão, o coração e a parede torácica, assim como o facto deste tratamento ter curta duração. Este baseia-se na administração de, pelo menos, 15 frações, podendo durar entre 3 e 5 semanas [102]. Avanços tecnológicos significativos têm permitido a irradiação de regiões-alvo bastante mais específicas (como é o caso das cadeias de drenagem linfática mamária) e a redução das doses administradas aos doentes aquando da realização desta terapia. Assim, prevê-se que estes avanços irão ter um papel fundamental na diminuição da toxicidade associada à irradiação de tecidos e órgãos saudáveis, incluindo o coração [101].

Na verdade, a WBRT pode ser executada através do uso de várias técnicas de tratamento, tais como o 3D-CRT, a IMRT ou a VMAT [103].

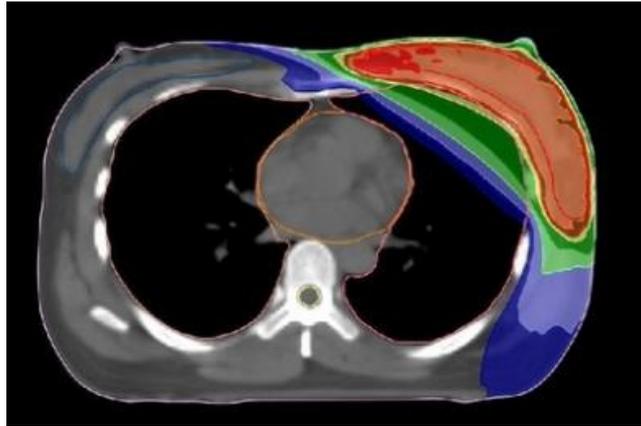


Figura 16 - Planeamento de uma WBRT. Retirado de <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/513708/>

Accelerated partial breast irradiation- APBI

A APBI (Figura 17) é um tipo de radioterapia localizada que trata a área específica da mama onde o tumor foi removido. Este tratamento é, de uma forma geral, mais recomendado após a realização de uma mastectomia em mulheres que tenham sido diagnosticadas com cancro da mama numa fase inicial, desde que o tumor seja pequeno, as margens cirúrgicas sejam claramente visíveis e que não existam sinais de neoplasias nos gânglios linfáticos. Esta abordagem terapêutica oferece várias vantagens, sendo a principal o facto da irradiação do tumor ser bastante precisa, minimizando-se a exposição à radiação ionizante dos órgãos e tecidos saudáveis circundantes (incluindo coração, pulmões, costelas, músculos e pele). Além disso, a APBI é administrada somente durante alguns dias, o que não se verifica na maioria das outras formas de radioterapia, em que normalmente são necessárias várias semanas para completar a maioria dos tratamentos. Devido às suas características únicas, este tipo de abordagem terapêutica é administrada, geralmente, em situações de braquiterapia, podendo também ser usada aquando da realização de TomoTherapy, um tipo avançado de terapia radioativa por feixe externo que combina o uso de imagens tridimensionais com o uso de feixes de alta energia [104].

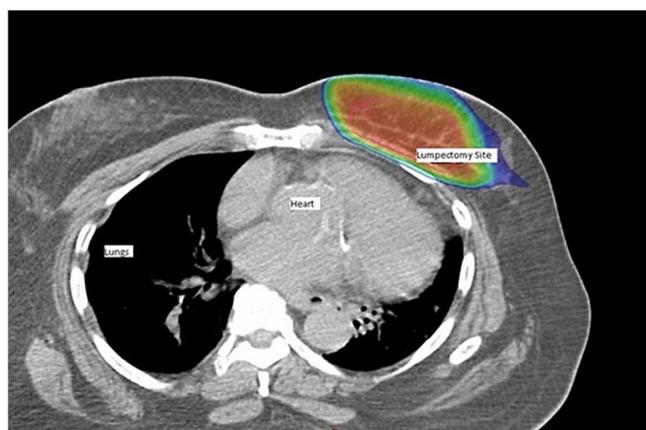


Figura 17 - Planeamento de uma APBI. Retirado de <https://www.pennmedicine.org/for-health-care-professionals/for-physicians/physician-education-and-resources/clinical-briefings/2017/june/enrolling-clinical-trials-proton-radiotherapy-for-accelerated-partial-breast-irradiation-in-stage-0-i---ii-breast-cancer>

Intraoperative radiation therapy - IORT

A IORT (Figura 18) é uma técnica que envolve a administração precisa de uma grande dose de radiação ionizante no tumor durante a realização de uma determinada cirurgia. Como esta é realizada aquando de uma intervenção cirúrgica, a visualização direta da localização do tumor e a capacidade de se poder afastar os tecidos saudáveis circundantes permite que exista uma maximização da administração da dose no tumor, minimizando-se a exposição dos tecidos normais à radiação ionizante. Embora esta terapia já exista desde a década de 1960, nos últimos anos, devido ao aparecimento dos aceleradores lineares e dos dispositivos IORT de baixa kilovoltagem, verificou-se um ressurgimento da popularidade desta abordagem terapêutica. Do ponto de vista funcional, a IORT pode ser realizada através do uso de eletrões ou de raios-X de baixa kilovoltagem. Ao longo dos anos, a IORT tem demonstrado ser bastante eficaz no tratamento de uma ampla variedade de tumores, tais como tumores intra-abdominais, cancro colorretal recorrente, tumores ginecológicos e também em tumores dos tecidos moles. Recentemente, esta terapia emergiu como uma opção de tratamento atraente para casos de cancro da mama numa fase inicial, pois é possível concluir todo o curso da radioterapia durante a cirurgia [105].

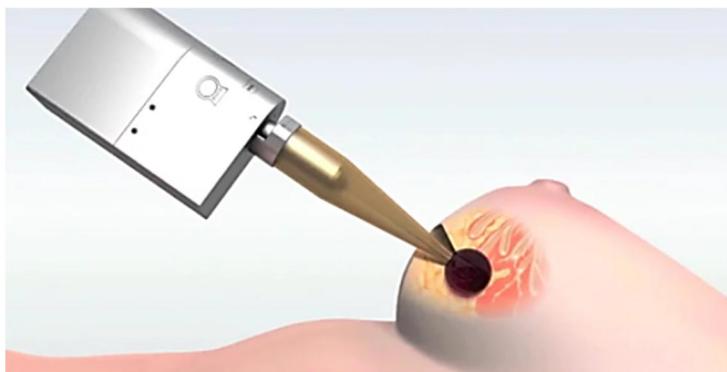


Figura 18 - Representação esquemática de uma IORT. Através da figura é possível observar a administração de uma única e elevada dose de radiação ionizante aquando da remoção de um carcinoma mamário. Retirado de <https://mdmercy.com/centers-of-excellence/womens-health/breast-center/treatments-we-offer/radiation-therapy/iort>

Vários estudos de fase II relativos ao uso da IORT em doentes diagnosticados com tumor mamário demonstraram excelentes resultados no controlo precoce do tumor, na taxa de sobrevivência dos doentes e também a nível dos resultados estéticos [105]. Dois grandes estudos de fase III, denominados de TARGIT-A (radioterapia intraoperatória direcionada) [106] e de ELIOT (radioterapia intraoperatória com uso de eletrões)[107], procederam à avaliação do papel da IORT no tratamento do tumor mamário (através da administração de uma dose única), tendo como objetivo a comparação dos resultados dessa terapia com os resultados decorrentes do uso da WBRT. Em ambos os estudos, foi demonstrado que a taxa de resposta dos doentes à IORT foi significativamente maior do que aquela verificada com a técnica WBRT (TARGIT-A: 2,1% vs. 1,1%; ELIOT: 4,4% vs. 0,4%), apesar da taxa de sobrevivência global não ter diferido entre esses mesmos grupos (TARGIT-A: 97,4% vs. 98,1% ; ELIOT: 96,8% vs. 96,9%).

Radioterapia e cancro do ovário

No passado, a radioterapia foi frequentemente usada para o tratamento de doentes com cancro do ovário. Estudos retrospectivos mostraram que a radioterapia pode levar a um aumento significativo da taxa de sobrevivência destes doentes, podendo até resultar na cura, em alguns casos. Mesmo assim, apesar de existir uma melhoria significativa na redução do tamanho e até no controlo desses tumores, foi-se verificando que este tipo de terapia também comprometia uma grande quantidade de órgãos e tecidos vitais que se encontravam perfeitamente sãos. Desta maneira, passou-se a recomendar cada vez menos a realização de radioterapia no cancro do ovário, visto que a relação risco-benefício era bastante duvidosa [108].

Nos últimos anos, devido ao aparecimento de esquemas de fracionamento inovadores e à descoberta de técnicas cada vez mais avançadas que, por sua vez, permitiram expor menos órgãos saudáveis à radiação, tem-se observado um interesse cada vez maior no uso desta modalidade de tratamento. Técnicas de radioterapia inovadoras combinadas com uma compreensão cada vez mais sofisticada dos mecanismos moleculares subjacentes à radiosensibilidade estão, de facto, a permitir a descoberta de terapias inovadoras para tratar mulheres diagnosticadas com cancro do ovário [108].

3.1.6.3. Terapia Dirigida

Atualmente, a medicina personalizada procura utilizar terapias direcionadas inovadoras que sejam dotadas de uma maior seletividade e eficácia na administração a doentes oncológicos. É exemplo a inibição das enzimas poli (ADP-ribose) polimerases (PARPs, do inglês “*poly (ADP ribose) polymerases*”) presentes em tumores que, por sua vez, possuem um defeito na via de recombinação homóloga do DNA [109]. As PARPs constituem uma família de enzimas responsáveis pela catalização da transferência da ADP-ribose para certas proteínas alvo, desempenhando um papel muitíssimo importante em vários processos celulares, tais como a modulação da estrutura da cromatina, a transcrição, a replicação, a recombinação e a reparação do DNA. De facto, o papel destas proteínas na reparação do DNA é crucial, visto que o desenvolvimento de muitos tipos de tumores decorre da existência de mecanismos de recombinação homóloga defeituosos que, por sua vez, dependem diretamente da reparação eficaz do DNA mediado pelas PARP. Por outro lado, a inibição da atividade destas enzimas também demonstrou ter um impacto gigante no processo apoptótico, fazendo com que este aumente em condições de neoplasias associadas aos genes *BRCA1/2* [110].

A existência de lesões no DNA e a consequente falha na sua reparação são responsáveis pela indução de várias mutações que, por sua vez, impulsionam o desenvolvimento da maioria dos tumores. As células saudáveis defendem-se contra os efeitos deletérios causados pelas lesões no DNA através de uma série de vias moleculares inter-relacionadas que constituem a DDR. Esta reconhece a lesão existente no DNA, impede a progressão do ciclo celular e medeia a reparação do DNA, tendo um papel de extrema importância na manutenção da integridade do genoma. As PARPs são um dos elementos chave para que este mecanismo de resposta às lesões no DNA consiga atuar de forma correta [111]. Mais concretamente, foi observado que o mRNA da PARP1, uma das enzimas mais conhecidas da família PARP, se encontra sobre-expresso em vários tipos de tumores primários, nomeadamente em tumores da mama, endométrio, pulmão, ovário e pele. Em particular, é também importante salientar que foi observada uma sobre-expressão da PARP1 em CMTN, o tipo de tumor que se desenvolve com maior frequência em portadores de mutações no gene *BRCA1* [110]. De facto, é sabido que esta importante enzima

está envolvida na reparação das SSBs do DNA através do processo de reparação por excisão de base (BER, do inglês “base excision repair”). Na ausência da reparação mediada por PARP1, o que se verifica é que as SSBs do DNA degeneram, evoluindo para DSBs. Estas vão ser reparadas através do processo de recombinação homóloga que, por sua vez, depende inteiramente do correto funcionamento das proteínas BRCA1/2. Assim, uma deficiência no processo BER pode, efetivamente, ser compensada pelo processo de recombinação homóloga, desde que a função dos genes *BRCA1/2* esteja a ser exercida corretamente. No entanto, as células cancerígenas existentes em muitos dos portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* têm a sua capacidade de reparação via recombinação homóloga comprometida. Assim, a inibição da atividade da PARP1 irá fazer com que as SSBs do DNA não possam ser reparadas via BER degenerando, consequentemente, em DSBs, que também não podem ser reparadas pela recombinação homóloga, resultando em morte celular. Como os processos de reparação do DNA permanecem intactos em células saudáveis, que geralmente possuem, pelo menos, uma cópia funcional dos genes *BRCA1* e *BRCA2*, a inibição das PARP apenas atua de forma seletiva na morte das células cancerígenas, não comprometendo as células saudáveis. Desta forma, os inibidores da PARP1 conseguem evitar a multiplicação das células cancerígenas e promover, simultaneamente, a sua eliminação. Esta relação entre os genes *PARP1* e *BRCA1/2* é considerada uma relação "letal sintética" (Figura 19), uma vez que a deficiência em ambos os componentes génicos resulta na morte das células cancerígenas [112]. Estas recentes descobertas permitem então inferir que a via PARP e sua consequente inibição (de forma isolada ou em conjunto com outros agentes que provoquem lesões no DNA) oferecem uma série de oportunidades que podem ser implementadas como estratégias terapêuticas em doentes oncológicos, nomeadamente em doentes com a síndrome HBOC.

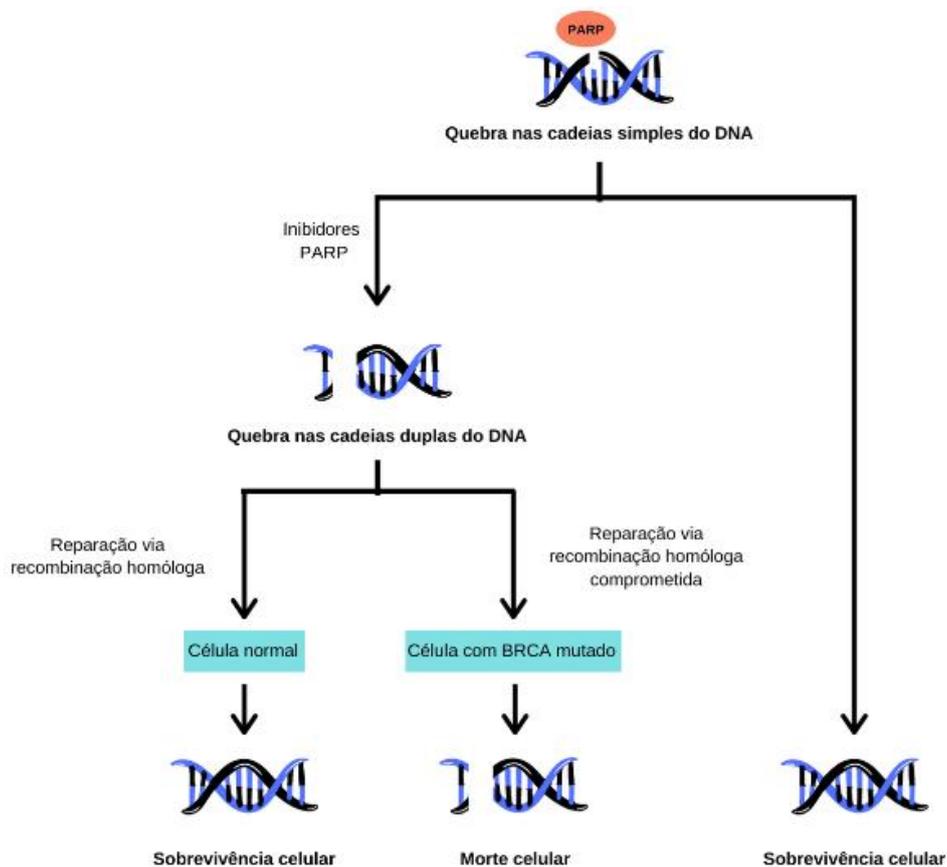


Figura 19 - Representação esquemática do papel dos inibidores PARP na “letalidade sintética”. As PARPs desempenham um papel fundamental na reparação das lesões no DNA. Em particular, a PARP1 liga-se às quebras existentes nas SSBs, recrutando outras enzimas necessárias para reparar as lesões aí existentes. Se o processo de reparação de SSBs falhar, o mais provável é que estas degenerem, passando a existir DSBs; assim, a inibição das PARP pode induzir lesões adicionais ao DNA. No entanto, as lesões no DNA, que surgem com frequência durante cada ciclo celular, também podem ser reparadas por mecanismos de recombinação homóloga. Os genes BRCA1/2 codificam elementos chave dessas vias de reparação por recombinação homóloga e, portanto, os tumores que verifiquem mutações nesses genes apresentam deficiências no processo de reparação do DNA. Esta vulnerabilidade constitui a base da terapia “letal sintética” que utiliza inibidores PARP em doentes com cancro da mama e do ovário que possuam mutações nos genes BRCA1/2. As lesões no DNA que ocorrem após a inibição da atividade das PARP não conseguem ser corretamente reparadas nessas situações e, eventualmente, resultam em instabilidade cromossômica, bloqueio da progressão do ciclo celular e subsequente na morte celular das células cancerígenas por apoptose.

A compreensão mais aprofundada acerca da composição molecular de muitos tumores impulsionou o desenvolvimento de tratamentos cada vez mais precisos e personalizados, tendo em consideração todas as vulnerabilidades associadas a cada tipo de tumor. Na verdade, muitos dos casos diagnosticados com cancros da mama e do ovário são atribuídos à existência de complicações genéticas que, por sua vez, resultam no aparecimento de mutações nos genes BRCA1/2 e de deficiências no processo de recombinação homóloga. Desta maneira, a inibição da via PARP começou a ser bastante, estudada aquando da identificação destas mutações em indivíduos com tumores mamários e ováricos, o que resultou no surgimento de muitos agentes inibidores da PARP, destacando-se o Olaparib, o Rucaparib e o Talazoparib (o Niraparib e o Velaparib também são conhecidos inibidores da via PARP, mas não estão especificamente associados à presença de mutações nos genes BRCA1/2).

Olaparib

O Olaparib, o primeiro inibidor da via PARP que foi investigado, é, atualmente, comercializado sob o nome de Lynparza® (AstraZeneca). Foi demonstrada a inibição, *in vitro*, do crescimento de linhas celulares de cancro da mama HER2 negativo, de cancro do ovário, da trompa de Falópio ou peritoneal primário e de adenocarcinoma metastático do pâncreas [113]. Foi igualmente demonstrada a inibição, *in vivo*, do crescimento de determinados tipos de tumores, seja em monoterapia ou em combinação com quimioterapias estabelecidas [113]. Na Europa, este tipo específico de monoterapia direcionada é indicada para o tratamento de:

- doentes adultas diagnosticadas com cancro do ovário, da trompa de Falópio, ou peritoneal primário, epitelial de alto grau, avançado (estádios FIGO III e IV), com mutação nos genes BRCA1/2 (germinativa e/ou somática) em resposta (completa ou parcial) após completarem a primeira linha de quimioterapia à base de platina;
- doentes adultas com cancro do ovário, da trompa de Falópio, ou peritoneal primário, epitelial de alto grau, recidivado e sensível a platina, em resposta (completa ou parcial) a quimioterapia à base de platina;
- doentes adultos com mutações BRCA1/2 germinativas, que têm cancro da mama metastático ou localmente avançado HER2 negativo;

- doentes adultos com mutações *BRCA1/2* germinativas que têm adenocarcinoma metastático do pâncreas e não progrediram após um período mínimo de 16 semanas de tratamento com platina num regime em primeira linha de quimioterapia [113].

Tal como qualquer fármaco, este apresenta efeitos colaterais, sendo os mais comuns as náuseas, os vômitos, a perda de apetite, as dores musculares e articulares e a anemia [114].

O primeiro estudo em torno deste promissor inibidor contou com 50 mulheres diagnosticadas com cancro do ovário em estágio avançado, com mutações ou suspeitas de mutações nos genes *BRCA1/2*. *Fong* e colegas [115], através da análise dos resultados obtidos, perceberam que existem subtipos específicos de doentes que podem apresentar uma melhor resposta ao tratamento com Olaparib. De facto, verificou-se que cerca de 46% dos indivíduos do estudo que, por sua vez, tinham apresentado uma boa resposta à quimioterapia baseada em platina, obtiveram melhores resultados aquando da administração de Olaparib, em comparação com os que não se tinham mostrado sensíveis a compostos de platina [116]. Mais tarde, estes resultados foram reforçados por outros dois estudos desenvolvidos por *Pujade-Lauraine* [117] e por *Ledermann* [118]. O primeiro estudo mencionado contou com a presença de 295 doentes diagnosticadas com cancro do ovário recorrente, cancro nas trompas de Falópio ou cancro peritoneal e demonstrou ser bastante promissor, uma vez que as doentes que receberam Lynparza® viveram, em média, 19,1 meses sem que a doença progredisse, em comparação com as doentes placebo, que viveram apenas 5,5 meses nessas mesmas condições. Também o estudo conduzido por *Ledermann* e colegas obteve resultados semelhantes. Este incluiu 295 doentes diagnosticadas, apenas, com cancro avançado do ovário, tendo-se verificado que aquelas a quem foi administrado o fármaco sobreviveram 8,4 meses sem que o tumor progredisse, enquanto que as doentes do grupo placebo sobreviveram apenas 4,8 meses sem qualquer reincidência tumoral. Na verdade, foram os resultados de ambos os estudos que fizeram com que a FDA, em 2014, aprovasse a administração de uma dose de 400 mg de Olaparib, por dia, em doentes previamente identificados com mutações na linha germinativa *BRCA1/2* e diagnosticadas com cancro do ovário avançado que, por sua vez, já tinham sido sujeitos a três ou mais linhas de quimioterapia. Na Europa, a situação foi abordada de maneira diferente, também nesse mesmo ano. Tal como a FDA, a EMA, também definiu a administração de Olaparib como monoterapia mas aprovou o seu uso apenas em doentes diagnosticadas com tumores serosos do ovário num estágio avançado, que tivessem demonstrado ser sensíveis aos tratamentos de quimioterapia com compostos de platina [116],[119]. Mais tarde, a divulgação de um estudo que envolvia 391 doentes com cancro avançado do ovário e que apresentavam mutações nos genes *BRCA1/2* veio provar que o tumor não se agravou em cerca de 74% dos casos que tinham sido tratados com Lynparza® durante 2 anos [120]. Posto isto, em Agosto de 2017, a administração de Olaparib foi estendida, pela FDA, para o tratamento de adultos diagnosticados com cancro epitelial do ovário, cancro nas trompas de Falópio e também para o cancro peritoneal recorrente, tendo estes que apresentar, como condição, uma resposta completa ou parcial à quimioterapia à base de platina [121]. Em Dezembro de 2018, a FDA voltou a rever esta última aprovação, tendo determinado que, para além dos doentes considerados anteriormente, indivíduos diagnosticados com cancro do ovário epitelial avançado que possuíam mutações nos genes *BRCA1/2*, também deveriam de ser selecionados para usufruir desta mesma terapia [122].

Assim, o Olaparib apresentava-se como um inibidor promissor com potencial para ser usado no tratamento do tumor ovárico, podendo, também, desempenhar um papel fundamental na abordagem terapêutica eficaz para cancros da mama. Em 2017, um estudo

conduzido por *Robson et al.* [123], que incluiu 302 doentes diagnosticados com cancro da mama HER2 negativo e portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*, demonstrou que os doentes tratados com Lynparza® sobreviveram, em média, 7,0 meses sem que a doença evoluísse. Por outro lado, os doentes que realizaram outras abordagens terapêuticas verificaram um período livre da doença de apenas 4,2 meses. Um ano depois, em 2018, este agente terapêutico, em ensaios clínicos de fase III relativos ao cancro da mama, demonstrou uma atividade antitumoral promissora em doentes portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*, o que garantiu a aprovação do Olaparib, nos Estados Unidos, para o tratamento de tumor mamário metastático em indivíduos portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* [124]. Também em 2018, dois estudos de fase III tentaram avaliar a eficácia do Olaparib em diferentes estádios do cancro da mama. Um destes estudos, designado de *OlympiA*, teve como objetivo verificar se o uso do Olaparib como agente terapêutico, em casos de indivíduos diagnosticados com cancro da mama HER2 negativo e que possuíam mutações nos genes *BRCA1/2*, teria algum efeito benéfico significativo após a realização de tratamentos de quimioterapia neoadjuvante ou adjuvante [116]. Mais recentemente, em dezembro de 2019, a aplicabilidade deste medicamento foi atualizada, tendo obtido aprovação para ser administrado em casos de diagnóstico de adenocarcinomas do pâncreas metastáticos em portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*.

Em Portugal, a administração de Lynparza® só foi autorizada pelo Infarmed em 2017, para o tratamento de doentes adultas com cancro do ovário, da trompa de Falópio, ou peritoneal primário, epitelial seroso de alto grau, recidivado, sensível a platina, com mutação nos genes *BRCA1/2* (germinativa e/ou somática) que respondesse (resposta parcial ou completa) a quimioterapia à base de platina [113].

Rucaparib

O Rucaparib, comercializado sob o nome de Rubraca® (Clovis Oncology), também é um inibidor da família das enzimas PARP, usado para o tratamento de:

- doentes adultas em que o cancro do ovário, da trompa de Falópio, ou peritoneal primário, epitelial de alto grau, tenha diminuído ou até mesmo desaparecido em resposta (completa ou parcial) a quimioterapia à base de platina;
- doentes adultas com mutação nos genes *BRCA1/2* (germinativa e/ou somática) em que o cancro do ovário, da trompa de Falópio, ou peritoneal primário, epitelial de alto grau, tenha recidivado ou piorado após a administração de 2 tratamentos de quimioterapia à base de platina (funcionando como terapêutica de 3ª linha) [125].

Este fármaco foi aprovado em 2018, tanto nos Estados Unidos [126] como na Europa [127]. Até ao momento, em Portugal, a administração de Rubraca® ainda não foi aprovada. Os efeitos adversos mais frequentemente associados a este agente terapêutico foram astenia, náuseas, aumento dos níveis de creatinina e de enzimas hepáticas no sangue, anemia, anorexia, disgeusia (distúrbios do paladar), diarreia, trombocitopenia e dor abdominal. Sabe-se ainda que, após a aprovação do Rubraca® pela FDA, foram iniciados os estudos TRITON2 e TRITON3 mCRPC (do inglês, “*metastatic castration-resistant prostate cancer*”), com o objetivo de se determinar qual o papel deste fármaco em doentes diagnosticados com cancro da próstata neste estádio [128].

O Rucaparib foi, efetivamente, um dos primeiros inibidores da via PARP a ser desenvolvido. Um primeiro importante estudo, designado de ARIEL2, que tinha o objetivo de proceder à avaliação deste fármaco em casos de cancro do ovário, recrutou principalmente mulheres que

não possuíam mutações nos genes *BRCA1/2*. Assim, o estudo concentrou-se apenas no desenvolvimento de uma deficiência no processo de recombinação homóloga das células desse tipo de tumor, com o intuito final de se conseguir perceber qual seria a resposta destas na presença do Rucaparib. Em 2014, no decorrer desse estudo, demonstrou-se que a taxa de controlo da doença em doentes diagnosticadas com tumor ovárico sensível à platina e com mutações nos genes *BRCA1/2*, foi cerca de 75% [116]. Estes resultados fizeram com que a fase III dos ensaios clínicos relativos à administração de Rucaparib pudesse prosseguir, sendo esta nova fase denominada de ARIEL3. Esta recrutou 564 doentes diagnosticadas com cancro do ovário que tinham obtido respostas parciais ou completas aos tratamentos de quimioterapia com platina, sendo que entre 180 e 220 delas possuíam mutações nos genes *BRCA1/2*. De facto, constatou-se que o tempo livre de doença, associado às doentes que receberam Rubraca® (375 doentes) foi de 11 meses, comparativamente aos 5 meses para as 189 doentes do grupo placebo. Por último, o estudo ARIEL4 foi iniciado, com o principal objetivo de avaliar se doentes diagnosticadas com aquele tipo de tumor responderão melhor ao tratamento com Rucaparib do que à quimioterapia convencional. A data estimada definida para a avaliação dos primeiros resultados é junho de 2022 [116].

Relativamente ao seu papel no tratamento do cancro da mama, é sabido que o Rucaparib se encontrava na fase II dos ensaios clínicos, no ano de 2018, como possível abordagem terapêutica em casos de cancro da mama metastáticos que possuíssem os genes *BRCA1/2* mutados [116].

Talazoparib

O Talazoparib, comercializado sob o nome de Talzenna® (Pfizer), é um inibidor PARP, que foi desenvolvido para o tratamento de:

- doentes diagnosticados com cancro da mama HER2-negativo e com mutações nos genes *BRCA1/2* localmente avançado ou metastático, após estes terem sido tratados com fármacos que deixaram de ter qualquer efeito ou quando não existem outros fármacos adequados [129].

Este medicamento foi aprovado, em outubro de 2018, pela FDA [130] e, em junho de 2019, pela EMA [131]. Até ao momento, em Portugal, a administração de Talzenna® ainda não foi aprovada. Os efeitos colaterais associados ao Talzenna® são anemia, neutropenia e trombocitopenia. Outros efeitos adversos, tais como cefaleias, náuseas, perda de cabelo e fadiga, foram denotados como sintomatologia pouco frequente [131].

De facto, um primeiro estudo *in vitro*, de *Shen et al.* [132], divulgado em setembro de 2013, mostrou que o Talazoparib possuía um efeito 20 vezes superior quando comparado com os inibidores de PARP já existentes, o Olaparib e o Rucaparib. Além disso, neste estudo, foram também relatados efeitos antitumorais sinérgicos e aditivos aquando da administração combinada de Talzenna® com outros agentes citotóxicos. Em 2018, a realização de um estudo, envolvendo 431 doentes diagnosticados com cancro da mama HER2-negativo e identificados com mutações nos genes *BRCA1/2*, demonstrou que a administração de Talazoparib aumentou significativamente a taxa de sobrevivência. Os indivíduos tratados com Talzenna® viveram, em média, 8,6 meses sem que a doença progredisse, enquanto os doentes sujeitos a outras abordagens terapêuticas sobreviveram aproximadamente 5,6 meses nessas mesmas condições [133].

3.1.7. HBOC e efeitos da radiação ionizante

Portadores de mutações heterozigóticas nos genes *BRCA1/2* têm um risco bastante aumentado de desenvolverem cancro da mama e cancro do ovário. Sabendo que as proteínas *BRCA1/2* são cruciais na reparação das DSBs do DNA, a exposição destes indivíduos à radiação ionizante, seja através dos exames de vigilância e de diagnóstico ou da realização de radioterapia, pode estar associada a um aumento ainda maior desse risco. Na tentativa de se esclarecer se, efetivamente, estes doentes são mais suscetíveis à exposição à radiação ionizante, têm sido realizados, ao longo dos anos, inúmeros estudos neste sentido.

3.1.7.1. Radiação ionizante associada aos exames de vigilância e diagnóstico

Atualmente, as técnicas imagiológicas de diagnóstico que utilizam radiação ionizante constituem uma ferramenta essencial para o uso médico, visto que as informações por elas fornecidas conseguem prevenir, diagnosticar e determinar qual o tipo de radioterapia que deve ser administrada. Visto que se verifica um aumento bastante significativo na realização destes exames, é crucial garantir a justificação e a otimização dos protocolos de imagem médica e incluir informações sobre a exposição como parte do relatório dos exames médicos. Por sua vez, estudos epidemiológicos retrospectivos mostraram que a exposição a baixas doses de radiação ionizante é capaz de induzir o desenvolvimento de cancro em portadores de algumas mutações, principalmente nos genes *BRCA1/2*. No entanto, devido à falta de evidências específicas, estes resultados foram considerados como inconsistentes e inconclusivos. Além disso, ainda não existem diretrizes ou recomendações que definam o limite da dose de exposição ou qual o método de imagem mais adequado nestes casos, o que dificulta bastante a situação.

Estudos

➤ ***Sharan et al. (1997)*** [134]

Foi apenas no ano de 1997 que foi abordada, pela primeira vez, a hipótese de que portadores de mutações nos genes *BRCA2* poderiam apresentar uma maior radiosensibilidade que a população em geral. Os autores deste estudo procederam à análise do padrão da expressão embrionária presente nos genes *BRCA2* de embriões de ratos, tentando perceber se existiam diferenças significativas neste mesmo padrão aquando da existência de mutações neste gene. Os resultados demonstraram que, na presença de proteínas *BRCA2* mutadas, se podem observar 3 cenários, destacando-se o facto de um deles ter constatado que estes embriões mutados apresentavam uma maior radiosensibilidade do que aqueles que apresentavam proteínas *BRCA2* funcionais, aquando da exposição a 400 rad de radiação- γ (4 Gy). Estes estudos, apesar de inconclusivos, foram cruciais, visto que levantaram preocupações relativas às possíveis consequências da radioterapia em doentes identificados com mutações no gene *BRCA2*.

➤ ***Narod et al. (2006)*** [135]

O objetivo por detrás da realização deste estudo de coorte retrospectivo foi avaliar se a exposição à radiação ionizante decorrente da realização de mamografias estava associada ao aumento do risco de desenvolvimento de cancro da mama em portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*. Este estudo incluiu 3200 mulheres previamente identificadas com mutações nos genes *BRCA1/2*, sendo que metade (n=1600) tinham sido diagnosticadas com cancro da mama. Cada uma das participantes respondeu a um questionário, através do qual foi possível recolher dados acerca do número de mamografias que cada mulher já tinha realizado, assim como a idade correspondente à primeira a mamografia de rastreio.

Tabela 2- Relação entre a idade relativa à 1ª mamografia e o risco de desenvolvimento de cancro da mama em portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*. (A) - Relação entre a idade relativa à 1ª mamografia e o risco de desenvolvimento de cancro da mama em 1600 portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* sem cancro da mama vs. 1600 portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* com cancro da mama; (B) – Relação entre a idade relativa à 1ª mamografia e o risco de desenvolvimento de cancro da mama em 1260 portadoras de mutações no gene *BRCA1* sem cancro da mama vs. 1260 portadoras de mutações no gene *BRCA1* com cancro da mama; (C) - Relação entre a idade relativa à 1ª mamografia e o risco de desenvolvimento de cancro da mama em 340 portadoras de mutações no gene *BRCA2* sem cancro da mama vs. 340 portadoras de mutações no gene *BRCA2* com cancro da mama.

(A)	% portadoras de mutações <i>BRCA1/2</i> sem cancro da mama	% portadoras de mutações <i>BRCA1/2</i> com cancro da mama
Idade 1ª mamografia:		
Nunca	48,08	42,75
≤ 30 anos	14,63	12,56
31 -40 anos	<u>22,19</u>	<u>21,38</u>
≥ 41 anos	8,75	7,38
Qualquer idade	<u>45,56</u>	<u>41,31</u>
Falta de dados	6,38	15,94

(B)	% portadoras de mutações <i>BRCA1</i> sem cancro da mama	% portadoras de mutações <i>BRCA1</i> com cancro da mama
Idade 1ª mamografia:		
Nunca	49,60	47,06
≤ 30 anos	13,57	11,98
31 -40 anos	19,44	18,57
≥ 41 anos	8,41	7,14
Qualquer idade	41,4	37,70
Falta de dados	6,83	15,24

(C)	% portadoras de mutações <i>BRCA2</i> sem cancro da mama	% portadoras de mutações <i>BRCA2</i> com cancro da mama
Idade 1ª mamografia:		
Nunca	34,41	26,76
≤ 30 anos	18,53	14,71
31 -40 anos	32,35	31,76
≥ 41 anos	10,00	8,24
Qualquer idade	60,88	54,71
Falta de dados	4,71	18,53

Tendo por base os resultados expostos na Tabela 2, foi possível concluir que:

- ≈41% e ≈46% das mulheres diagnosticadas com cancro da mama e das mulheres pertencentes ao grupo de controlo realizaram, pelo menos, uma mamografia de rastreio, respetivamente;
- a maioria das mulheres, tanto as diagnosticadas com cancro da mama como as pertencentes ao grupo de controlo, realizaram a sua primeira mamografia com uma idade igual ou inferior aos 30 anos de idade (≈21% e ≈22%, respetivamente);
- ≈48% das mulheres diagnosticadas com cancro da mama realizaram a sua primeira mamografia numa idade inferior aquela verificada pelas mulheres pertencentes ao grupo de controlo;
- ≈44% mulheres pertencentes ao grupo de controlo realizaram a sua primeira mamografia numa idade inferior aquela verificada pelas mulheres diagnosticadas com cancro da mama;

Visto que os resultados acima se demonstraram bastante semelhantes entre si, os valores associados ao risco relativo de desenvolvimento de cancro da mama devido à realização de mamografias de rastreio calculados não revelaram ser estatisticamente significativos. Tendo em conta todas as mulheres envolvidas no estudo, estimou-se que o risco geral de portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* desenvolverem cancro da mama primário devido à exposição a baixas doses de radiação ionizante foi 1,03 vezes superior ao risco relativo inerente à população em geral.

➤ **Goldfrank et al. (2006)** [136]

Em 2006, surgiu um estudo de coorte retrospectivo, com o intuito de perceber se existia alguma relação entre a exposição de portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* a baixas doses de radiação ionizante aquando da realização de uma mamografia e o consequente desenvolvimento de um tumor mamário. Este incluiu 213 mulheres previamente identificadas com mutações nos genes *BRCA1/2*, sendo que 85 tinham sido diagnosticadas com cancro da mama há pelo menos 1 ano. Todas as doentes, no início do estudo, relataram o número de mamografias que já tinham realizado até ao momento, a idade inicial com que realizaram a primeira mamografia e o número de mamografias realizadas nos últimos 12 meses.

Desta maneira, estimaram-se as doses cumulativas a que estes grupos de mulheres estiveram expostas ao longo da sua vida, sendo que para as doentes oncológicas essa estimativa foi conseguida através da subtração do número total de mamografias a que já se tinham submetido ao longo da vida pelo número de mamografias recebidas no ano anterior ao diagnóstico de cancro da mama.

Os resultados obtidos mostraram a não significância estatística entre o desenvolvimento de cancro da mama e a exposição das portadoras à radiação ionizante aquando da realização das mamografias (risco relativo geral de 0,94). Esta situação pode dever-se a vários fatores, mas também pode decorrer da pequena proporção de mulheres com idades inferiores a 30 anos que foi incluída neste estudo.

➤ **Andrieu et al. (2006)** [132]

Este estudo de coortes retrospectivo, que envolveu 1601 mulheres previamente identificadas com mutações nos genes *BRCA1/2*, focou-se na análise da possível relação entre o aumento do risco de desenvolvimento de tumor mamário e o número total de radiografias torácicas realizadas por estas portadoras, excluindo mamografias.

Dessas 1601 mulheres, 853 tinham sido diagnosticadas com cancro da mama, fazendo das 748 sem cancro da mama o grupo de controlo. Os resultados deste estudo demonstraram que, de uma forma geral, a exposição a baixas doses de radiação ionizante estava associada a um aumento significativo do risco relativo geral de desenvolvimento de cancro da mama, assumindo um risco 1,54 vezes superior ao risco associado à população geral. Em particular, para mulheres que foram diagnosticadas com cancro da mama com idade inferior ou igual a 40 anos, o risco relativo de desenvolvimento de cancro da mama primário decorrente da exposição à radiação ionizante foi 1,97 vezes superior ao risco de referência. Já para mulheres diagnosticadas com cancro da mama com mais de 40 anos de idade, esse risco mostrou ser 1,27 superior ao da população geral. Desta forma, foi possível perceber que o risco de desenvolver este tipo de tumor era significativamente superior em mulheres com menos de 40 anos de idade, tendo-se, seguidamente, discriminado alguns fatores associados à exposição dessas mulheres à radiação ionizante: as idades em que realizaram as radiografias torácicas; os diferentes períodos em que essas realizaram esse tipo de exames; o número de radiografias torácicas que já tinham realizado ao longo da sua vida. Através da análise destes dados, verificou-se que o risco relativo de mulheres com uma idade inferior a 20 anos desenvolverem cancro da mama, decorrente da exposição a baixas doses de radiação ionizante, era 5,21 vezes superior ao risco da população geral. Já para mulheres com idades compreendidas entre os 20 e os 40 anos, esse risco apresentava-se 1,91 vezes superior ao risco padrão. Relativamente ao número total de radiografias torácicas realizadas por essas mulheres, foi possível verificar que aquelas que já tinham realizado entre 1 e 4 radiografias torácicas apresentavam um risco de desenvolvimento de cancro da mama 1,76 vezes superior ao risco associado à população em geral, enquanto que aquelas que já tinham realizado mais de 4 radiografias torácicas possuíam um risco 2,69 superior ao risco de referência.

Com o objetivo de se tentarem obter resultados ainda mais fidedignos, os autores analisaram ainda um 2º conjunto de indivíduos, tendo excluído do grupo inicial as mulheres que tinham sido entrevistadas muito tempo após terem sido diagnosticadas com cancro da mama. Assim, este novo conjunto apenas incluiu 969 mulheres que apresentavam um período máximo de 5 anos entre o diagnóstico do seu tumor mamário e a realização do inquérito. De uma forma geral, as conclusões observadas a partir da análise deste estudo foram semelhantes aquelas que foram verificadas no grupo anterior, tendo estas sido bastante importantes para reforçarem as mesmas.

Em suma, os resultados deste estudo permitiram verificar que o risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama primário decorrente da realização de radiografias torácicas por portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* era significativamente superior ao risco inerente à população em geral (HR – 1,54). Em particular, foi observado que mulheres que se submetem a este tipo de exames antes de alcançarem os 20 anos de idade são extremamente suscetíveis ao desenvolvimento de cancro da mama primário (HR – 5,21), verificando-se o mesmo para mulheres que realizem, pelo menos quatro radiografias torácicas ao longo da sua vida (HR – 2,69). Assim, este estudo suporta a hipótese de que portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* são mais radiosensíveis do que a população em geral.

➤ **Gonzalez et al. (2009)** [137]

O objetivo deste estudo foi avaliar a existência de uma relação entre o risco de desenvolvimento de cancro da mama e a exposição a baixas doses de radiação ionizante aquando da realização de mamografias por jovens portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*. Com base na análise conjunta de 3 estudos de coorte retrospectivos que incluíram 7600 portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* e que tinham sido expostos à radiação ionizante, os autores estimaram o risco de mortalidade decorrente do desenvolvimento de cancro da mama que estava associado a portadoras de mutações *BRCA1/2* que já tinham realizado, pelo menos, 5 mamografias antes dos 40 anos de idade. Adicionalmente, estes também calcularam a redução que era necessária ser verificada na taxa de mortalidade associada ao rastreio mamário anual para que esta conseguisse superar os riscos inerentes à exposição à radiação ionizante.

Os resultados mostraram que, para portadoras da mutação *BRCA1*, o risco cumulativo de mortalidade associado ao desenvolvimento de cancro da mama induzido pela radiação ionizante era de:

- 26% para aquelas que realizaram, pelo menos, 5 mamografias entre os 25 e os 29 anos de idade;

- 20% para aquelas que realizaram, pelo menos, 5 mamografias entre os 30 e os 34 anos de idade;

- 13% para aquelas que realizaram, pelo menos, 5 mamografias entre os 35 e os 39 anos de idade.

Para compensar esses mesmos riscos, o rastreio mamário anual teria que reduzir a taxa de mortalidade decorrente de cancro da mama em 51% para idades entre os 25 e os 29 anos, em 12% para as idades entre os 30 e os 34 anos, e em 4% para as idades entre os 35 e os 39 anos.

Relativamente às portadoras de mutações no gene *BRCA2*, os valores do risco cumulativo de mortalidade associado ao desenvolvimento de cancro da mama primário demonstraram-se inferiores aos valores estimados para portadoras de mutações no gene *BRCA1*. Contudo, os resultados acabam por refletir uma situação semelhante à verificada para portadoras de mutações no gene *BRCA1*:

- 15% para aquelas que realizaram, pelo menos, 5 mamografias entre os 25 e os 29 anos de idade;

- 12% para aquelas que realizaram, pelo menos, 5 mamografias entre os 30 e os 34 anos de idade;

- 10% para aquelas que realizaram, pelo menos, 5 mamografias entre os 35 e os 39 anos de idade.

Para compensar esses mesmos riscos, o rastreio mamário anual teria que reduzir a taxa de mortalidade decorrente de cancro da mama em 45% para as idades entre os 25 e os 29 anos, em 14% para as idades entre os 30 e os 34 anos, e em 7% para as idades entre os 35 e os 39 anos.

Posto isto, se se assumir que a redução da mortalidade associada à realização de mamografias de rastreio em mulheres jovens ronda valores entre os 15% e os 25%, os resultados

deste estudo sugerem que, de uma forma geral, existe pouco ou nenhum benefício associado à realização do rastreio mamográfico anual em portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* que tenham uma idade compreendida entre os 25 e os 29 anos e os 30 e os 34 anos. Por outro lado, o benefício do rastreio anual só aparenta possuir algum benefício para uma idade superior aos 35 anos de idade.

➤ ***Pijpe et al. (2012)*** [138]

Este estudo de coortes retrospectivo, que envolveu o recrutamento de 1993 portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*, entre os anos de 2006 e de 2009, foi capaz de demonstrar que a exposição destas mulheres à radiação ionizante de diagnóstico, antes destas atingirem os 30 anos de idade, estava associada a um risco aumentado de desenvolvimento de cancro da mama.

Às participantes foi pedido que relatassem, pormenorizadamente, a sua história pessoal de exposição à radiação ionizante de diagnóstico através do preenchimento de um questionário detalhado. Desta forma, foi possível estimar a dose cumulativa mamária a que cada uma das mulheres já tinha sido exposta até (soma da idade e do número específico de procedimentos de diagnóstico autorrelatados multiplicada pelas estimativas nominais das doses correspondentes aos diversos exames mamários). Posto isto, os resultados deste estudo permitiram concluir que:

- para uma dose cumulativa inferior a 2 mGy, o risco relativo de portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* desenvolverem cancro da mama foi 1,59 vezes superior ao risco associado à população em geral;

- para uma dose cumulativa entre 2mGy e 6,5 mGy, o risco relativo de portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* desenvolverem cancro da mama foi 1,78 vezes superior ao risco associado à população em geral;

- para uma dose cumulativa entre 6,6 mGy e 17,3 mGy, o risco relativo de portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* desenvolverem cancro da mama foi 1,75 vezes superior ao risco associado à população em geral;

- para uma dose cumulativa igual ou superior a 17,4 mGy, o risco relativo de portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* desenvolverem cancro da mama foi 2,31 vezes superior ao risco associado à população em geral.

Por outro lado, a análise individual dos diferentes tipos de procedimentos diagnósticos mostrou que esse risco foi mais elevado à medida que aumentava o número de radiografias realizadas por estas mulheres, antes dos 30 anos de idade (em comparação com as mulheres que não tinham reportado nenhuma exposição). A realização de mamografias antes dos 30 anos também foi associada a um risco aumentado de desenvolvimento de cancro da mama, com um valor estimado de cerca de 1,90 vezes superior ao risco associado à população em geral.

Em suma, concluiu-se que o risco relativo geral associado ao desenvolvimento de cancro da mama primário decorrente da realização de mamografias por portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* era significativamente superior ao risco inerente à população em geral (HR – 1,65). Desta maneira, os resultados deste estudo suportam a hipótese que portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* não se devem sujeitar à realização de exames imagiológicos que façam uso de radiação ionizante, optando sempre por técnicas que apenas usem radiação não ionizante, tal como a ressonância magnética.

➤ ***John et al. (2013)*** [139]

Este estudo de coortes retrospectivo pretendeu compreender se a realização de radiografias torácicas poderia, ou não, ser responsável pelo aumento do risco de desenvolvimento de tumor mamário em portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*. Este incluiu 727 portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*, dos quais 454 eram portadoras de mutações nos genes *BRCA1* e 273 eram portadoras de mutações nos genes *BRCA2*, todas com idade inferior a 50 anos. Dessas mulheres, 36% (n=261) tinham sido diagnosticadas com cancro da mama.

Para as portadoras de mutações nos genes *BRCA1*, o histórico de radiografias torácicas de diagnóstico, excluindo mamografias, não revelou estar particularmente associado ao aumento significativo do risco de desenvolvimento de cancro da mama nestas mulheres, visto que o seu valor geral foi apenas 1,16 vezes superior ao valor do risco inerente à população em geral. Mesmo assim, foram calculados riscos relativos considerando parâmetros mais específicos, tais como a idade e o número de radiografias realizadas até ao momento (Tabela 3):

Tabela 3 - Relação entre a idade da 1ª mamografia e o número de radiografias torácicas realizadas por portadoras de mutações no gene *BRCA1* e a suscetibilidade destas desenvolverem cancro da mama.

Risco relativo associado ao desenvolvimento de cancro da mama por portadoras de mutações no gene <i>BRCA1</i>	
Idade < 20 anos	0,56
Idade ≥ 20 anos	1,69
1-2 radiografias torácicas	0,84
3-5 radiografias torácicas	1,22
≥ 6 radiografias torácicas	1,20

Da mesma forma, para portadoras de mutações nos genes *BRCA2*, também não se verificou uma relação significativa os dois fatores supracitados, sendo que o risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama por mulheres que realizaram mais do que uma radiografia torácica ao longo da sua vida era apenas 1,22 vezes superior ao risco de referência. Contudo, à semelhança do que foi feito para os dados referentes às portadoras de mutações no gene *BRCA1*, foram calculados os riscos relativos considerando os mesmos parâmetros (Tabela 4):

Tabela 4 - Relação entre a idade da 1ª mamografia e o número de radiografias torácicas realizadas por portadoras de mutações no gene *BRCA2* e a suscetibilidade destas desenvolverem cancro da mama.

Risco relativo associado ao desenvolvimento de cancro da mama por portadoras de mutações no gene <i>BRCA2</i>	
Idade < 20 anos	1,55
Idade ≥ 20 anos	1,06
1-2 radiografias torácicas	0,80
3-5 radiografias torácicas	10,63
≥ 6 radiografias torácicas	0,89

Posto isto, os resultados deste estudo sugeriram que, para portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* com idade inferior a 50 anos, não se verificou uma relação estatisticamente significativa entre o risco de desenvolvimento de cancro da mama por estas mulheres e o número de radiografias torácicas de diagnóstico realizadas por estas (riscos gerais de 1,16 e de 1,22 para portadoras de mutações no gene *BRCA1* e para portadoras de mutações no gene *BRCA2*, respetivamente). Contudo, verificou-se que portadoras de mutações no gene *BRCA1* se apresentavam mais suscetíveis ao desenvolvimento de um tumor mamário se tivessem uma idade igual ou superior a 20 anos em comparação com mulheres com uma idade inferior a 20 anos, nas mesmas condições (1,69 vs. 0,56). De forma contrária, tendo em conta as portadoras de mutações no gene *BRCA2*, verificou-se que mulheres com uma idade inferior a 20 anos apresentavam um maior risco de desenvolver cancro da mama em comparação com mulheres com uma idade igual ou superior a 20 anos (1,55 vs. 1,06). Por outro lado, o risco relativo associado a portadoras de mutações no gene *BRCA2* que tinham realizado entre 3 e 5 radiografias torácicas, foi significativamente elevado (10,63), mas não para aquelas que já tinham realizado 6 ou mais radiografias torácicas (0,89).

3.1.7.2. Radiação ionizante associada às abordagens radioterapêuticas

Atualmente, as abordagens radioterapêuticas constituem uma ferramenta essencial para o tratamento da maioria dos casos oncológicos [8]. Por sua vez, estudos de coorte retrospectivos mostraram que a exposição de portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* a elevadas doses de radiação ionizante é capaz de induzir o desenvolvimento de uma 2ª neoplasia maligna em muitos desses casos. No entanto, devido à falta de evidências específicas e devido à escassez destes estudos na literatura, estes resultados foram considerados como inconclusivos.

Estudos

➤ Pierce et al. (2010) [140]

As mulheres com mutações nos genes *BRCA1/2* possuem um risco elevado de desenvolverem, ao longo da sua vida, cancro da mama e do ovário, mas também de desenvolver um 2º cancro da mama primário, muitas vezes na mama contralateral. Aquando da necessidade de removerem cirurgicamente o tumor da mama primário, os portadores destas mutações têm duas escolhas possíveis: cirurgia de conservação da mama (CCM) ou a mastectomia radical. O objetivo deste estudo de coorte retrospectivo foi comparar o risco de desenvolvimento de cancro da mama contralateral associado à CCM e o risco de desenvolvimento dessa 2ª neoplasia mamária inerente à realização de uma mastectomia. Este estudo incluiu um total de 655 portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* diagnosticadas com cancro da mama primário, sendo que 302 tinham optado pela CCM e 353 pela realização da mastectomia.

Após a análise dos resultados, verificou-se que o risco de desenvolvimento de cancro da mama contralateral era significativamente mais elevado para aqueles que se tinham submetido à CCM do que para aqueles que tinham realizado a mastectomia, com um risco cumulativo estimado de 23,5% vs. 5,5%, respetivamente, para um período de 15 anos. Mesmo assim, após a análise geral destes casos, foi possível concluir que o risco relativo geral associado ao

desenvolvimento de cancro da mama contralateral, nestes indivíduos que se submeteram à radioterapia adjuvante, não foi estatisticamente significativo ($p=0,44$). Neste estudo também se compararam as taxas de sobrevivência relativas a cada procedimento cirúrgico. A taxa de sobrevivência associada à realização de CCM foi de 92,1% e de 87,3%, considerando um período de 10 e 15 anos após a sua realização, respetivamente. Já no caso da mastectomia, a taxa de sobrevivência associada a esta cirurgia foi de 91,8% e de 89,8%, considerando um período de 10 e 15 anos após a sua realização, respetivamente.

Em suma, concluiu-se que portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* com cancro da mama primário apresentam taxas de sobrevivência semelhantes, quer realizassem CCM ou uma mastectomia. Este estudo, não permitiu verificar se há aumento do risco relativo associado ao desenvolvimento de cancro da mama contralateral após estas mulheres se terem submetido a tratamentos radioterapêuticos adjuvantes.

➤ **Metcalfe et al. (2011)** [6]

Este estudo de coorte retrospectivo, que incluiu 810 portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* diagnosticadas com cancro da mama primário (em estágio I ou II), pretendeu estimar o risco de desenvolvimento de cancro da mama contralateral após terem realizado radioterapia, na sequência de uma CCM ou de uma mastectomia.

De uma forma geral, verificou-se que 149 dessas portadoras (18,4%) tinham efetivamente desenvolvido cancro da mama contralateral. Assim, o risco estimado para o desenvolvimento de cancro da mama contralateral, considerando um período de 15 anos após diagnóstico, foi de 36,1% para mulheres com mutações nos genes *BRCA1* e de 28,5% para mulheres com mutações nos genes *BRCA2*. Percebeu-se, também, que mulheres que apresentavam uma idade inferior a 50 anos aquando do diagnóstico de cancro da mama primário, após 15 anos, eram significativamente mais propensas a desenvolver cancro da mama contralateral, em comparação com aquelas com mais de 50 anos: 37,6% vs. 16,8%. Por outro lado, mulheres de 50 anos que apresentavam ter 2 ou mais parentes de 1º grau com cancro da mama de início precoce tinham um elevado risco de desenvolver cancro da mama contralateral, em comparação com mulheres com menos de 2 ou nenhum parente de 1º grau com cancro da mama: 50 vs. 36%.

Posto isto, concluiu-se que o risco de desenvolvimento de cancro da mama contralateral em portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* diminui com a idade destas aquando do diagnóstico de cancro da mama, aumentando, por sua vez, com o número de parentes de 1º grau com o mesmo diagnóstico.

➤ **Bernstein et al. (2013)** [141]

Este estudo de coorte retrospectivo, que se baseou na base de dados *WECARE study* (onde, até 2013, estavam relatados 52.536 casos de sobreviventes de cancro da mama, unilateral e contralateral), incluiu 158 portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* que tinham desenvolvido, em algum período da sua vida, cancro da mama unilateral. Dessas mulheres, 96 desenvolveram cancro da mama contralateral metacrónico (tumor que surge na mama oposta àquela em que foi detetado o primeiro cancro mamário, pelo menos, 6 meses após esse primeiro diagnóstico). O objetivo principal deste estudo foi tentar compreender se existia alguma relação

entre o risco de desenvolvimento de um cancro da mama contralateral e a exposição à radiação ionizante decorrente da radioterapia em portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*.

Entre as 109 mulheres que receberam radioterapia, concluiu-se que o risco das portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* desenvolverem cancro da mama contralateral metacrónico foi 4,5 vezes superior ao risco associado às não portadoras dessas mutações. No entanto, também se verificou que as portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* que tinham sido expostas à radiação ionizante através da realização de radioterapia não apresentavam um risco relativo significativamente maior (1,4 vezes superior) de desenvolverem cancro da mama contralateral metacrónico, comparativamente ao risco associado àquelas que não se tinham submetido a esse tratamento.

Posto isto, este estudo não conseguiu clarificar se as portadoras de mutações deletérias nos genes *BRCA1/2* eram, ou não, mais suscetíveis aos efeitos carcinogénicos provocados pela exposição à radiação ionizante do que as não portadoras dessas mutações.

➤ ***Baert et al. (2016 e 2017)*** [142], [143]

Dois importantes estudos realizados por este autor, um no ano de 2016 e outro no ano de 2017, obtiveram resultados que suportaram todos os outros estudos que, anteriormente, tinham observado diferenças significativas na radiosensibilidade de indivíduos portadores de mutações *BRCA1/2* aquando da sua exposição à radiação ionizante.

O estudo de 2016, tinha como principal objetivo observar se portadores de mutações nos genes *BRCA1* (n=18) apresentavam hipersensibilidade à radiação ionizante quando comparados com os indivíduos do grupo de controlo (n=18). Visto que este estudo envolveu a colheita de uma amostra sanguínea por participante, os autores optaram por definir um novo indicador de radiosensibilidade, designado de RIND, que tinha por base a medição da capacidade de reparação do DNA e a medição da capacidade de inibição do ciclo celular após as células sanguíneas de todos os indivíduos terem sido expostas a doses de 2 Gy e de 4 Gy. Os resultados deste estudo mostraram a existência de diferença significativa entre a pontuação RIND obtida para portadores de mutações nos genes *BRCA1* e a pontuação RIND verificada nos não portadores dessas mutações: 72% dos portadores da mutação mostraram um fenótipo radiosensível (pontuação RIND variou entre 1 e 4), enquanto 72% dos indivíduos controlo não demonstraram ser radiosensíveis (pontuação RIND 0). Além disso, 28% dos portadores de mutações no gene *BRCA1* apresentaram pontuações RIND de 3 e de 4. Adicionalmente, também se constatou que o fenótipo radiosensível foi semelhante para indivíduos que pertencessem à mesma família.

Um ano mais tarde, a fim de perceber se se obtinham as mesmas conclusões para portadores de mutações nos genes *BRCA2*, *Baert* conduziu um 2º estudo. Os métodos usados neste em nada foram diferentes aos relatados para o estudo de 2016. De facto, tal como no primeiro estudo, os resultados mostraram uma diferença significativa entre a pontuação RIND obtida para portadores de mutações nos genes *BRCA2* e a pontuação RIND verificada em não portadores dessas mutações: 50% dos portadores da mutação mostraram um fenótipo radiosensível (pontuação RIND variou entre 1 e 2), enquanto que 83% dos não portadores dessas mutações não apresentaram radiosensibilidade (pontuação RIND 0).

Desta maneira, os resultados obtidos em ambos os estudos de *Baert et al.* indicaram que portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* apresentavam, efetivamente, uma maior radiosensibilidade que indivíduos não portadores dessas mutações. Com base nestas conclusões, os autores destacaram a importância do controlo da exposição à radiação ionizante, seja em exames de diagnóstico ou em exames terapêuticos, em portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*, tendo estes também destacado que se deveriam realizar mais estudos que clarificassem a relação entre essa hipersensibilidade e o risco de desenvolvimento de cancro da mama inerente a esses indivíduos.

➤ ***Schlosser et al. (2020)*** [137]

Visto que as taxas de desenvolvimento de uma 2ª neoplasia primária decorrentes da realização de radioterapia em portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* raramente foram relatadas, surge o estudo de *Schlosser et al.* Este incluiu a análise de 230 portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* que, por sua vez, tinham realizado radioterapia, pelo menos durante 5 anos, após terem sido diagnosticadas com cancro da mama.

Os resultados relataram seis casos de mulheres que desenvolveram uma 2ª neoplasia primária após terem realizado radioterapia:

- um cancro papilar da tiroide, 17 anos após irradiação local da mama e dos gânglios linfáticos;
- um adenocarcinoma esofágico, 20 anos após irradiação local da mama e dos gânglios linfáticos;
- um adenocarcinoma do estômago, 5 anos após irradiação local da mama;
- dois linfomas não-Hodgkin, um deles 6 anos após irradiação local da mama e o outro 11 anos após irradiação local da mama;
- um cancro do pulmão de não pequenas células, 12 anos após irradiação local da mama.

Visto que o número de segundas neoplasias primárias foi escasso e que os doentes não demonstraram desenvolver os tumores mais frequentemente associados à exposição à radiação ionizante aquando do tratamento de um cancro da mama (melanomas e sarcomas), concluiu-se que não se verificou qualquer relação estatisticamente significativa entre o aumento do risco de desenvolvimento de segundos tumores primários e a exposição de portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* à radiação ionizante.

Tabela 5 - Radiação de diagnóstico e risco de desenvolvimento de cancro da mama primário em portadores das mutações BRCA1/2.

Autor, ano de publicação	Tipo de estudo	Nº total participantes	Nº participantes diagnosticados com CM	Método de diagnóstico	Risco relativo de desenvolvimento de CM primário devido à exposição à RI
<i>Narod et al. (2006)</i>	Estudo caso-controlo	3200	1600	Mamografias (sim/não)	Risco geral OR 1,03 (0,94 – 1,50)
<i>Goldfrank et al. (2006)</i>	Estudo de coortes retrospectivo	213	85	Mamografias (nº de mamografias)	Risco geral OR 0,94 (0,88 – 1,00)
<i>Andrieu et al. (2006)</i>	Estudo de coortes retrospectivo	1601	853	Radiografia torácica	Risco geral HR 1,54 (1,1 – 2,1) Idade aquando do diagnóstico: ≤ 40 anos HR 1,97 (1,1 – 2,9) > 40 anos HR 1,27 (0,8 – 1,8) Exposição < 20 anos HR 5,21 (1,6 – 17,5) Exposição > 20 anos HR 1,91 (0,9 – 4,1) 1-4 RX HR 1,76 (0,9 – 3,4) > 4 RX HR 2,69 (1,4 – 5,3)
<i>Gonzalez et al. (2009)</i>	Estudo de coortes retrospectivo	8139	7600	Mamografias (nº de mamografias)	Risco geral CR ----- ≥ 5 RX para idades: <i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i> 25-29 anos CR 26 (14 – 49) CR 15 (8 – 28) 30-34 anos CR 20 (11 – 39) CR 12 (6 – 23) 35-39 anos CR 13 (7 – 23) CR 10 (5 – 21)

<i>Pijpe et al. (2012)</i>	Estudo de coortes retrospectivo	1993	848	Dose cumulativa mamária estimada para cada indivíduo	Risco geral	HR 1,65 (1,11 – 2,46)	
					< 30 anos	HR 1,90 (1,11 – 3,00)	
					30-39 anos	HR 1,06 (0,66 – 1,71)	
					< 2 mGy	HR 1,59 (0,78 – 3,22)	
					≥ 17,4 mGy	HR 2,31 (1,16 – 4,59)	
<i>John et al. (2013)</i>	Estudo de coortes retrospectivo	727	261	Qualquer exposição a radiografias torácicas		<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>
					Risco geral	OR 1,16 (0,64 – 2,11)	OR 1,22 (0,62 – 2,42)
					Idade < 20 anos	OR 0,57 (0,22 – 1,48)	OR 1,55 (0,54 – 4,47)
					Idade ≥ 20 anos	OR 1,69 (0,76 – 3,76)	OR 1,06 (0,43 – 2,60)
					1-2 RX	OR 0,84 (0,33 – 2,13)	OR 0,80 (0,28 – 2,28)
					3-5 RX	OR 1,22 (0,35 – 4,21)	OR 10,63 (1,93 – 58)
					≥ 6 RX	OR 1,20 (0,37 – 3,96)	OR 0,89 (0,15 – 5,49)

RT – radioterapia CM – cancro da mama RI - radiação ionizante

Nota: Na tabela 3 são apresentados diferentes tipos de riscos: OR (do inglês “*odds ratio*”) e HR (do inglês “*hazard ratio*”). De facto, em certas situações, ambos são aproximações fiéis do valor do risco relativo. Em estudos caso-controlo (eventos dicotómicos), devido ao facto dos indivíduos incluídos se apresentarem com ou sem a condição que se quer avaliar, não é possível calcular o valor do risco relativo. Desta maneira, para este tipo de estudos, calcula-se a razão de chances (OR) que, nestas condições, apresentará um valor análogo ao valor do risco relativo. Já em estudos de coorte o mesmo não acontece. Nestes costuma proceder-se à estimativa da razão de riscos (HR), sendo esta bastante útil quando as informações coletadas dizem respeito a períodos temporais diferentes, sendo por isso usado em situações de avaliação de doenças a longo prazo. Nestas condições, os valores estimados de HR são bastante semelhantes aos valores estimados para o risco relativo [144]–[146].

Tabela 6- Radioterapia para tratamento de um tumor mamário primário e risco de desenvolvimento de um cancro da mama contralateral em portadores das mutações BRCA1/2.

Autor, ano de publicação	Tipo de estudo	População	Nº participantes total	Nº participantes diagnosticados com CMC	Risco relativo de desenvolvimento de CMC devido à realização de radioterapia adjuvante por portadores de mutações nos genes BRCA1/2
<i>Pierce et al. (2010)</i>	Estudo de coortes retrospectivo	Portadores de mutações nos genes BRCA1/2 diagnosticados com cancro da mama	655 (302 – CCM; 353 - mastectomia)	148	Risco geral 0,44 5 anos 0,99 10 anos 1,29 15 anos 1,15
<i>Metcalfe et al. (2011)</i>	Estudo de coortes retrospectivo	Indivíduos diagnosticados com cancro da mama pertencentes a famílias identificadas com mutações nos genes BRCA1/2	810 (424 com RT; 373 sem RT; 396 – CCM + RT; 417 – mastectomia + RT)	149	Risco geral 1,11 p=0,56 Idade aquando do diagnóstico de CM: < 50 anos 1,1 p=0,56 ≥ 50 anos 0,57 p=0,35
<i>Bernstein et al. (2013)</i>	Estudo de coortes retrospectivo	Portadores de mutações nos genes BRCA1/2 - cancro da mama contralateral metacrónico vs. cancro da mama unilateral	158 (109 com RT e 49 sem RT)	96	Risco geral 1,4 (0,6 – 3,3)

RT – radioterapia CMC – cancro da mama contralateral

3.2. Síndrome de Li-Fraumeni

3.2.1. História/conceito básico

A LFS é uma síndrome autossômica dominante hereditária e rara, que está associada ao desenvolvimento de várias neoplasias, em idade bastante precoce. Por esta razão, doentes com LFS possuem um risco bastante superior de desenvolver, ao longo da vida, múltiplas neoplasias (em comparação com a população em geral), sendo as mais frequentes os tumores mamários, os sarcomas dos tecidos moles, os tumores do sistema nervoso central, os osteossarcomas e também as neoplasias do córtex suprarrenal. Mesmo assim, a LFS também está associada ao aumento do risco de desenvolvimento de outras neoplasias, tal como os tumores pulmonares, gastrointestinais, do pâncreas, da pele, do plexo coroide, da cabeça e pescoço, do rim (tumores de Wilms), colorretais de início precoce, da laringe, do ovário, da próstata, dos testículos, da tireoide, dos linfomas e das leucemias [147],[148].

A LFS foi descrita, pela primeira vez, em 1969, estando intimamente associada à existência de mutações no gene *TP53*. Os responsáveis por esta primeira descrição foram *Frederick Li* e *Joseph F. Fraumeni Jr.* [149], que relataram a presença desta síndrome em quatro famílias de crianças diagnosticadas com rhabdomyosarcoma ou com outros tipos de sarcomas dos tecidos moles. Nestas famílias também foi verificada a existência de uma história familiar de tumor mamário e de outras doenças malignas que, por sua vez, afetavam parentes dessas crianças em idades consideradas precoces. Estudos posteriores, conduzidos por *Birch et al.* [150], permitiram verificar que muitos destes tumores estavam associados ao desenvolvimento de uma síndrome bastante específica, tendo-lhe atribuído o nome de LFS. Além dos tumores originalmente descritos, tumores cerebrais, osteossarcomas, leucemias e também neoplasias do córtex suprarrenal foram, posteriormente, associados à caracterização desta mesma patologia [151],[152]. Em 1990, após ter surgido o teste genético preditivo associado à identificação de mutações no gene *TP53*, conseguiu-se confirmar a relação existente entre a funcionalidade da proteína P53 e a síndrome LFS [153]. Desde então, quase 250 mutações foram detetadas no gene *TP53*, sendo que estas, na sua maioria, têm a capacidade de induzir a perda da função na proteína P53 [154],[155].

As mutações existentes na linha germinativa do gene *TP53* são descritas como altamente penetrantes, e estão associadas a um risco extremamente acrescido destes doentes desenvolverem uma neoplasia ao longo da vida. Aquelas mutações são, efetivamente, as principais responsáveis pelos casos observados de LFS, estando presentes em cerca de 80% das famílias diagnosticadas [156]. Os restantes 20% diagnosticados com LFS não verificam mutações no gene *TP53*, o que, provavelmente, se deve à presença de outros genes mutados [147].

A caracterização clínica da LFS elaborada, pela primeira vez, por *Li* e *Fraumeni* incluía um doente inicialmente diagnosticado com sarcoma que possuísse um parente de 1º grau diagnosticado com um qualquer tipo de carcinoma antes dos 45 anos de idade e também um parente de 1º ou de 2º grau diagnosticado com um tumor antes dos 45 anos de idade, ou então com um sarcoma, qualquer que fosse a sua idade. Desde então, famílias com características semelhantes às mencionadas foram sendo identificadas através do uso de três conjuntos diferentes de critérios propostos por *Birch et al.* [157], *Eeles* [158] e *Chompret et al.* [159]. De facto, ao contrário do verificado anteriormente, os critérios referidos por *Birch* não requeriam a apresentação inicial de um sarcoma, enquanto que os critérios estabelecidos por *Eeles*

requeriam apenas a identificação de dois parentes, de 1º ou de 2º grau, diagnosticados com tumores associados à LFS, em qualquer idade. Por outro lado, os critérios implementados por *Chompret et al.* eram, de facto, menos rigorosos, necessitando apenas da identificação de doentes diagnosticados com tumores característicos da LFS, mesmo que não possuíssem história familiar. Ao longo dos anos, os critérios que estão na base do diagnóstico desta síndrome sofreram algumas alterações. Estes critérios serão descritos mais à frente na secção “Diagnóstico”.

3.2.2. Predisposição genética

Gene *TP53*

O gene *TP53* encontra-se localizado na região 13.1 do braço curto do cromossoma 17 (17p13.1) e é responsável pela codificação da proteína supressora tumoral P53. Esta é constituída por cinco domínios funcionais, sendo eles: o domínio de ativação transcricional do N-terminal; uma região bastante rica em prolina; o domínio de ligação ao DNA; o domínio de oligomerização; e o domínio regulador do C-terminal (Figura 20). Esta proteína também contém locais específicos de ligação ao zinco, o que permite que adquira a estrutura necessária para promover a ligação de DNA específica do local e ativação transcricional. O sinal de localização nuclear facilita o movimento para o núcleo, onde a P53 consegue exercer as suas funções [160].



Figura 20- Domínios funcionais da proteína P53. A proteína P53 é composta por 393 aminoácidos e contém vários domínios funcionais, incluindo: o domínio de ativação transcricional N-terminal; uma região rica em prolina; o domínio de ligação ao DNA; o domínio de oligomerização; e o domínio regulador do C-terminal.

Inicialmente, pensava-se que o gene *TP53* funcionava como um oncogene, pois uma grande quantidade de tumores expressava elevadas concentrações da proteína P53 [161],[162]. No entanto, um estudo promissor conduzido por *Baker* [163], em 1989, comprovou a existência de inativação mutacional de um determinado alelo no gene *TP53* aquando da análise de dois carcinomas colorretais. Nessa época, *Finlay et al* [164], também conseguiram demonstrar que a transformação celular induzida por oncogenes poderia ser inibida através da expressão forçada da proteína P53. Em conjunto, essas e outras observações permitiram perceber que o gene *TP53* exercia também um papel fundamental como supressor tumoral [165].

De facto, a proteína P53 possui a capacidade de regular a divisão celular, impedindo que as células sofram crescimento e proliferação muito rápida ou até descontrolada [166]. Em

condições normais, os níveis de P53 são mantidos baixos através de um mecanismo de *feedback* negativo mediado pela proteína MDM2 (do inglês “*murine double minute 2*”). Para cumprir adequadamente a sua função biológica, quatro polipeptídeos de P53 devem formar um tetrâmero que, por sua vez, funciona como fator de transcrição [31]. Na verdade, quando o DNA de uma célula é danificado (seja por agentes químicos tóxicos, radiação ionizante ou até mesmo pela radiação ultravioleta proveniente da luz solar), a proteína P53 desempenha um papel crucial, pois determina, nestas situações, se o DNA será reparado ou se a célula danificada sofrerá apoptose. Nestes casos, os tetrâmeros de P53 ligam-se ao DNA, desencadeando a ativação de genes responsáveis por processos, tais como a reparação do DNA, a inibição da progressão do ciclo celular, a senescência celular e o processo apoptótico. Simultaneamente a esta ativação, o gene *TP53* promove a expressão da proteína MDM2 que, por sua vez, induz a degradação das proteínas P53 através de um processo designado de proteólise. Desta forma, esta proteína, ao impedir a divisão das células que possuem mutações no DNA, ajuda a impedir o desenvolvimento tumoral. Por isto mesmo, a P53 foi apelidada de “guardiã do genoma”. Por outro lado, quando existem mutações no gene *TP53*, os tetrâmeros de P53 mutantes não se conseguem ligar de uma maneira eficaz ao DNA, não promovendo a ativação dos processos supramencionados. Assim, a interação MDM2-P53 torna-se bastante enfraquecida, o que leva à acumulação de proteínas P53 (Figura 21) [165].

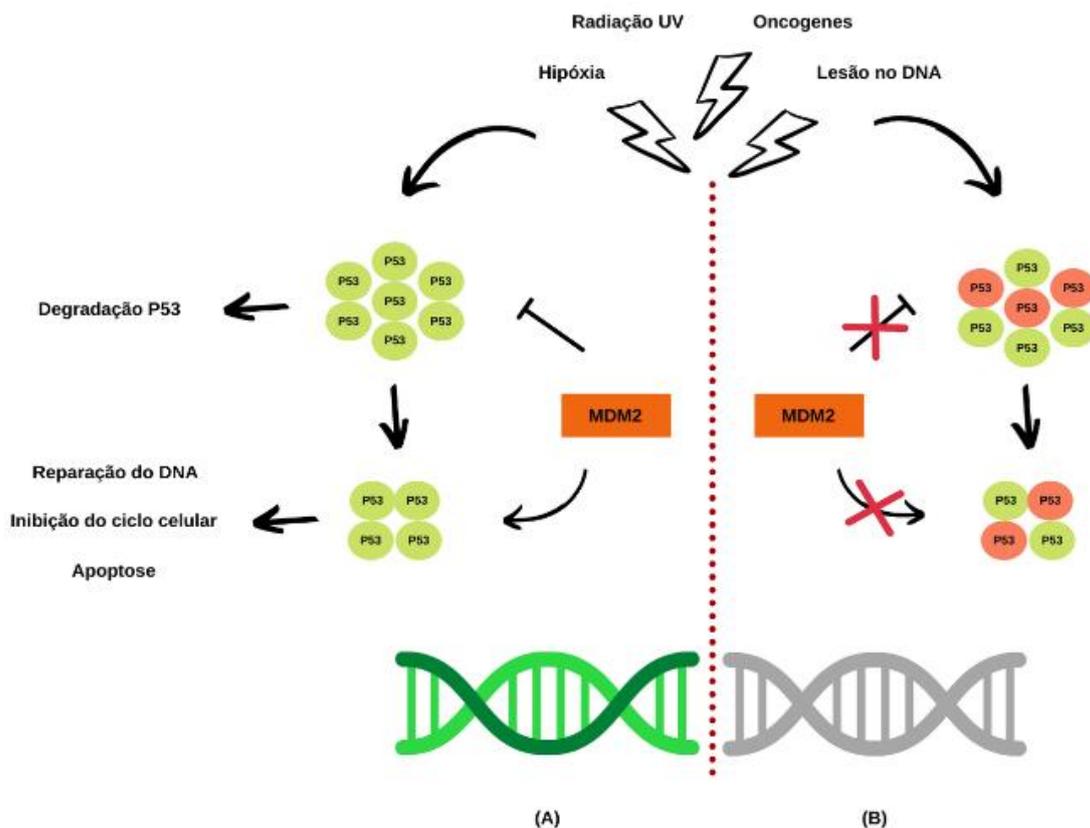


Figura 21- Funções da proteína P53. (A) Em resposta ao stresse celular, os tetrâmeros de P53 ligam-se ao DNA (a verde) e desencadeiam a ativação de genes responsáveis por uma série de funções, incluindo a reparação do DNA, a inibição do ciclo celular, a apoptose e a senescência celular. Simultaneamente, o gene *TP53* induz a expressão de MDM2, o que leva à degradação da P53. (B) As proteínas P53 mutantes não se conseguem ligar eficazmente ao DNA (a cinzento), o que resulta na perda de muitas funções executadas por esta. Assim, a relação MDM2-P53 é enfraquecida, verificando-se a acumulação de proteína P53.

A desregulação e a consequente inativação da proteína P53 é uma das características mais frequentemente observadas no desenvolvimento de muitas neoplasias [154]. Dados experimentais vieram confirmar que nem todas as mutações que afetam o gene *TP53* funcionam de maneira igual. Assim, o tipo específico de mutação do gene *TP53*, o tipo de tumor e a idade de diagnóstico podem ter um papel preponderante na descoberta da relação que existe entre o genótipo e o fenótipo de indivíduos diagnosticados com LFS. De facto, a presença de mutações do tipo *missense* no domínio de ligação ao DNA do gene *TP53* é capaz de impedir que a proteína P53 se ligue às suas sequências alvo no DNA. Esta situação faz com que se perca a função de proteína supressora tumoral, ganhando funções pró-oncogénicas que poderão resultar no desenvolvimento precoce de certos tipos de cancros associados à LFS. Como consequência da regulação deficiente do ciclo celular, cerca de 50% dos portadores de mutações no gene *TP53* desenvolvem tumores antes dos 30 anos de idade [165], [167].

Gene *CHEK2*

Mutações no gene *CHEK2* foram, também, associadas ao desenvolvimento de LFS. O *CHEK2* é um gene supressor tumoral que é ativado aquando da existência de lesões no DNA, sendo responsável pela codificação da proteína cinase serina/treonina CHEK2, que atua ao nível da progressão do ciclo celular. A mutação neste gene foi detetada, pela primeira vez, por *Bell et al.* [168], aquando do estudo de uma família diagnosticada com LFS. Nesta família existiam vários tumores cerebrais e inúmeros casos de tumores mamários em idades precoces, contudo sem a existência de mutações no gene *TP53*. Desta maneira, concluiu-se que existem outros genes associados ao desenvolvimento desta síndrome hereditária, mesmo que representem apenas uma minoria dos casos [154].

3.2.3. Prevalência e caracterização da LFS

Atualmente, acredita-se que a prevalência associada à presença de mutações no gene *TP53* possa ser mais elevada do que se pensava, com estimativas que variam entre 1:5000 e 1:20000 [147].

Uma das características mais marcantes da LFS é a notável tendência que crianças e adultos portadores têm para desenvolver tumores sólidos e hematológicos. De facto, o risco destes doentes desenvolverem, ao longo da vida, uma ou mais neoplasias é de cerca de 50%, considerando mulheres com uma idade de 31 anos e homens com uma idade de 46 anos. Este risco, já elevado, aumenta consideravelmente para idades superiores a 70 anos, para ambos os sexos, aproximando-se de 100% [167]. Estima-se que mulheres diagnosticadas com LFS, aos 50 anos, possuem um risco geral mais elevado em comparação com os indivíduos do sexo masculino (93% vs. 68%). Esta notável diferença entre os dois géneros deve-se, sobretudo, ao facto das mulheres desenvolverem neoplasias em idade mais precoce, sendo que a idade média estimada é de 29 anos, enquanto nos doentes do sexo masculino a idade média ronda os 40 anos [154]. Sabe-se também que os tumores mamários desenvolvidos por indivíduos do sexo feminino são os tumores predominantemente observados nesta síndrome. No entanto, como esta síndrome é rara, estima-se que a contribuição das alterações da linha germinativa do gene *TP53* para o desenvolvimento de cancro da mama hereditário seja inferior a 1% [169].

3.2.3.1. Cancro da mama

O cancro da mama feminino é responsável por 27% a 31% de todos os casos de cancro diagnosticados em famílias com LFS, fazendo dele o tipo de tumor mais frequente [170]. Na verdade, verifica-se que, para portadoras de mutações no gene *TP53*, o risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama, ao longo da vida, aumenta bastante desde os 20 anos de idade, sendo que a idade média associada ao aparecimento destas neoplasias ronda os 33 anos (numa fase pré-menopausa) [171], [172]. É também sabido que a incidência cumulativa de tumores mamários em mulheres diagnosticadas com LFS que possuam 70 anos é de 54% [167]. Mesmo assim, ao contrário do que acontece com os tumores da mama associados aos genes *BRCA1/2*, que afetam homens e mulheres, o cancro da mama diagnosticado em portadores de LFS parece ocorrer apenas no sexo feminino. Um dos estudos que suporta esta hipótese foi conduzido por *Bougeard et al.*, em 2015, que envolveu 59 indivíduos do sexo masculino previamente identificados com mutações no gene *TP53*. Os resultados deste estudo mostraram que nenhum desenvolveu cancro da mama [171].

Paralelamente, verificou-se que a maioria dos casos de cancro da mama desenvolvidos por doentes com LFS testam positivo para o receptor HER2, representando este tipo específico de cancro cerca de 55% dos tumores mamários associados a esta síndrome hereditária. Por outro lado, também se verificou que 31% destas doentes desenvolveram, posteriormente, cancro da mama contralateral [169], [171].

Ao longo dos anos, vários têm sido os estudos que têm procurado esclarecer se existe uma relação entre os fatores reprodutivos femininos e o risco de desenvolvimento de cancro da mama. Um estudo bastante recente, de 2019, veio demonstrar que existem alguns fatores reprodutivos femininos, tal como dar à luz numa idade precoce e amamentar, pelo menos, durante 7 meses, que estão na base da diminuição do risco associado ao desenvolvimento de cancro da mama em doentes com LFS. Mesmo assim, embora se suponha que essa redução esteja associada à quantidade de hormonas ováricas, ainda não foi possível determinar claramente o impacto real que estes fatores representam para mulheres diagnosticadas com LFS. No futuro, estes fatores poderão representar papel preponderante aquando da tomada de decisões clínicas relacionadas com as opções reprodutivas de mulheres com LFS, considerando, por exemplo, os benefícios provenientes da amamentação, quando comparados com os da realização de mastectomias profiláticas [173].

3.2.3.2. Sarcomas

De uma forma geral, os sarcomas são responsáveis por cerca de 25% das neoplasias malignas relacionadas com a LFS, sendo também os tumores mais comuns em crianças e adolescentes [174]. A prevalência de sarcomas dos tecidos moles em indivíduos com LFS varia entre 17% a 27%, enquanto os osteossarcomas têm uma prevalência ligeiramente menor, entre os 3% e os 16% e desenvolvem-se, maioritariamente, antes dos 30 anos [171],[175].

O risco associado ao desenvolvimento de um sarcoma dos tecidos moles varia significativamente entre géneros, sendo cerca de 22% e 15% para indivíduos do sexo masculino e feminino, respetivamente, considerando a idade de 70 anos [167]. O rhabdomyosarcoma é o tipo de sarcoma dos tecidos moles mais frequentemente observado em indivíduos

diagnosticados com LFS. Na maioria dos casos, desenvolve-se antes dos 5 anos de idade, apresentando-se, normalmente, como anaplásico não alveolar [165], [176]. Este caracteriza-se por apresentar crescimento rápido que se desenvolve em cerca de 35% dos casos em zonas como a cabeça e pescoço, em cerca de 25% dos casos no trato genital ou urinário e, em cerca de 20% dos casos, a nível dos membros inferiores e superiores. *Hettmer* e a sua equipa [176] conduziram um estudo que envolveu 15 crianças diagnosticadas com rhabdomyosarcoma anaplásico não alveolar, através do qual constataram que, todas as 5 crianças que tinham menos de 3 anos e que 75% das crianças com idades entre os 3 e os 7 anos, possuíam o gene *TP53* mutado. Embora outros tipos de sarcomas dos tecidos moles sejam raramente encontrados aquando do diagnóstico desta síndrome, já foram observados alguns casos de lipossarcomas, leiomiiossarcomas e outros subtipos menos bem definidos [174].

Por outro lado, sabe-se que o risco de indivíduos com LFS desenvolverem um osteossarcoma é de cerca de 11% e 5% para indivíduos do sexo masculino e feminino, respetivamente, considerando a idade de 70 anos [167]. De uma maneira geral, sabe-se que os osteossarcomas se costumam desenvolver em zonas adjacentes ao joelho, com tendência a metastizar para outras zonas ósseas ou órgãos como os pulmões [175].

3.2.3.3. Tumor do Sistema Nervoso Central

As neoplasias do sistema nervoso central (SNC) são responsáveis por aproximadamente 9% a 14% dos tumores associados à LFS, sendo os glioblastomas e os astrocitomas os subtipos mais frequentemente observados [171], [172], [177]. Contudo, também são relatados casos de doentes que desenvolvem meduloblastomas, ependimomas, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriais e também tumores do plexo coroide [172]. A idade média associada ao início do desenvolvimento de tumores do SNC é bifásica, com um 1º pico na infância e um 2º pico em idades compreendidas entre os 20 e os 40 anos, tendo-se estimado uma mediana de 16 anos [165]. É também sabido que a incidência cumulativa que está na origem do desenvolvimento de um tumor do SNC é de cerca de 6% e 19% para indivíduos do sexo feminino e masculino, respetivamente, que tenham sido diagnosticados com LFS, considerando a idade de 70 anos [167].

Adicionalmente, percebeu-se que existe uma forte correlação entre a LFS e o desenvolvimento de tumores do plexo coroide, visto que a maioria das crianças diagnosticadas com este tipo específico de tumor revelam ser portadoras de mutações no gene *TP53*, independentemente de existir ou não história familiar de cancro [177], [178]. Já entre as crianças diagnosticadas com meduloblastomas, sabe-se que aquelas que verificam uma ativação aberrante da via *Sonic Hedgehog* têm uma maior probabilidade de possuírem mutações no gene *TP53* [165], [179].

3.2.1.1. Tumor do córtex suprarrenal

O desenvolvimento de neoplasias do córtex suprarrenal verifica-se em cerca de 6% a 13% dos doentes diagnosticados com LFS. No entanto, na maioria dos casos, estes tumores desenvolvem-se em indivíduos com idades inferiores a 5 anos ou em idades compreendidas

entre os 40 e os 50 anos [167], [171], [177]. Alguns estudos realizados em crianças diagnosticadas com tumores do córtex suprarrenal esporádicos, revelaram uma prevalência de cerca de 30% a 80% de mutações na linha germinativa do gene *TP53* [165], [180], [181].

3.2.3.4. Outros tipos de tumores malignos

As leucemias primárias e secundárias, especialmente a leucemia linfoblástica aguda (ALL, do inglês “*acute lymphoblastic leukemia*”), a leucemia mieloblástica aguda (AML, do inglês “*acute myeloid leukemia*”) e a síndrome mielodisplásica, representam cerca de 2% a 4% de todos os casos oncológicos associados à LFS. Relativamente à ALL, indivíduos diagnosticados com esta síndrome geralmente exibem um fenótipo bastante característico, no qual as células leucémicas contêm entre 32 a 39 cromossomas (hipodiploidia) [182]. Por sua vez, os linfomas de Hodgkin e os linfomas não Hodgkin apresentam-se um pouco menos prevalentes, representando cerca de 2% dos casos [171], [148]. No estudo conduzido por *Bougerad et al.*, em 2015, foi possível perceber que a mediana das idades associada ao desenvolvimento de leucemias foi de 14 anos e no caso dos linfomas foi de 13 anos [171]. Mesmo assim, há escassez de literatura capaz de descrever, de uma forma clara, os subtipos de leucemias e de linfomas que ocorrem em portadores de LFS. Apesar desta dificuldade não permitir estimar corretamente os riscos associados ao desenvolvimento destes tumores nestes doentes, estima-se que sejam inferiores aos riscos associados aos outros tipos de neoplasias mais frequentemente relatados em indivíduos com LFS [148]. Até ao momento, apenas se verificou a identificação de uma família que apresentou leucemia como manifestação primária da LFS. Este relato foi conduzido por *Powell* [183] que descreveu uma família hispânica, na qual se incluíam 5 indivíduos previamente diagnosticados com leucemia [165].

Os tumores colorretais representam cerca de 3% de todos os casos referentes a tumores diagnosticados em portadores de LFS [184]. Outros tipos de tumores gastrointestinais também foram relatados, incluindo o cancro gástrico, cuja incidência é mais alta em indivíduos com menos de 40 anos de idade [148],[167],[171]. Embora os valores estimados para o risco de desenvolvimento de tumores gastrointestinais em doentes com LFS ainda não se encontram bem estabelecidos, pensa-se que estes sejam inferiores aos riscos associados ao desenvolvimento de qualquer um dos outros tumores mais comuns em portadores de LFS [148].

Segundo um estudo de 2018, conduzido por *Cotter et al.* [185], constatou-se que mulheres grávidas cujo feto apresente uma variante patogénica no gene *TP53*, como herança paterna, possuem um risco significativamente superior de desenvolverem um coriocarcinoma ou uma outra doença trofoblástica gestacional, isto é, o desenvolvimento de um carcinoma a nível do tecido placentário, que pode e invadir outros órgãos maternos.

Outros tipos de tumores foram descritos em alguns indivíduos portadores de mutações no gene *TP53* ou que foram diagnosticados com LFS, incluindo tumores da cabeça e pescoço, do rim, da laringe, do pulmão, da pele, do ovário, do pâncreas, da próstata, do testículo e também da tiroide [148], [167], [171].

3.2.4. Diagnóstico

Após a descoberta de que o gene *TP53* estava na origem do desenvolvimento da LFS, o conhecimento acerca desta síndrome e das possíveis abordagens médicas que poderiam estar na base da sua vigilância começou a melhorar significativamente, tanto ao nível do diagnóstico precoce de tumores como ao nível da possível redução do risco associado ao seu desenvolvimento [165], [186].

De maneira a facilitar a identificação de indivíduos e de famílias com suspeitas de LFS e de se conseguirem fornecer diretrizes concretas para a realização dos testes genéticos específicos para genes *TP53*, vários sistemas de classificação foram desenvolvidos. De acordo com os critérios "clássicos" [187], o diagnóstico de LFS é estabelecido caso se verifiquem todos os 3 critérios seguintes:

- o probando (indivíduo com o qual se inicia o estudo familiar de uma doença ou característica genética, por ser o 1º em que esta patologia é detetada) foi diagnosticado com um sarcoma antes de alcançar os 45 anos de idade;
- um familiar de 1º grau foi diagnosticado com algum tipo de cancro antes de alcançar os 45 anos de idade;
- um familiar de 1º ou de 2º grau foi diagnosticado com algum tipo de tumor antes dos 45 anos de idade ou com um sarcoma em qualquer idade.

Com o passar dos anos, criaram-se sistemas de classificação mais inclusivos para as famílias que não atendem aos critérios clássicos, mas que exibem um fenótipo bastante característico da LFS. O primeiro foi relatado por *Birch et al.* [157], em 1994, e distingue-se da classificação clássica, visto que inclui indivíduos que verifiquem todos os 3 critérios seguintes:

- o probando foi diagnosticado com um qualquer tipo de carcinoma infantil ou sarcoma, tumor no SNC ou então uma neoplasia do córtex suprarrenal antes de alcançar os 45 anos de idade;
- um familiar de 1º ou de 2º grau foi diagnosticado com um tumor característico da LFS, em qualquer idade;
- um familiar de 1º ou de 2º grau foi diagnosticado com algum tipo de tumor antes de atingirem os 60 anos de idade.

Em 1995, o sistema de classificação foi atualizado, e incluíram-se indivíduos que possuam familiares de 1º ou de 2º grau que tenham sido diagnosticados com tumores mamários, sarcomas, tumores cerebrais ou leucemias, em qualquer idade [158].

Um esquema de classificação mais recente, foi apresentado por *Chompret et al.* [159], tendo este sido revisto por *Tinat et al.*, no ano de 2009 [188]. Embora estes critérios sejam mais restritivos do que os critérios de *Birch* relativamente aos tipos de tumores e às idades de início, os critérios de *Chompret*, distinguem-se por considerarem que alguns indivíduos diagnosticados com LFS não precisam necessariamente de estar associados a história familiar tumoral. Por outro lado, os critérios de *Chompret* revistos por *Tinat et al.* recomendam a realização de testes genéticos preditivos aquando da existência de probandos que verifiquem todos os 3 critérios seguintes:

- um tumor característico da LFS (tumor mamário pré-menopausa, sarcoma dos tecidos moles, osteossarcoma, tumor cerebral, leucemia ou neoplasia do córtex suprarrenal) diagnosticado antes dos 46 anos de idade e de, pelo menos, um familiar de 1º ou de 2º grau que tenha desenvolvido um tumor associado à LFS antes dos 56 anos de idade ou múltiplos tumores primários;

- múltiplos tumores primários diagnosticados antes dos 46 anos de idade, dois dos quais sejam tumores característicos da LFS, independentemente da história familiar;
- uma neoplasia do córtex suprarrenal ou um cancro do pulmão de não pequenas células, em qualquer idade, independentemente da história familiar.

Atualmente, o teste genético preditivo associado ao gene *TP53* é mais frequentemente recomendado para indivíduos que verifiquem os critérios clássicos, os critérios implementados por *Chompret* ou então para qualquer mulher que tenha sido diagnosticada com tumor mamário numa idade bastante precoce e que, por sua vez, não possua uma mutação nos genes *BRCA1/2*. Como é de esperar, as possibilidades de encontrar mutações na linha germinativa do gene *TP53* variam de acordo com os critérios usados para orientar esse mesmo teste. De facto, estima-se que cerca de 60% a 80% dos indivíduos que verificam os critérios clássicos apresentam mutações no gene *TP53*, enquanto para aqueles que se revêm nos critérios de *Chompret*, essa probabilidade varia entre os 20% e os 30% [165].

3.2.5. Vigilância e prevenção

Como já foi supramencionado, doentes diagnosticados com LFS possuem uma predisposição bastante elevada para desenvolverem, ao longo da vida, uma ampla variedade de tumores. Assim, a vigilância e o consequente rastreio são considerados essenciais para garantir uma sobrevivência prolongada destes portadores. O principal objetivo do rastreio é melhorar o prognóstico geral destes doentes, permitindo a deteção e tratamento precoces. De uma forma geral, a vigilância é mais eficaz aquando da existência de neoplasias sólidas, incluindo certos subtipos de sarcomas, gliomas, meduloblastomas, tumores pulmonares de células pequenas e também tumores do córtex suprarrenal [165], [189]. Atualmente, as medidas gerais de acompanhamento implementadas para doentes com LFS incluem um exame físico anual, tais como cuidadosos exames cutâneos e neurológicos [147]. Por sua vez, mulheres com LFS são aconselhadas a submeterem-se a mastectomia profilática, com vista à minimização dos efeitos adversos da radioterapia, tal como o possível desenvolvimento de um segundo tumor mamário [190]. Também se sabe que os portadores de LFS devem adotar um estilo de vida mais saudável, cessando os hábitos tabágicos, evitando exposições solares prolongadas, controlando mais rigorosamente o seu peso e procurando ser mais ativos, aconselhando-se a realização de exercício físico regular [147]. Mesmo assim, apesar de todos os benefícios relacionados com o rastreio destas neoplasias em doentes diagnosticados com LFS, sabe-se que estes também podem sofrer de problemas do foro psicossocial, tais como ansiedade, tristeza e também depressão [147], [189].

Ao longo dos anos, vários estudos têm sido realizados na tentativa de se descobrir quais os métodos mais fidedignos para a deteção precoce das neoplasias características da LFS. Na verdade, um estudo conduzido por *Masciari et al.* [191], em 2013, focou-se na análise de imagens de PET/CT (do inglês “*positron emission tomography/computed tomography*”), obtidas com ¹⁸F-fluorodeoxiglicose, com o intuito de avaliar se esta técnica imagiológica poderia funcionar como ferramenta para rastreio. Entre 15 doentes assintomáticos diagnosticados com LFS, foi possível detetar a presença de 2 tumores papilares da tiroide e de 1 tumor do esófago. De facto, todos os tumores se encontravam em fase bastante inicial e, por isso, estes doentes apresentavam um excelente prognóstico. No entanto, apesar do diagnóstico precoce, percebeu-se também que estes doentes estariam sujeitos a doses de radiação ionizante que poderiam ser

consideradas como desnecessárias, o que se verificou ser um fator preocupante e a ter em consideração.

Hoje em dia, existe um protocolo de rastreio designado de “protocolo de Toronto”, elaborado por *Villani et al.* [192], e que visa o acompanhamento específico de doentes oncológicos diagnosticados com LFS, sendo considerado o protocolo de rastreio de eleição. Ao longo dos anos, este protocolo tem vindo a sofrer inúmeras atualizações de forma a tornar-se cada vez mais eficaz. A implementação do “protocolo de Toronto” está associada a uma taxa de sobrevivência significativamente maior dos indivíduos diagnosticados com LFS que são acompanhados em comparação com os doentes que não realizam exames de rastreio. Na base deste protocolo esteve a monitorização de 89 portadores de mutações no gene *TP53*, tendo 59 desses doentes decidido realizar exames de rastreio, enquanto que os restantes 30 não se submeteram a qualquer exame de rastreio. Os indivíduos que concordaram em realizar exames de rastreio foram sujeitos a uma série de exames físicos, a cada 3/4 meses, exames sanguíneos e também a procedimentos imagiológicos. O “protocolo de Toronto” procedeu à vigilância de tumores, como a neoplasia do córtex suprarrenal (através da realização de ecografias abdominais e da análise de biomarcadores presentes no sangue/urina), do tumor da mama (através da realização de uma mamografia e de uma ressonância magnética anual, do auto-exame mamário e do exame clínico da mama), do tumor cerebral (através da realização de uma MRI cerebral anual), do sarcoma dos tecidos moles e do osteossarcoma (através da realização de uma ressonância magnética de corpo inteiro anual e de ultrassonografias abdominais), de leucemias e de linfomas (através da realização de hemogramas completos), do cancro colorretal (através da realização de uma colonoscopia a cada 2 anos) e também do melanoma (através da realização de um exame dermatológico anual). De facto, após terem sido realizados todos estes exames, identificaram-se 40 tumores assintomáticos em 32% dos doentes (19/59 doentes) submetidos à vigilância, enquanto que, em 88% dos doentes que demonstravam sintomatologia característica desta síndrome, foram detetados 61 tumores. Notavelmente, após o decorrer deste estudo, verificou-se que a taxa de sobrevivência estimada, para um período de 5 anos, foi de cerca de 88% para os doentes submetidos aos exames de rastreio e de, aproximadamente, 59,6% para os que não seguiram o protocolo de vigilância. Os resultados promissores deste estudo forneceram a primeira evidência capaz de apoiar os benefícios provenientes da correta vigilância para portadores de mutações no gene *TP53*. Como limitações deste protocolo aponta-se a obtenção de dois resultados falso-negativos e também dois resultados falso-positivos [192].

É também importante destacar que a exposição dos indivíduos diagnosticados com LFS à radiação ionizante deve ser a menor possível para que se consiga diminuir o risco de desenvolvimento de tumores secundários. No entanto, se a eficácia estimada para o tratamento radioterapêutico for superior ao risco de desenvolvimento de malignidades subsequentes, esta abordagem deve ser priorizada [165].

3.2.5.1. Cancro da mama

As diretrizes implementadas para o rastreio do cancro da mama em mulheres que tenham sido diagnosticadas com LFS, pela *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) [193], que, por sua vez, se basearam no “protocolo de Toronto” [192], recomendam que estas doentes, a partir dos 20 anos de idade, comecem a realizar, a cada 6-12 meses, o exame clínico da mama. Por sua vez, a partir dos 25 anos, é recomendado que estas doentes realizem, anualmente, uma ressonância magnética, com ou sem contraste. Dos 30 aos 75 anos, é aconselhado que estas

mulheres realizem também uma mamografia anualmente (Figura 22). Para idades superiores aos 75 anos de idade, a NCCN recomenda que cada mulher deve ser avaliada individualmente, traçando-se nesse momento um plano de rastreio personalizado. Adicionalmente, também é fortemente recomendado que exista uma reflexão acerca da realização da mastectomia profilática, de forma a que estas doentes conheçam todos os benefícios que esta cirurgia lhes poderá trazer, a longo prazo. Também é de referir que as adolescentes também podem beneficiar da realização de ecografias e/ou de ressonâncias magnéticas mamárias devido ao tecido mamário destas jovens mulheres ainda se apresentar um pouco mais denso que o normal.

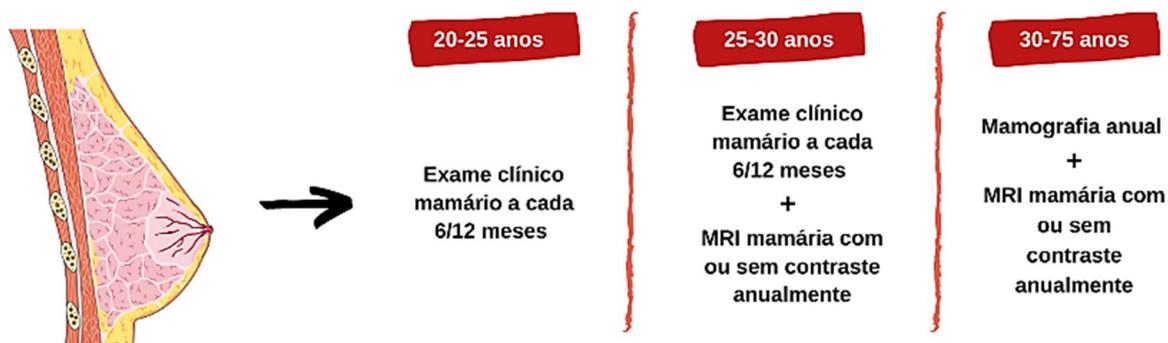


Figura 22 - Representação esquemática dos exames mamários que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.

3.2.5.2. Tumores do Sistema Nervoso Central

Segundo o “protocolo de Toronto”, é recomendado que tanto crianças como adultos com LFS, realizem, anualmente, um exame neurológico e uma ressonância magnética cerebral (Figura 23) [165], [192].

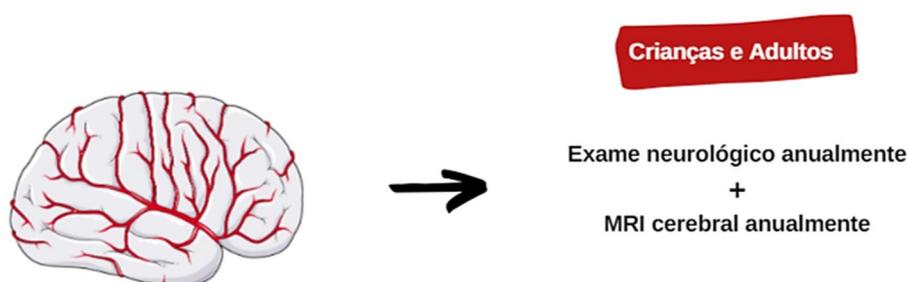


Figura 23- Representação esquemática dos exames neurológicos que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.

3.2.5.3. Sarcomas

Segundo o “protocolo de Toronto”, crianças e adultos, previamente diagnosticados com LFS, devem realizar, anualmente, uma ressonância magnética de corpo inteiro. Os adultos,

adicionalmente, devem realizar uma ecografia abdominal e pélvica, a cada 3-4 meses (Figura 24) [165], [192].



Figura 24 - Representação esquemática dos exames imagiológicos associados à detecção precoce de sarcomas que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.

3.2.5.4. Tumores do córtex suprarrenal

De acordo com o “protocolo de Toronto”, é recomendado que tanto crianças como adultos, previamente diagnosticados com LFS, realizem, a cada 3-4 meses, uma ecografia abdominal e pélvica e análises ao sangue e à urina (Figura 25). Nas análises sanguíneas deve estar incluído o doseamento de concentrações referentes à hidroxiprogesterona, aos níveis gerais de testosterona, à androstenediona e também ao sulfato de deidroepiandrosterona. Já no caso das análises à urina deve constar, se possível, a análise do cortisol presente na urina das 24 horas [165], [192].

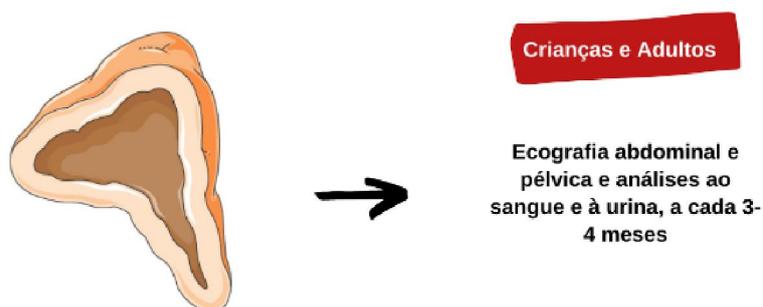


Figura 25 - Representação esquemática dos exames imagiológicos associados à detecção precoce de tumores adrenocorticais que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.

3.2.5.5. Tumores colorretais

Segundo o “protocolo de Toronto”, é recomendado que doentes diagnosticados com LFS realizem, a cada 2/5 anos, uma endoscopia digestiva alta e uma colonoscopia, a partir dos 25 anos de idade (Figura 26). Por outro lado, se estes indivíduos possuírem história familiar, devem

começar a realizar este exame específico cerca de 10 anos antes da idade verificada para o familiar que apresentou este tipo de tumor com uma menor idade [165], [192].

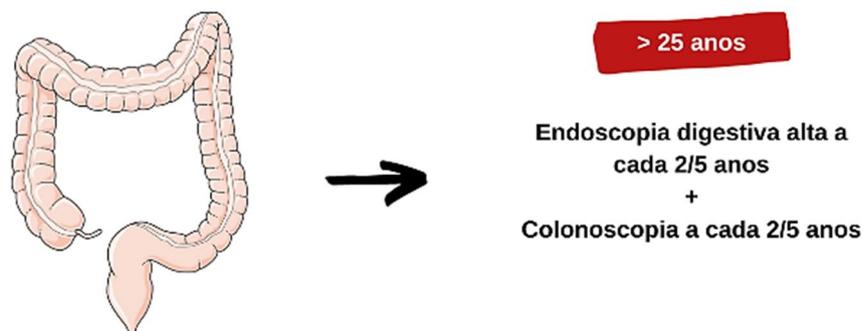


Figura 26 - Representação esquemática dos exames imagiológicos associados à detecção precoce de tumores colorretais que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com LFS.

3.2.5.6. Leucemias e Linfomas

De acordo com o “protocolo de Toronto”, é apenas recomendado que tanto crianças como adultos diagnosticados com LFS realizem exames sanguíneos a cada 3/4 meses. Nestes devem estar incluídos valores como a contagem celular completa, a taxa de sedimentação de eritrócitos e também as concentrações da lactato desidrogenase [165], [192].

3.2.5.7. Melanomas

Segundo o “protocolo de Toronto”, é recomendado que adultos diagnosticados com LFS realizem um exame dermatológico completo, com uma periodicidade anual [165], [192].

3.2.6. Abordagens terapêuticas e avanços

De uma maneira geral, o tratamento administrado a indivíduos diagnosticados com LFS e que verificam o desenvolvimento de algum tipo de tumor, não apresenta muitas diferenças relativamente às abordagens radioterapêuticas aplicadas noutros doentes oncológicos. No entanto, sabe-se que estes doentes tendem a desenvolver, frequentemente, tumores secundários após terem sido expostos a elevadas doses de radiação ionizante decorrentes dessas mesmas terapias [148]. Devido a isto, vários estudos foram realizados ao longo dos anos, tendo alguns deles verificado que portadores de mutações no gene *TP53* são hipersensíveis à exposição à radiação ionizante [194]–[196]. Desta maneira, a realização de radioterapia por indivíduos com LFS deve ser evitada, a menos que se verifique que os benefícios superam os seus potenciais riscos [148], [197]. Perante isto, a realização de uma mastectomia profilática, em casos específicos de cancro da mama, é a recomendação de eleição para estas situações, para evitar a necessidade de recurso a qualquer tipo de radiação ionizante [165].

Atualmente, sabe-se que a administração de agentes quimioterapêuticos pode revelar-se prejudicial na maioria dos doentes diagnosticados com LFS, uma vez que, alguns estudos têm relatado que o seu uso tem um papel direto no aumento do risco associado ao desenvolvimento de leucemias ou de outros tipos de tumores [194], [196]. Por outro lado, uma revisão da

literatura acerca dos possíveis efeitos da quimioterapia adjuvante, em indivíduos com LFS e com cancro da mama, foi conduzido por *Amara Nandikola* [169], em 2017. Os resultados deste estudo demonstraram que a quimioterapia à base de antraciclinas e de taxanos levou à redução da recorrência local de tumores mamários num estágio inicial. Esta redução, por sua vez, fez com que o valor da taxa de mortalidade diminuísse cerca de 30%, o que se revelou ser bastante promissor. Contudo, concluiu-se também que a maioria das doentes que apresentavam mutações no gene *TP53* e que tinham sido diagnosticadas com cancro da mama, tinham uma resposta limitada à quimioterapia. Esta situação deve-se ao facto dos agentes alquilantes e das antraciclinas utilizadas nestes tratamentos possuírem a capacidade de induzir o processo apoptótico nas células, processo esse que depende diretamente da proteína P53. Desta maneira, a mutação e possível inativação da proteína P53 em doentes com LFS é a causa para a resistência observada a este tipo de terapia à base de agentes alquilantes e antraciclinas. Por outro lado, a administração de estabilizadores de microtúbulos, tal como é o caso do paclitaxel, poderá ser vantajosa nestes casos, por atuarem independentemente do comprometimento da função da proteína P53.

3.2.7. LFS e efeitos da radiação ionizante

3.2.7.1. Radiação ionizante associada aos exames de vigilância e diagnóstico

Compreender os fatores que contribuem para o risco de desenvolvimento de cancro associado à existência de mutações no gene *TP53* é imperativo para que se consigam definir e implementar estratégias de rastreio e vigilância personalizadas para estes indivíduos. De momento, não existem dados estatisticamente significativos que permitam implementar um conjunto de diretrizes clínicas específicas para estes indivíduos. Assim, as recomendações dadas aos portadores da LFS baseiam-se apenas nos principais tipos de tumores associados ao desenvolvimento destas mutações, sendo adaptadas de acordo com a história familiar.

Ao longo dos anos, tem-se percebido que a limitação da exposição de portadores de mutações no gene *TP53* à radiação ionizante parece ter um papel crucial na diminuição do desenvolvimento de neoplasias a longo prazo [198]. Desta forma, as diretrizes de vigilância/prevenção recomendadas para doentes com LFS têm sido constantemente atualizadas, tendo-se optado, em muitos dos casos, pela exclusão de exames imagiológicos de diagnóstico que façam uso de radiação ionizante. Como foi supracitado, de todos os exames que constam nas diretrizes mais recentes, a mamografia é a única técnica imagiológica que usa radiação ionizante e que ainda é recomendada em mulheres com LFS a partir dos 30 anos de idade. Este exame, que usa radiação-X, poderá ter consequências futuras no estado de saúde destas doentes, visto que já são muitos os dados que suportam que os portadores de LFS apresentam uma hipersensibilidade aos efeitos adversos da radiação ionizante em comparação com a população em geral. Desta maneira, é urgente entender se a exposição de doentes com LFS a baixas doses de radiação ionizante pode, ou não, ser responsável pelo desenvolvimento de lesões e neoplasias a longo-prazo [199].

Até ao momento, ainda não foi publicado nenhum estudo que descreva quais os efeitos das baixas doses de radiação ionizante em doentes com mutações no gene *TP53*. Mesmo assim, já existem alguns estudos publicados que se focaram na investigação de uma abordagem de vigilância de corpo inteiro especificamente desenvolvida para indivíduos que apresentem estas

mutações. Um estudo, de 2008, conduzido por *Masciari et al.* [200], teve como principal objetivo avaliar se o FDG-PET/CT conseguia detetar, de forma precoce, neoplasias em indivíduos assintomáticos com LFS. Este exame detetou a presença de neoplasias em 3/15 doentes (20%). Embora seja uma técnica que usa radiação ionizante, este estudo foi importante para demonstrar o potencial que uma abordagem de corpo inteiro tem na vigilância destes indivíduos. Em 2011, *Villani et al.* [201], conduziram um estudo que teve como principal intuito investigar se a realização de uma MRI de corpo inteiro conseguia detetar, de forma precoce, neoplasias em indivíduos com LFS. Este estudo incluiu 33 portadores de mutações no gene *TP53*, onde 18 se submeteram à MRI de corpo inteiro. Os restantes 16 indivíduos realizaram os exames imagiológicos que constavam nas diretrizes da altura. Após três anos, os autores conseguiram diagnosticar 12 tumores no grupo que realizou os exames de vigilância padrão, enquanto que, no grupo que se submeteu à MRI de corpo inteiro, diagnosticaram 10 neoplasias (5 tumores malignos: 2 carcinomas do plexo coroide, 2 tumores do córtex suprarrenal e 1 histiocitoma maligno; e 5 lesões de baixo grau ou pré-malignas: 3 gliomas de baixo grau, 1 caso de síndrome mielodisplásica e 1 adenoma da tiroide) em 7 dos indivíduos desse grupo. A taxa de sobrevivência geral, durante esses três anos, foi de 100% no grupo que apenas se submeteu à realização da MRI de corpo inteiro e de 21% no grupo que realizou os exames imagiológicos padrão. Ambos os estudos supramencionados suportam a ideia de que uma abordagem de corpo inteiro que não faça uso de radiação ionizante se apresenta como uma alternativa aos procedimentos imagiológicos que fazem uso de radiação ionizante. Mais estudos terão que ser realizados para que se possa implementar o seu uso em doentes com LFS que sejam portadores de mutações no gene *TP53*.

3.2.7.2. Radiação ionizante associada às abordagens radioterapêuticas

Como foi supramencionado, as abordagens radioterapêuticas estão na base do tratamento da maioria das doenças oncológicas. Apesar do número de estudos que relatam a existência de uma relação entre a exposição de doentes com LFS à radiação ionizante e o consequente desenvolvimento de neoplasias serem escassos, é recomendado que estes indivíduos evitem a realização deste tipo de terapia. Mesmo assim, alguns estudos e ensaios clínicos têm conseguido demonstrar, ao longo dos anos, que a sua administração, numa percentagem significativa destes doentes, é realmente capaz de promover o desenvolvimento de alguns tipos de neoplasias [165].

Estudos

➤ ***Hisada et al. (1998)* [202]**

Em 1998, surge um estudo de coorte retrospectivo conduzido por *Hisada et al.* que teve como principal objetivo a análise do desenvolvimento de múltiplos tumores primários em 200 indivíduos previamente diagnosticadas com LFS. Este estudo foi um dos primeiros a relatar, entre outras coisas, os possíveis efeitos adversos da exposição à radiação ionizante em doentes diagnosticados com esta síndrome hereditária do cancro. Dos 200 doentes envolvidos no estudo, apenas 9 realizaram radioterapia adjuvante, tendo cada um deles recebido uma dose total de radiação entre 35 Gy e 70 Gy. A análise dos dados relativos a esta abordagem

terapêutica sugeriram a existência de uma relação entre a exposição destes doentes à radiação ionizante e o desenvolvimento de cancros induzidos pela radioterapia (CIR). Mais concretamente, foram identificados 8 tumores sólidos (5 tumores dos tecidos moles, 1 cancro da mama, 1 osteossarcoma e 1 mesotelioma) e 1 caso de leucemia em 7 dos 9 doentes que se sujeitaram previamente a tratamentos radioterapêuticos. O período de latência entre a realização de radioterapia e o aparecimento de CIRs nestes doentes, no caso dos tumores sólidos, variou entre os 3 e os 22 anos, enquanto que, para a leucemia, esse período de latência foi de 2 anos.

➤ ***Varley et al. (1999)*** [203]

Este estudo de coorte retrospectivo envolveu 14 portadores de mutações no gene *TP53* com LFS que, por sua vez, tinham sido diagnosticados com neoplasias primárias do córtex suprarrenal. Todos os doentes apresentavam idades inferiores a 15 anos. De facto, apenas 7 desses indivíduos foram sujeitos a tratamentos radioterapêuticos após terem sido diagnosticados com neoplasias do córtex suprarrenal, sendo o objetivo perceber se esses indivíduos desenvolviam, ou não, um maior número de neoplasias do que os doentes que não foram expostos à radiação ionizante. Neste estudo, apesar de não terem sido descritos os fatores que foram considerados para a identificação de CIRs, estes costumam, de uma maneira geral, descrever tumores que tenham surgido, no mínimo, 9 - 15 anos após os doentes terem realizado radioterapia adjuvante e que se tenham desenvolvido dentro da área que sofreu irradiação [204]. Os resultados deste estudo reportaram o desenvolvimento de 5 CIRs em 3 desses mesmos indivíduos:

- Doente 1*: um condrossarcoma e um osteossarcoma, após 9 e 10 anos da realização dos tratamentos radioterapêuticos, respetivamente;

- Doente 4*: um tumor das células fusiformes da mama, após 13 anos da realização de radioterapia;

- Doente 5*: um condrossarcoma e um leiomiossarcoma, após 12 e 25 anos da realização dos tratamentos radioterapêuticos, respetivamente.

Para os restantes 4 indivíduos que realizaram radioterapia não se verificou o aparecimento de nenhum CIR, sendo que isto se pode dever ao facto destes doentes terem falecido entre 1-2 anos após terem sido diagnosticados com neoplasias do córtex suprarrenal. Visto que o período de latência médio entre a realização de radioterapia e o desenvolvimento de CIRs verificado pelos outros 3 doentes foi de 13,8 anos, é possível que aqueles que faleceram não tenham vivido tempo suficiente para que tivessem desenvolvido algum tipo de CIR.

Por outro lado, tendo em conta os 7 indivíduos que não realizaram radioterapia adjuvante, sabe-se que apenas 4 não se submeteram a tratamentos radioterapêuticos (não se sabendo com certeza se os restantes 3 realizaram ou não radioterapia adjuvante). Os resultados referentes a esses 4 doentes foram os seguintes:

- Doente 7* - faleceu 1 ano após ter sido diagnosticado com tumor do córtex suprarrenal;

- Doente 9* - verificou-se que o doente estava vivo e que não tinha desenvolvido nenhum carcinoma após 19 anos do diagnóstico de tumor do córtex suprarrenal;

- Doente 10* - verificou-se que o doente estava vivo e que não tinha desenvolvido nenhum carcinoma após 18 anos do diagnóstico de tumor do córtex suprarrenal;

- Doente 11* - verificou-se que o doente estava vivo e que não tinha desenvolvido nenhum carcinoma após 12 anos do diagnóstico de tumor do córtex suprarrenal.

De acordo com este conjunto de resultados, foi possível inferir que os doentes que realizaram radioterapia adjuvante desenvolveram várias neoplasias secundárias decorrentes da exposição à radiação ionizante, em comparação com os indivíduos que não se submeteram a este tipo de terapia, que não desenvolveram qualquer tipo de neoplasia. Visto que o período de latência médio entre a realização de radioterapia e o desenvolvimento de CIRs verificado pelos doentes que se submeteram a esse tratamento (13,8 anos) foi inferior ao intervalo temporal médio entre o ano de diagnóstico de cancro do córtex suprarrenal e o ano da última avaliação realizada aos indivíduos que não realizaram radioterapia (16,3 anos), foi possível concluir que os resultados deste estudo sugerem que crianças com LFS e que foram diagnosticadas com neoplasias do córtex suprarrenal apresentam uma hipersensibilidade à radiação ionizante decorrente dos tratamentos radioterapêuticos. Desta forma, os autores apelam à implementação de alterações nos protocolos de radioterapia e nos protocolos de vigilância e prevenção de doentes diagnosticados com LFS. Sugere-se que as recomendações referentes ao rastreio de tumores mamários e cerebrais tenham em consideração a minimização da exposição destes indivíduos à radiação ionizante.

* designações conforme o estudo original

➤ ***Heymann et al. (2010)*** [198]

Em 2010, um estudo de coorte retrospectivo incluiu a análise de 8 doentes com LFS diagnosticadas com cancro da mama primário. Das 8 mulheres, 3 foram submetidas a cirurgia conservadora da mama seguida de radioterapia pós-operatória e as restantes 5 realizaram uma mastectomia, e apenas 3 receberam radioterapia adjuvante. Desta forma, 6/8 mulheres realizaram radioterapia adjuvante. Após um acompanhamento médio de seis anos, observou-se o desenvolvimento de 11 tumores, sendo dois causados pela exposição à radiação ionizante decorrentes da realização de radioterapia (dois CIRs). Neste estudo, foram considerados como CIRs as neoplasias que surgiram, pelo menos, nove anos após as doentes terem realizado radioterapia adjuvante e que se encontravam dentro da zona irradiada:

- Doente 5*: aos 35 anos de idade, desenvolveu um angiossarcoma da parede torácica, 13 anos após o tratamento radioterapêutico;

- Doente 8*: desenvolveu um histiocitoma fibroso mamário, não tendo sido reportado o período de latência entre a realização de radioterapia e o desenvolvimento deste CIR.

Adicionalmente, foi relatado o desenvolvimento de um tumor papilar da tiroide numa das doentes que, por sua vez, também se desenvolveu dentro da zona de irradiação. Contudo, visto que esta neoplasia surgiu apenas dois anos após a realização do tratamento radioterapêutico, esta não foi considerada como CIR, mas sim como um novo tumor primário.

Por outro lado, tendo em conta as duas mulheres que não realizaram radioterapia adjuvante após a realização da mastectomia, verificou-se que uma delas não desenvolveu qualquer tipo

de tumor, enquanto que a outra mulher foi diagnosticada com cancro da mama contralateral após ter realizado quimioterapia durante um ano.

Apesar de apenas se ter verificado o desenvolvimento de dois CIRs em duas das mulheres que realizaram radioterapia adjuvante, os autores apoiam a hipótese de que existe uma relação entre a exposição de indivíduos com LFS à radiação ionizante e o posterior desenvolvimento de CIRs. Desta forma, afirmam que a realização de radioterapia adjuvante para tratamento de cancro da mama localizado deve ser amplamente discutida, tendo em conta todos os prós e contras da sua administração, e até mesmo proibida caso a relação risco/benefício não seja clara.

* designações conforme o estudo original

➤ ***Kappel et al. (2015)*** [205]

Este estudo de coorte retrospectivo de 2015 focou-se na análise de uma família austríaca diagnosticada com LFS, em que quatro membros desta família foram tratados com quimioterapia e/ou radioterapia devido ao desenvolvimento prematuro de vários tipos de tumores:

- Doente 1: mulher diagnosticada com cancro da mama aos 23 anos de idade, apresentando história de desenvolvimento de osteossarcoma da costela aos 5 anos. A doente foi tratada com radioterapia local (50 Gy), tendo esta abordagem sido reforçada com a administração de braquiterapia (10 Gy). Além disso, a doente realizou seis sessões de quimioterapia sistémica adjuvante. Sete anos após da realização de radioterapia adjuvante, desenvolveu cancro mamário na mesma mama. Desta vez, a mulher foi submetida à ablação do seio direito, não tendo realizado qualquer tratamento adjuvante. Oito meses depois, a identificação de uma lesão cutânea no local da cicatriz decorrente da cirurgia revelou ser um fibrossarcoma, tendo este sido ressecado com amplas margens. Cinco anos depois foi realizada uma PET-MRI de corpo inteiro, a fim de se minimizar a exposição da doente à radiação ionizante. Desta vez, foi detetado um carcinoma mamário multicêntrico na mama esquerda, tendo-se realizado uma mastectomia da mama esquerda;

- Doente 2: o irmão da doente 1 foi diagnosticado com osteossarcoma da tíbia esquerda aos 23 anos de idade. Este recebeu cinco ciclos de quimioterapia pré-operatória, tendo esta sido seguida pela ressecção do tumor com reconstrução simultânea da tíbia. No pós-operatório, foram administrados mais cinco ciclos da mesma quimioterapia realizada anteriormente. Aos 28 anos de idade, foi identificada uma metástase no pulmão esquerdo, tendo esta sido ressecada. O doente recebeu quimioterapia pós-operatória. Após dois anos, um hemangiopericitoma cutâneo solitário foi diagnosticado e excisado. Um ano depois, o doente foi novamente intervencionado devido a ter desenvolvido múltiplos hemangiopericitomas no local do hemangiopericitoma anterior. Aos 33 anos, desenvolveu um histiocitoma fibroso cutâneo maligno no mesmo local, que foi ressecado. Dez anos mais tarde, aos 43 anos de idade, o doente foi submetido a mais uma cirurgia, tendo sido removida uma nova metástase cutânea do osteossarcoma localizado na cicatriz distal da tíbia. Aos 44 anos, foi diagnosticado um cancro retal, não tendo o doente realizado radioterapia pré-operatória nem quimioterapia adjuvante após a ressecção do tumor. Nove meses depois, o rastreio PET-CT revelou a existência de cancro

do esófago. Mais uma vez, devido ao estágio inicial do tumor e à presença da mutação no gene *TP53*, não foram administradas radio e quimioterapia pré-operatórias;

- Doente 3: outra mulher pertencente a esta família foi diagnosticada, aos 32 anos de idade, com cancro da mama. Esta doente realizou uma quadrantectomia, tendo recebido, posteriormente, seis ciclos de quimioterapia adjuvante e radioterapia local. Dois anos após o término desses tratamentos, ela desenvolveu metástases ósseas, que progrediram rapidamente. A doente recebeu radiação paliativa antes de falecer, quatro anos após o diagnóstico de cancro da mama, aos 36 anos de idade;

- Doente 4: uma terceira mulher pertencente a esta família foi diagnosticada com cancro da mama aos 17 anos de idade. Esta doente realizou uma quadrantectomia, tal como uma dissecação do gânglio linfático axilar. Posteriormente, a doente realizou seis ciclos de quimioterapia adjuvante e radioterapia localizada. Enquanto recebia quimioterapia, ela desenvolveu várias metástases, tendo sucumbido à doença dois anos após o diagnóstico.

Dos quatro doentes que foram incluídos no estudo, apenas três deles realizaram radioterapia adjuvante (doentes 1, 3 e 4). Neste estudo, apesar de não terem sido descritos os fatores que foram considerados para a identificação de CIRs, estes costumam, de uma maneira geral, descrever tumores que tenham surgido entre 9 e 15 anos após os doentes terem realizado radioterapia adjuvante e que se tenham desenvolvido dentro da área que sofreu irradiação [204]. Os resultados relativos à análise destes indivíduos permitiram concluir que se desenvolveram dois tumores na doente 1 (um tumor mamário, 7 anos depois de ter realizado radioterapia adjuvante local, e um fibrossarcoma na mama direita, após 8 anos dessa mesma irradiação). Apesar dessas neoplasias apresentarem períodos de latência entre a realização de radioterapia e o desenvolvimento desses tumores inferiores a 9 anos, esses tumores foram considerados como CIRs. Isto deveu-se ao facto de ambos os tumores serem característicos da LFS e de se terem desenvolvido dentro da região que foi irradiada [206].

Em resumo, os dados deste estudo suportam a hipótese de que o tratamento radioterapêutico pode não melhorar o controlo local de tumores diagnosticados em doentes com LFS e que pode ser responsável pelo desenvolvimento de neoplasias adicionais. Assim, os autores recomendam que a realização de técnicas imagiológicas de vigilância/prevenção que façam uso de radiação ionizante em doentes com mutações no gene *TP53* deve ser cuidadosamente ponderada e substituída por outros métodos sempre que possível.

➤ **Nandikola et al. (2017)** [169]

No ano de 2017, surge um estudo que envolveu a análise de quatro doentes com LFS que tinham sido diagnosticadas com tumor mamário, em algum período da sua vida. De facto, apenas duas mulheres se submeteram à realização de radioterapia adjuvante com o intuito de tratar esse tipo de cancro:

- Doente 2*: uma mulher de 21 anos foi diagnosticada com um cancro ductal invasivo na mama esquerda, tendo realizado, posteriormente, 6 ciclos de quimioterapia neoadjuvante com paclitaxel. Esta doente demonstrou uma excelente resposta clínica à quimioterapia, tendo sido submetida a uma mastectomia após esses resultados favoráveis. No seguimento desta cirurgia, a doente realizou radioterapia de prótons, tendo sido administrada na parede torácica

esquerda. Após um seguimento de dezoito meses, verificou-se que a doente continuava livre da doença, não tendo sido identificados quaisquer neoplasias adicionais até esse altura;

- Doente 4*: uma mulher de 28 anos foi diagnosticada com tumor mamário invasivo na mama direita, tendo sido submetida a uma mastectomia simples. Após este procedimento, a doente realizou dois tipos distintos de quimioterapias adjuvantes e, depois da sua conclusão, submeteu-se a um tratamento de radioterapia adjuvante. Cinco anos depois, aos 33 anos, uma mamografia de acompanhamento revelou a existência de nova massa no quadrante superior externo esquerdo. A biópsia da massa mamária permitiu concluir que se tratava de um carcinoma das células fusiformes. Na sequência deste diagnóstico, a doente foi submetida a uma mastectomia da mama esquerda. Três anos mais tarde, a vigilância anual realizada através de uma PET-CT revelou uma captação ávida na região do útero. Dado o diagnóstico de LFS, a doente foi submetida a uma histerectomia abdominal total em conjunto com uma ooforectomia bilateral que revelou a presença de um leiomiossarcoma de elevado grau. Dezoito meses depois, uma CT torácica de vigilância demonstrou a existência de vários nódulos em ambos os pulmões, tendo a doente sido submetida a 8 ciclos de quimioterapia. Após um seguimento de 110 meses, verificou-se que a doente continuava viva, não tendo desenvolvido nenhuma neoplasia adicional até esse momento.

Visto que o período de latência entre a realização de radioterapia e o desenvolvimento do segundo tumor supracitado (carcinoma das células fusiformes na mama esquerda) foi muito inferior a 9-15 anos, os autores deste estudo concluíram que não se tinha verificado o desenvolvimento de nenhum CIR em nenhuma destas duas doentes. Apesar destes resultados não suportarem estudos anteriores, nos quais se relatou a existência de uma relação entre a exposição de indivíduos com LFS à radiação ionizante e o conseqüente desenvolvimento de CIRs, uma das razões apontadas para estas conclusões poderá ser o reduzido número de indivíduos incluídos no estudo. Mesmo assim, dado o risco de complicações relacionadas ao tratamento, os autores aconselham que a radioterapia adjuvante deve ser cuidadosamente ponderada em indivíduos diagnosticados com LFS.

* designações conforme o estudo original

➤ **Petry et al. (2019)** [207]

Em 2019, foi publicado na literatura um estudo de coorte retrospectivo que envolveu a análise de 16 portadoras de mutações no gene *TP53* com LFS, que tinham sido diagnosticadas com cancro da mama. A maioria das mulheres (n=12) submeteu-se à realização de tratamentos radioterapêuticos adjuvantes após esse mesmo diagnóstico. Desta maneira, o objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de CIRs após a realização de radioterapia adjuvante por estas doentes. Neste estudo, apesar dos autores referirem que a descrição de CIR, para a população em geral, consiste em neoplasias que se encontram dentro da zona que sofreu irradiação e que surgem após 9 - 15 anos dos doentes terem realizado radioterapia adjuvante, estes defendem que, para doentes diagnosticados com LFS, é normal este período de latência ser inferior nestes casos. Desta maneira, após um acompanhamento médio de 52,5 meses, os autores consideraram que se verificaram dois CIRs em duas das doentes expostas à radiação ionizante. Uma das doentes, 6,6 anos após ter realizado radioterapia adjuvante, desenvolveu um

fibrossarcoma na região torácica, enquanto que a outra desenvolveu um leiomiossarcoma, também na região torácica, cerca de 15,7 anos após a realização da quimioterapia adjuvante.

Posto isto, concluiu-se que, apesar destes resultados estarem de acordo com muitos dos estudos observacionais publicados anteriormente, a prevalência de CIRs decorrente da realização de radioterapia para tratamento de tumores mamários primários foi menor do que a verificada nesses estudos retrospectivos. Os autores atribuíram estes resultados ao tamanho reduzido da amostra. Mesmo assim, este estudo reforça a ideia de que o diagnóstico molecular precoce e a avaliação cuidadosa dos riscos e benefícios associados à radioterapia são essenciais para doentes que sejam diagnosticados com LFS.

➤ **Le et al. (2020)** [208]

Um estudo de coorte retrospectivo publicado no ano corrente (2020) e conduzido por *Le et al.*, envolveu o estudo de 51 mulheres com LFS e que tinham sido diagnosticadas com cancro da mama primário. Dessas mulheres, apenas 18 realizaram radioterapia adjuvante. Após um seguimento médio de 12,5 anos, observou-se que duas das doentes incluídas no estudo desenvolveram dois CIRs:

- Doente PC-67-1*: desenvolveu um tumor da tiroide, 10 anos após ter concluído os tratamentos radioterapêuticos;

- Doente PC-27-1*: aos 8 anos de idade foi diagnosticada com leucemia, tendo desenvolvido, já em idade adulta, um tumor mamário. Após este diagnóstico, esta doente submeteu-se a uma mastectomia, tendo recebido radioterapia pós-operatória. Quatro anos após o término desta abordagem terapêutica, esta mulher foi diagnosticada com um sarcoma dentro do local da irradiação. Seguidamente, procedeu-se à ressecção deste tumor e, até à publicação deste estudo, a doente continuava viva e livre da doença há 12 anos.

Desta forma, as frequências associadas ao desenvolvimento de um sarcoma e de um tumor da tiroide, em doentes com LFS e com cancro da mama primário, após terem recebido radioterapia adjuvante, foram de 6% para ambos os casos. Estas percentagens permitiram inferir que os riscos inerentes ao desenvolvimento destes dois tipos de neoplasias induzidas pela exposição à radiação ionizante são superiores para doentes com LFS em comparação com os riscos associados à população em geral. Mesmo assim, em concordância com o estudo de *Petry et al.*, também foi possível constatar que o risco de desenvolvimento de neoplasias secundárias induzidas pela radiação ionizante em doentes com LFS e com cancro da mama era menor do que aquele que fora relatado anteriormente na literatura. Mesmo assim, os autores reforçam que a realização de exames de vigilância/prevenção que façam uso de radiação ionizante e a realização de radioterapia por doentes diagnosticados com esta síndrome hereditária devem ser ponderadas e evitadas sempre que possível.

* designações conforme o estudo original

Casos clínicos

➤ ***Limacher et al. (2001)*** [209]

Uma mulher de 25 anos, com LFS e com história familiar de desenvolvimento tumoral, foi diagnosticada com cancro da mama do lado direito. A sua mãe, também aos 25 anos de idade, foi diagnosticada com um carcinoma do pescoço, a sua irmã, aos 27 anos, foi diagnosticada com um astrocitoma de grau II e, por último, a sua filha, aos 3 anos de idade, faleceu devido ao desenvolvimento de um meduloblastoma cerebral. Após ter sido diagnosticada com cancro da mama, a doente submeteu-se a uma mastectomia da mama direita e à dissecação ipsilateral do gânglio linfático axilar. Após estes procedimentos cirúrgicos, a doente realizou 6 ciclos de quimioterapia adjuvante, seguidos da administração de uma dose total de 45 Gy de radioterapia adjuvante na zona torácica e supraclavicular, tal como a nível dos gânglios linfáticos mamários internos. Adicionalmente, também recebeu terapia hormonal adjuvante à base de tamoxifeno e de goserrelina. Quatro anos mais tarde, apresentou recorrência da doença no gânglio linfático direito supraclavicular, tendo-se procedido à excisão cirúrgica da lesão e à administração de uma dose total de 30 Gy de radioterapia adjuvante na zona supraclavicular. Após o término da radioterapia adjuvante, a doente continuou a terapia hormonal adjuvante apenas com tamoxifeno e submeteu-se à realização de radioterapia adjuvante na zona dos ovários, tendo sido exposta a uma dose total de 20 Gy. Aos 33 anos de idade, uma radiografia torácica de vigilância detetou a existência de uma massa no pulmão direito, que se verificou ser um tumor pulmonar de pequenas células. No seguimento deste diagnóstico, a doente realizou quimioterapia adjuvante à base de cisplatina, tendo-se observado a remissão total do tumor. Contudo, 6 meses mais tarde, o tumor recidivou localmente, tal como foi diagnosticado o desenvolvimento de uma neoplasia adicional: um adenocarcinoma infiltrante do cólon sigmoide. Apesar de lhe ter sido sujeita a quimioterapia adjuvante, a doente acabou por falecer quatro meses após este novo diagnóstico.

Os autores que publicaram este caso clínico referem que o desenvolvimento dos vários tumores primários na doente em causa pode ter sido uma manifestação genética, mas que, mesmo assim, não acreditam que seja esse o caso. Os autores defendem que estas neoplasias são CIRs, pois apresentam um conjunto de características distintas que devem ser discutidas e analisadas de forma crítica:

- a radioterapia adjuvante foi administrada em menos de 10% do seu volume corporal total. Apesar da definição geral de CIR descrever que estes carcinomas são um evento raro e que costumam verificar um período de latência entre 9 e 15 anos para a população em geral, os autores deste ensaio clínico consideram estas duas neoplasias como CIRs. Isto deve-se ao facto da probabilidade de se desenvolverem dois tumores num volume corporal tão restrito, em indivíduos diagnosticados com LFS, ser inferior a 0,04% [204]. Desta maneira, os autores consideram que este fenómeno foi verificado duas vezes na doente em causa, tendo os dois CIRs apresentado períodos de latência entre a realização de radioterapia e o seu desenvolvimento inferiores a 9 anos (tumor do pulmão de pequenas células: 8 anos / adenocarcinoma do cólon: 4 anos);

- os tumores do pulmão e do cólon, apesar de já terem sido descritos em doentes com LFS, apresentam-se muito menos frequentes do que os tumores pertencentes ao espectro clássico de tumores da LFS (tumores mamários pré-menopausa, sarcomas dos tecidos moles, tumores do sistema nervoso central, osteossarcomas e neoplasias do córtex suprarrenal). No entanto, é sabido que tumores do pulmão de pequenas células e adenocarcinomas do cólon fazem parte do conjunto de tumores mais frequentemente relacionados à exposição de indivíduos à radiação

ionizante, tal como leucemias, mielomas múltiplos, tumores da mama, do esófago, do estômago e do trato urinário [210].

- foi determinado que o tumor do pulmão de pequenas células é o subtipo de cancro do pulmão mais frequentemente observado em mineiros de urânio (62% vs. 29% para a população geral) e que essa proporção aumenta com a dose de radiação, sugerindo uma relação causal [211].

Desta forma, o desenvolvimento de dois tumores metacrónicos dentro das zonas que sofreram irradiação sugerem que a doente demonstrou uma sensibilidade anormal aos efeitos carcinogénicos da radioterapia adjuvante. Assim, este caso clínico suporta a ideia de que indivíduos com LFS apresentam uma hipersensibilidade à radiação ionizante em comparação com a população em geral.

➤ ***Salmon et al. (2007)*** [212]

Uma mulher com LFS, sem história familiar de cancro, foi diagnosticada com cancro da mama bilateral aos 27 anos de idade. Na sequência deste diagnóstico, a doente submeteu-se a uma mastectomia da mama esquerda e a uma lumpectomia da mama direita. Após estes procedimentos cirúrgicos, a doente realizou quimioterapia adjuvante seguida de radioterapia adjuvante locorregional (seio direito, axila e zona supraclavicular). Adicionalmente, também recebeu terapia hormonal adjuvante com tamoxifeno. Quarenta meses após a conclusão da radioterapia, verificou-se que a doente desenvolveu um terceiro tumor da mama, desta vez localizado apenas no seio direito. Após este diagnóstico, foi realizada uma mastectomia da mama direita, tendo a doente realizado quimioterapia adjuvante após esta cirurgia. Ainda durante este tratamento, a doente começou a apresentar dores severas no ombro direito, tendo sido diagnosticado, nessa mesma zona, um histiocitoma fibroso maligno da clavícula direita. O tumor foi completamente ressecado mas, dezoito meses após essa ressecção, verificou-se que a doente tinha desenvolvido metástases nos pulmões e nos tecidos moles de ambos os glúteos. A doente acabou por falecer cerca de um ano depois deste último diagnóstico.

Como já foi referido em muitos dos estudos supracitados, o desenvolvimento de CIRs é raro, mas encontra-se bem documentado. Visto que os sarcomas estão entre as neoplasias secundárias mais frequentemente descritas em indivíduos que foram expostos à radiação ionizante, os autores deste caso clínico consideraram que a doente em causa desenvolveu um CIR - histiocitoma fibroso maligno. Apesar deste tumor se ter desenvolvido apenas 3,5 anos após a conclusão da radioterapia adjuvante (apresentando um período de latência bastante inferior a 9 anos), os autores afirmam tratar-se de um CIR visto que esta neoplasia se desenvolveu dentro da zona irradiada e que o risco de desenvolvimento de sarcomas secundários na zona que sofreu irradiação é significativamente maior para portadores de mutações no gene *TP53*, podendo justificar o encurtamento do período de latência observado. Posto isto, este ensaio clínico sugere que portadores de mutações no gene *TP53* e que tenham sido diagnosticados com LFS não devem submeter-se a tratamentos radioterapêuticos adjuvantes, visto que aparentam possuir um maior risco de desenvolverem um CIR.

➤ ***Henry et al. (2012)*** [213]

Uma mulher de 24 anos, com LFS e histórico familiar de cancro, foi diagnosticada com cancro ductal invasivo da mama na mama esquerda. Na sequência deste diagnóstico, a doente submeteu-se a uma lumpectomia do seio esquerdo em conjunto com uma dissecação do gânglio linfático axilar. Após esta cirurgia, realizou quimioterapia adjuvante seguida de WBRT (dose total administrada de 50,4 Gy) e de radioterapia direcionada à cavidade decorrente da lumpectomia (administração de 10 Gy). Vinte e sete meses após ter concluído os tratamentos radioterapêuticos adjuvantes ($\approx 2,2$ anos), a doente foi diagnosticada com um leiomiossarcoma na parede torácica, tendo-se submetido, novamente, a radioterapia adjuvante, tendo desta vez sido administrada uma dose total de 40 Gy. Visto que este tumor se desenvolveu dentro da área que sofrera irradiação anteriormente, os autores consideraram que este se tratava de um CIR.

Apesar da LFS ser uma síndrome hereditária do cancro rara, este caso clínico demonstra que doentes diagnosticados com esta patologia são mais suscetíveis aos efeitos adversos decorrentes da exposição a elevadas doses de radiação ionizante que a população em geral. Adicionalmente, os autores recomendam que os exames imagiológicos de rastreio que façam uso de radiação ionizante devem ser evitados por doentes com LFS, visto que estes apresentam uma maior predisposição para o desenvolvimento de CIRs, qualquer que seja a dose de radiação ionizante. Neste caso, o período de latência entre a realização de radioterapia adjuvante pela doente e o desenvolvimento de uma neoplasia secundária induzida pela radiação ionizante foi de cerca de 2,2 anos, sendo este um dos períodos mais curtos alguma vez relatados para doentes diagnosticados com LFS.

➤ ***Barbosa et al. (2015)*** [214]

Uma mulher de 32 anos de idade com LFS e que já tinha desenvolvido um adenocarcinoma do cólon sigmoide aos 26 anos, foi diagnosticada com cancro ductal invasivo da mama direita. Após o diagnóstico desta neoplasia, a doente submeteu-se a uma setorectomia mamária em conjunto com uma excisão do gânglio linfático sentinela. Na sequência desta cirurgia, a doente realizou quimioterapia adjuvante à base de antraciclinas seguida de radioterapia adjuvante na zona da mama direita. Adicionalmente, também recebeu terapia hormonal adjuvante com tamoxifeno. Cerca de quatro anos após esta doente ter concluído a radioterapia adjuvante, a mesma foi diagnosticada com um carcinoma ductal *in situ* da mama esquerda, tendo realizado uma mastectomia do seio esquerdo. Cerca de seis anos depois, em 2015, a doente procurou atendimento hospitalar, pois desenvolveu vermelhidão e nódulos na mama direita. A mulher foi submetida a uma ressecção cirúrgica que revelou que a massa era um angiossarcoma epitelióide. Devido a esta ressecção completa, a doente continuou a ser acompanhada até, pelo menos, à publicação deste caso clínico na literatura.

Visto que a definição geral de neoplasia induzida pela radiação ionizante descreve que este tipo de tumores surge de forma bastante rara e que costumam verificar um período de latência entre 9 e 15 anos, os autores deste caso clínico consideraram que o angiossarcoma epitelióide desenvolvido pela doente em causa é um CIR. Esta constatação baseou-se, principalmente, em dois factos: o período de latência entre a realização de radioterapia adjuvante e o desenvolvimento deste tumor foi de aproximadamente 10 anos; o angiossarcoma desenvolveu-se dentro da área que tinha sido previamente irradiada. Assim, os autores realçam que é fundamental que a realização de abordagens radioterapêuticas em doentes com LFS deve ser ponderada e evitada sempre que possível, a fim de se minimizar o risco associado ao desenvolvimento de CIRs. Nos casos em que se entender que a realização de radioterapia é

benéfica, os doentes devem ser intensivamente monitorizados, tendo-se sempre em consideração o risco destes indivíduos poderem vir a desenvolver neoplasias secundárias decorrentes da exposição à radiação ionizante.

➤ **Novoa et al. (2019)** [215]

Uma mulher de 37 anos, com LFS e com história familiar de desenvolvimento tumoral, foi diagnosticada com cancro ductal infiltrante da mama de grau III em ambos os seios. A sua mãe, aos 36 anos de idade, faleceu devido ao desenvolvimento de metástases associadas a um tumor da mama e a sua irmã, aos 35 anos, também foi diagnosticada com um cancro da mama. Após este diagnóstico, a doente submeteu-se a uma mastectomia dupla e à excisão dos gânglios linfáticos sentinela. Posteriormente a esta cirurgia, a doente realizou quimioterapia adjuvante, tal como terapia hormonal adjuvante à base de tomoxifeno e de goserrelina. Seguidamente, a doente, apesar de ter sido aconselhada a não realizar radioterapia adjuvante, optou por se submeter a este tipo de terapia. A radioterapia adjuvante, por sua vez, foi administrada na zona da parede torácica e da cadeia ganglionar direita. Quatro anos após a conclusão da radioterapia, a doente apresentou vermelhidão e inflamação a nível do sulco inframamário direito que, através de uma biópsia, se concluiu ser um angiossarcoma.

Posto isto, os autores que relataram este caso clínico conseguiram chegar a duas conclusões importantes:

- a realização de radioterapia adjuvante deve ser cuidadosamente ponderada e limitada em doentes diagnosticados com LFS, pois a probabilidade destes indivíduos desenvolverem um tumor radio-induzido, ou seja um CIR, é muito alta ($\approx 48\%$);

- os angiossarcomas decorrentes da exposição à radiação ionizante podem desenvolver-se após a realização de uma mastectomia e, por essa razão, todas as lesões que surjam na zona que sofreu irradiação devem ser biopsiadas.

➤ **Crafton et al. (2019)** [216]

Uma mulher de 25 anos, com LFS e com uma vasta história familiar de desenvolvimento tumoral, foi diagnosticada com um adenocarcinoma do reto. A história familiar desta doente relatava 3 casos de cancro colorretal (tia paterna – 42 anos; tio-avô paterno – idade desconhecida; primo de 1º grau da parte paterna – 60 anos), um caso de cancro do pulmão (tio materno – 66 anos) e um caso de linfoma não-Hodgkin (avó materna – 78 anos). Após ter sido diagnosticada com um tumor do reto, a doente submeteu-se à realização de quimioterapia adjuvante seguida de radioterapia adjuvante. Em seguida, esta doente submeteu-se a uma ressecção perineal abdominal e a uma ileostomia. Após esta cirurgia, foi administrada quimioterapia adjuvante à doente. Cerca de 10 anos após esta doente ter concluído a radioterapia adjuvante, a doente foi diagnosticada com uma nova neoplasia, pensando-se, primeiramente, ser 1 carcinoma seroso de alto grau das trompas de Falópio. Após este diagnóstico, a mulher realizou quimioterapia adjuvante seguida de um conjunto de exames e procedimentos cirúrgicos, tendo realizado uma laparotomia exploradora com histerectomia, salpingo-ooforectomia bilateral, omentectomia, ressecção de uma massa hepática, apendicectomia, ressecção do intestino delgado e ablação através de laser de argon. Na sequência destas cirurgias, os tecidos foram analisados, tendo-se concluído que a doente tinha desenvolvido um angiossarcoma e não um tumor do ovário. Após a correção do diagnóstico

desta neoplasia, a doente realizou quimioterapia adjuvante. Ainda durante este regime de tratamento, foi diagnosticada com doença metastática no fígado e desenvolveu uma obstrução intestinal maligna. Devido a todas estas complicações, a doente acabou por falecer cerca de 6 meses após ter realizado aquele conjunto de cirurgias.

O angiossarcoma verificado nesta doente foi considerado, pelos autores, como um CIR. Esta constatação foi dada tendo em conta dois fatores:

- o desenvolvimento de muitos tipos de sarcomas dos tecidos moles tem sido atribuído à radiação ionizante, após doentes oncológicos terem realizado radioterapia adjuvante. Os tipos mais frequentemente relatados foram os sarcomas pleomórficos indiferenciados, os leiomiossarcomas e os angiossarcomas [217];

- o tratamento radioterapêutico administrado à mulher descrita neste caso clínico incidu sobre a sua zona pélvica.

Assim, devido ao angiossarcoma ser um dos tipos de tumores mais frequentemente associados aos efeitos adversos provocados pela radiação ionizante, de se ter desenvolvido dentro da área que fora irradiada e de se ter desenvolvido cerca de 10 anos após a realização de radioterapia adjuvante, os autores consideraram que esta neoplasia se trata de um CIR.

Tabela 7 - Estudos que avaliam o risco de desenvolvimento de neoplasias induzidas pela radiação ionizante após realização de radioterapia em doentes com LFS.

Características dos estudos	Le et al. [208]	Petry et al. [207]	Nandikola et al. [169]	Kappel et al. [205]	Heymann et al. [198]	Varley et al. [203]	Hisada et al. [202]
Nº de doentes estudados	51	16	4	4	8	14	200
Nº de doentes estudados que foram sujeitos a RT	18	12	2	3	6	7	9
Dose de RT (Gy)	NR	NR	NR	D1 – 50 (radioterapia local) + 10 (braquiterapia) / D3 – NR / D4 - NR	NR	NR	35-70
Nº de CIR/Nº doentes	2 / 2	2 / 2	NR	2 / 1	2 / 2	5 / 3	9 / 7
Tumores primários	CM	CM	CM	CM	CM	CA	D1, D2 e D3 - STM D4 - OS D5 - CM D6 - CP D7 - L
Tipos CIR	D1 – S D2 – CT	D1 - FS D2 – LMS	NA	D1 – CM e FS	D1 – AS D2 – HF	D1 - CS e OS D2 - CCF D3 - OC e LMS	D1 - STM D2 - OS D3 - STM D4 - STM e CM D5 - M e STM D6 - STM D7 - L
Período de latência entre a RT e o aparecimento das CIR (anos)	D1 – 4 D2 – 10	D1 – 6.6 D2 – 15.7	NA	D1 – 7 e 8	D1 – 13 D2 - NR	D1 – 9 e 10 D2 – 13 D3 – 12 e 25	TS - 3-22 L - 2

CIR - Carcinoma induzido pela radiação NR – não reportado NA - não aplicável RT – radioterapia D – Doente FS – Fibrossarcoma HF - Histiocitoma fibroso AS – Angiossarcoma S – Sarcoma CM – Cancro da Mama OC – Osteocondroma CT – Cancro Tiróide LMS – Leiomiossarcoma L – Leucemia CA - Carcinomas adrenocorticais CS – Condrossarcoma CCF – Carcinoma das Células Fusiformes STM – Sarcoma dos Tecidos Moles M – Mesotelioma

Tabela 8 - Casos clínicos que relataram o desenvolvimento de 2^{as} neoplasias induzidas pela radiação ionizante após realização de radioterapia em doentes com LFS.

Referências	Tumor Primário	CIR	Dose RT	Período de latência entre a RT e o aparecimento das CIR (anos)
Crafton et al. (2019) [216]	Adenocarcinoma do Reto	Angiossarcoma	NR	10
Novoa et al. (2019) [215]	Cancro da Mama	Angiossarcoma	NR	4
Barbosa et al. (2015) [214]	Cancro da Mama	Angiossarcoma epitelióide	NR	10
Henry et al. (2012) [213]	Cancro da Mama	Leiomiossarcoma	50,4 Gy – mama esquerda 10 Gy – cavidade da lumpectomia	2,2
Salmon et al. (2007) [212]	Cancro da Mama	Histiocitoma fibroso maligno	50 Gy – seio direito, axila e zona supraclavicular	3,5
Limacher et al. (2001) [209]	Cancro da Mama	Cancro do pulmão de pequenas células + Adenocarcinoma do cólon	45 Gy - zona torácica, supraclavicular e gânglios linfáticos mamários 30 Gy – zona supraclavicular 20 Gy – zona pélvica (ovários)	8 e 4

RT – radioterapia NR – não reportado

3.3. Anemia de Fanconi

3.3.1. História/conceito básico

A FA é uma doença rara associada à reparação defeituosa do DNA que, por sua vez, pode ser herdada de forma autossômica recessiva, de forma autossômica dominante ou através do cromossoma sexual X. Existem, pelo menos, 18 genes que são associados ao desenvolvimento de FA, sendo eles *FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD1*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCL*, *FANCN*, *FANCP*, *FANCQ*, *FANCT*, *FANCU*, *FANCV* e *FANCW* [218], [219]. Para além dos anteriores, 4 genes adicionais, o *FANCM*, o *FANCO*, o *FANCR* e o *FANCS*, estão na base do desenvolvimento de uma patologia designada de “tipo anemia de Fanconi” [220].

Os indivíduos diagnosticados com a síndrome de FA apresentam certas anomalias físicas, falência da medula óssea, predisposição elevada para o desenvolvimento de certos tipos de tumores e, na maioria das vezes, um processo de envelhecimento bastante precoce [221]. A presença de malformações físicas está presente em cerca de 75% dos indivíduos diagnosticados com FA, sendo as mais frequentes a baixa estatura, pigmentação anormal da pele, malformações esqueléticas dos membros superiores e inferiores, microcefalia e anomalias do trato oftálmico e geniturinário. A insuficiência progressiva da medula óssea acompanhada, na maioria das vezes, de pancitopenia (diminuição do número de células sanguíneas) costuma, de uma forma geral, surgir na primeira década de vida. Devido a isto, a incidência média de leucemia mieloblástica aguda nestes indivíduos é de aproximadamente 13%, considerando uma idade de 50 anos. Relativamente ao desenvolvimento de tumores sólidos, doentes com FA tendem a desenvolver com frequência tumores da cabeça e do pescoço, da pele, do trato gastrointestinal e também do trato geniturinário [219].

A FA foi descrita, pela primeira vez, no ano de 1927, pelo pediatra suíço *Guido Fanconi* que descreveu uma família constituída por 3 irmãos que apresentavam, aquando do seu nascimento, várias anomalias, tais como macrocitose, pancitopenia e também deficiências físicas. Todos acabaram por falecer em idades precoces e, por esta razão, *Guido* achou o caso bastante peculiar, tendo relatado que a causa associada à morte dos irmãos apresentava semelhanças com a anemia perniciosa. Só mais tarde, nos anos 60, é que foi efetivamente demonstrado que o distúrbio verificado nesta família se baseava numa instabilidade cromossômica subjacente, associada a uma elevada predisposição para a falência da medula óssea e para o desenvolvimento de tumores [222]. Também na mesma altura, vários investigadores observaram que, aquando da análise de células cultivadas de doentes com FA, se verificava um aumento no número de quebras cromossômicas. No decorrer destas observações, vários estudos permitiram estabelecer uma relação entre este número elevado de quebras e a hipersensibilidade a agentes específicos de reticulação do DNA, tal como o diepoxibutano, a mitomicina C e a cisplatina [223].

Em conjunto, as características moleculares semelhantes e a sintomatologia clínica comum a indivíduos diagnosticados com FA, sugerem que os produtos codificados pelos genes da família FANC (do inglês “*Fanconi anemia complementation group*”) podem, efetivamente, funcionar numa via de sinalização bastante específica designada de via FA. A caracterização genética de doentes com FA é essencial para o desenvolvimento de terapias, incluindo a realização de transplantes de células estaminais hematopoiéticas de dadores compatíveis, da terapia génica ou então da complexa “edição” do genoma destes doentes, através da recombinação genética ou de nucleases modificadas [224].

3.3.2. Predisposição genética

Os principais genes associados ao desenvolvimento de FA são os genes *FANCA* (do inglês “*Fanconi anemia complementation group A*”), *FANCC* (do inglês “*Fanconi anemia complementation group C*”) e *FANCG* (do inglês “*Fanconi anemia complementation group G*”). Enquanto o gene *FANCA* se encontra localizado na região 24.3 do braço longo do cromossoma 16 (16q24.3), o gene *FANCC* encontra-se na região 22.32 do braço longo do cromossoma 9 (9q22.32). Por sua vez, o gene *FANCG* localiza-se na região 13.3 do braço curto do cromossoma 9 (9p13.3). Cada um destes genes é responsável pela codificação das proteínas *FANCA*, *FANCC* e *FANCG*, respetivamente, que pertencem ao grupo de proteínas conhecido como complexo do núcleo FA. Este complexo é constituído por proteínas FA e por proteínas adicionais designadas de proteínas associadas ao complexo FA (FAAPs, do inglês “*FA-associated proteins*”) e encontra-se envolvido num processo celular específico conhecido como via FA, ou via “FA-BRCA”, visto que algumas das proteínas FA estão diretamente relacionadas com as proteínas BRCA1/2 [225]–[227]. Esta via é ativada durante a fase S do ciclo celular ou quando existem lesões no DNA, principalmente quando estas são desencadeadas por agentes de reticulação [221].

A via de sinalização FA (Figura 27) é frequentemente diferenciada em três partes: a parte I, a parte II e a parte III. A parte I é constituída por 10 proteínas FA conhecidas, *FANCA*, B, C, G, F, G, L, M, T e possivelmente a I, pelas FAAPs e também por outras proteínas adicionais. Por outro lado, a parte II é composta pelas proteínas *FANCD2* e *FANCI* (complexo FA ID), que desempenham um papel central na coordenação de toda a via de sinalização FA. Por último, a parte III é constituída pelas restantes proteínas da via FA e por outras proteínas essenciais [228]. A ativação da via FA é iniciada pelas proteínas *FANCM*, *FAAP24* e *MHF* que, por sua vez, formam um complexo que tem um papel crucial na deteção de lesões no DNA e na iniciação da ativação das vias de transdução de sinal. É este complexo que promove a ativação do complexo FA e das outras proteínas (parte I) que, subsequentemente, promove a ativação das ubiquitinas E3 ligases que irão monoubiquitinar as proteínas *FANCD2* e *FANCI* (parte II). Seguidamente, *FANCD2* e *FANCI* são responsáveis por recrutar e coordenar as proteínas que constituem a parte III, para que estas consigam reparar as lesões existentes no DNA através dos mecanismos BER, NER, TLS, NHEJ e recombinação homóloga. Além disso, sabe-se que *USP1* (do inglês “*ubiquitin-specific peptidase 1*”) possui a capacidade de desubiquitinar *FANCD2*/I, inativando assim a via FA. Mais importante ainda, pensa-se que as proteínas *ATM*, *ATR* e *HHR6* (do inglês “*human homologs of yeast Rad6*”), juntamente com a proteína *FANCM* e as FAAPs, atuam como reguladores do ciclo celular a montante desta via [221],[228]. Assim, aquando da existência de lesões no DNA, esta via irá recrutar certas proteínas para o local da lesão, onde irão proceder à reparação do DNA. O erro é corrigido e a replicação do DNA prossegue normalmente. Por outro lado, se o complexo FA não se encontrar funcional devido à existência de danos específicos, tal como é o caso da reticulação entre cadeias, este não atrai as proteínas necessárias para corrigir os danos existentes no DNA, o que faz com que o processo de replicação do DNA seja interrompido. [225]–[227].

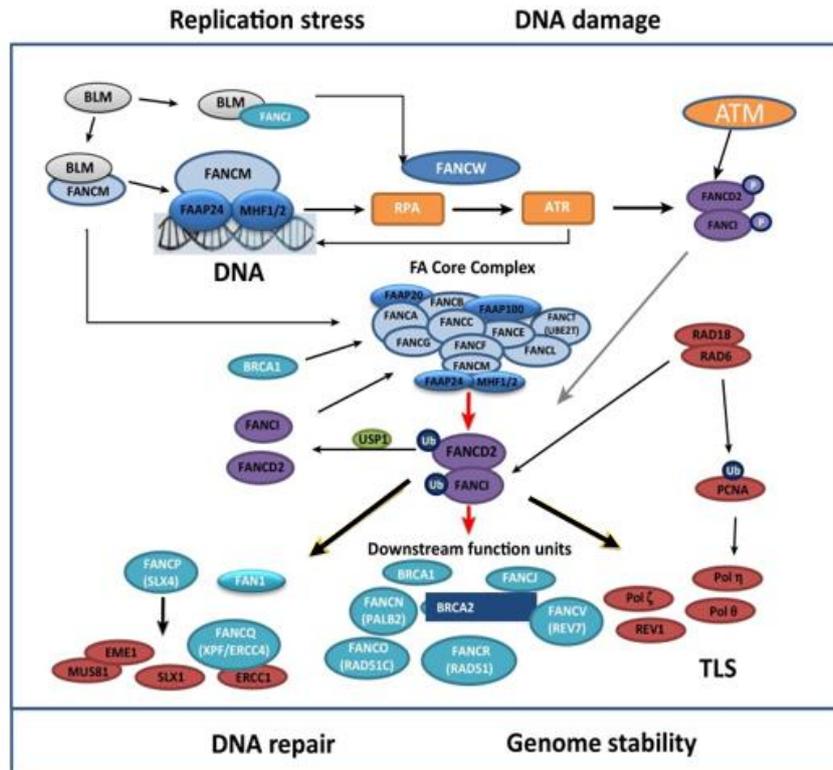


Figura 27 - Via de sinalização FA. Dentro da via de sinalização FA, as proteínas FANCA, B, C, E, F, G, L, M, T e possivelmente a I, juntamente com as FAAPs (FAAP20/24/100 e MHF1/2), garantem a atividade da ubiquitina E3 ligase para que as proteínas FANCD2 e FANCI sejam monoubiquitinadas. FANCD2 e FANCI monoubiquitinadas, por sua vez, recrutam e coordenam o resto das proteínas FA, tal como outras proteínas, para que se possam reparar as lesões existentes no DNA. Além disso, a USP1 pode desubiquitinar as proteínas FANCD2/I, inativando assim a via FA. As setas vermelhas indicam a via canônica de FA. Retirado de *Fanconi Anemia Signaling and Cancer*, 2017

Posto isto, a existência de mutações nos genes *FANCA*, *FANCC* e *FANCG* levam a que o complexo do núcleo da via FA não se encontre funcional, o que faz com toda a via seja interrompida. Como resultado, as lesões existentes no DNA não poderão ser reparadas com eficiência, verificando-se, ao longo do tempo, uma acumulação de reticulações entre cadeias. Estas, por sua vez, irão interromper o processo de replicação do DNA, com a consequente indução de morte celular ou então, desencadear uma proliferação descontrolada das células devido à escassez de processos de reparação do DNA. Assim, as células mais afetadas são as que se dividem rapidamente e com bastante frequência, tal como as células da medula óssea e as células do feto em desenvolvimento. Posto isto, a morte dessas células irá resultar na diminuição das células sanguíneas e no consequente aparecimento das deficiências físicas características da FA [225]–[227].

Gene *FANCA*

Mais de 450 mutações no gene *FANCA* estão na origem do desenvolvimento da FA. Atualmente, sabe-se que a existência de mutações neste gene é responsável por 60% a 70% de todos os casos de FA conhecidos e relatados. Algumas destas mutações estão na base da codificação de uma proteína *FANCA* deficiente, mas com alguma função residual, enquanto que

outras mutações impedem a codificação e a consequente síntese dessa proteína. A presença deste último tipo de mutações, de uma maneira geral, leva à diminuição abrupta da produção de células sanguíneas em idades precoces o que, por sua vez, faz com que o risco de desenvolvimento de tumores associados a estas células sanguíneas aumente em comparação com as mutações que permitem a síntese de proteínas FANCA mutadas [219],[225].

Gene *FANCC*

Até ao momento, foram identificadas, pelo menos, 50 variantes patogénicas no gene *FANCC* responsáveis pelo desenvolvimento de FA, de modo que a existência de mutações neste gene está na origem de cerca de 14% de todos os casos diagnosticados. Dessas 50 mutações, sabe-se que uma delas surge apenas em indivíduos que possuam, na sua família, antecedentes judaicos provenientes da Europa Central e Oriental (população *Ashkenazi*). Esta variante patogénica específica induz a interrupção de alguns mecanismos que estão na base da síntese da proteína *FANCC* pelo seu gene correspondente. Os indivíduos que possuem este tipo específico de mutação tendem a apresentar sintomatologia mais severa do que aqueles que apresentam algumas das outras mutações associadas ao gene *FANCC* [219],[226].

Gene *FANCG*

Com o decorrer dos anos, identificaram-se mais de 50 mutações diferentes no gene *FANCG* que, por sua vez, induzem o desenvolvimento de FA. Sabe-se que cerca de 10% de todos os casos de FA são causados por mutações neste mesmo gene. Por outro lado, estas mutações específicas, quando comparadas com outras mutações noutros genes que levam ao desenvolvimento da FA, têm um impacto bastante maior na ineficácia da produção de células sanguíneas, estando associadas a um pior prognóstico [219],[224].

3.3.3. Prevalência e caracterização da FA

A FA autossómica recessiva apresenta uma prevalência que varia, aproximadamente, entre 1:200000 e 1:400000 na maioria das populações. Sabe-se que a prevalência desta síndrome é maior em indivíduos judeus de ascendência *Ashkenazi* (cerca de 1:30000) e na população com ascendência *Afrikaner* (cerca de 1:22000) [229]. Esta síndrome também afeta cerca de 1 em cada 136000 recém-nascidos [230].

As características clínicas associadas a esta síndrome podem variar significativamente de doente para doente. Mesmo assim, tal como em qualquer patologia, verifica-se a existência de um conjunto de características que são visualizadas com uma maior frequência nestes doentes. Essas características podem enquadrar-se em três conjuntos diferentes: anomalias físicas, celulares e patológicas. Relativamente às anomalias físicas, destacam-se características como baixa estatura pré e/ou pós-natal, pigmentação anormal na pele (hipopigmentação, máculas café com leite, etc.), malformações esqueléticas (polegares hipoplásicos, osso radial hipoplásico, etc.), microcefalia, anomalias oftalmológicas e anomalias geniturinárias. Como anomalias celulares é comum a presença de macrocitose, o aumento de hemoglobina fetal que, por sua

vez, costuma anteceder o aparecimento de anemia, e a pancitopenia (especialmente trombocitopenia, leucopenia e neutropenia). Por último, no grupo das anomalias patológicas incluem-se características como a falência progressiva da medula óssea, a anemia aplástica com início na idade adulta, síndrome mielodisplásica, leucemia mieloblástica aguda, aparecimento de tumores sólidos numa idade precoce e toxicidade excessiva a agentes de quimioterapia ou de radioterapia. Como manifestações adicionais desta síndrome podemos incluir a presença de anomalias metabólicas, endocrinopatias e deficiências auditivas [229].

3.3.3.1. Anomalias físicas

As anomalias físicas ocorrem em aproximadamente 75% dos indivíduos diagnosticados com FA (Figura 28). Sabe-se que cerca de 40% dos indivíduos com FA apresentam pigmentação anormal na pele e que aproximadamente 35% desses doentes verificam malformações esqueléticas nos membros superiores. Para além disso, desses 75%, cerca de 20% destes casos revelam microcefalia e outros 20% demonstram desenvolver anomalias oftalmológicas [219].

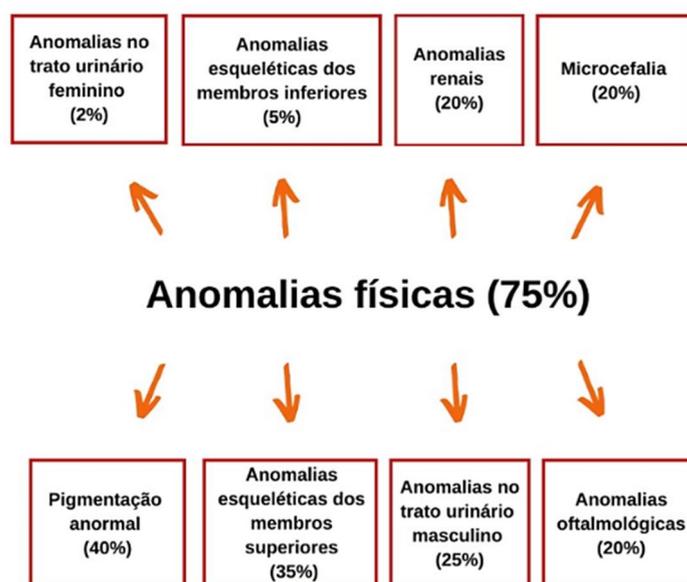


Figura 28 - Anomalias físicas observadas em doentes diagnosticados com FA.

Relativamente às anomalias esqueléticas observadas nestes doentes, cerca de 50% de todos os casos relativos a crianças diagnosticadas com FA apresentam estas malformações, sendo que, a maioria (cerca de 70%) compromete as extremidades superiores destas crianças. As malformações dos membros superiores que se observam com maior frequência envolvem a hipoplasia dos polegares e do rádio. As crianças que apresentam este tipo de anomalias podem ter os seus polegares curtos ou até mesmo ausentes, devido ao crescimento incompleto. Nestes casos, terapias e/ou cirurgias específicas podem ser necessárias para que se consiga maximizar a função e a aparência das mãos e dos braços destes doentes [224]. Por outro lado, sabe-se que a presença de anomalias nos polegares destes indivíduos representam uma característica bastante diferenciadora e, por isso mesmo, muito importante aquando do diagnóstico da FA. É esta característica que consegue diferenciar, por exemplo, a FA da síndrome TAR (do inglês

“*thrombocytopenia-absent radius*”), onde os polegares apresentam desenvolvimento normal [231]. Atualmente, ainda não existem procedimentos padronizados para o tratamento das anomalias congênitas das mãos e dos braços observadas em crianças com FA, sendo que cada tratamento é específico e planejado para cada caso [224].

Todas estas anomalias físicas podem ocorrer isoladamente, mas também podem surgir associadas a outros defeitos congênitos, tal como o espectro de distúrbios designados de VACTERL. Este representa um conjunto de anomalias que não estão necessariamente relacionadas entre si, mas que tendem a desenvolver-se conjuntamente. O termo "VACTERL" trata-se de um acrónimo que descreve esta sintomatologia: defeitos vertebrais (*V*ertebral defects), malformações anorretais (*A*norectal malformations), anomalias cardíacas (*C*ardiac abnormalities), anomalias traqueo-esofágicas (*T*racheo-Esophageal abnormalities), defeitos renais (*R*enal defects) e defeitos nos membros (*L*imb defects), tal como dedos das mãos ou dos pés extras ou antebraços com malformações [232]. Na verdade, a maioria dos indivíduos que possuem este conjunto de anomalias não apresenta FA. No entanto, como um diagnóstico precoce da FA pode ajudar na prevenção de futuras complicações, todas as crianças que apresentem anomalias renais e/ou radiais, além de outros distúrbios pertencentes ao espectro VACTERL, devem ser testadas para a FA [224].

3.3.3.2. Insuficiência da medula óssea e desenvolvimento de leucemia

Doentes diagnosticados com FA, de uma maneira geral, possuem uma falência progressiva da medula óssea, resultado da produção deficiente de células sanguíneas ou da produção de células sanguíneas mutadas que não executam normalmente a sua função [233],[234]. As anomalias sanguíneas mais frequentemente verificadas em doentes com FA incluem trombocitopenia ou leucopenia que, na maioria dos casos, precede o aparecimento de anemia. Estas malformações costumam estar associados à macrocitose e à elevação das concentrações de hemoglobina fetal. Visto que a pancitopenia tem tendência a piorar com o tempo, a gravidade associada à insuficiência da medula óssea pode ser classificada através do grau de citopenia(s) apresentado pelo doente, podendo ser leve, moderada ou severa [219]. Adicionalmente, segundo *Kutler et al.* [235], sabe-se que o risco estimado para o desenvolvimento de qualquer anomalia hematológica nestes doentes é de cerca de 90%, considerando a idade de 40 anos.

Por outro lado, devido a esta disfunção medular, as neoplasias hematológicas mais frequentes em doentes com FA são a síndrome mielodisplásica e a leucemia mieloblástica aguda (AML) [236]. Segundo um estudo de 2018, conduzido por *Alter et al.* [237], que incluiu a análise de 163 indivíduos diagnosticados com FA, entre os anos de 1945 e 2014, estimou-se a incidência cumulativa associada ao desenvolvimento destas duas neoplasias. O valor estimado para a incidência cumulativa de AML, considerando a idade de 40 anos, foi de 15% a 20% para indivíduos com FA, enquanto a incidência cumulativa associada ao desenvolvimento da síndrome mielodisplásica, considerando indivíduos com a idade de 50 anos, foi de aproximadamente 50%.

3.3.3.3. Tumores Sólidos

Os doentes com FA apresentam um risco bastante elevado de desenvolverem, em alguma fase da vida, algum tipo de tumor sólido. O desenvolvimento deste tipo de tumores pode ser a primeira manifestação de FA em indivíduos que não apresentem defeitos congénitos ou insuficiência da medula óssea [219]. Os tumores sólidos mais frequentes em doentes com FA são os carcinomas espinocelulares da cabeça e pescoço e também os tumores ginecológicos. Mesmo assim, outros tipos de neoplasias poderão estar associadas a esta síndrome, mas com menor incidência: tumores hepatocelulares, adenomas hepatocelulares (tumores benignos), tumores cerebrais, tumores renais (frequentemente tumores de *Wilms*), tumores esofágicos, neuroblastomas e tumores mamários [224].

Segundo *Alter et al.* [237], a incidência cumulativa estimada para o desenvolvimento de tumores sólidos em doentes diagnosticados com FA foi de 20%, considerando a idade de 65 anos. A partir deste estudo de 2018, cerca de 12% dos doentes com FA possuíam algum tipo de tumor sólido, tendo sido observados tumores espinocelulares da cabeça e pescoço (n=10), da vulva (n=3), do esófago (n=2), do cérebro (n=2), do ânus (n=1), do pulmão (n=1), do colo do útero (n=1) e também da mama (n=1).

Adicionalmente, indivíduos diagnosticados com FA possuem um risco aumentado de desenvolverem, posteriormente, uma segunda neoplasia primária da pele ou do trato genitourinário [219].

Tumor espinocelular da cabeça e pescoço

O tumor espinocelular da cabeça e pescoço (HNSCC, do inglês “*head and neck squamous cell carcinoma*”) é o tumor sólido mais frequente em doentes com FA. Estima-se que, aproximadamente 1 em cada 7 indivíduos diagnosticados com FA (14%), que sobrevivem até aos 40 anos, irão desenvolver este tipo de tumor em algum momento da vida [238]. O HNSCC, em indivíduos com FA, possui características distintas quando comparadas com aquelas que são relatadas para a população em geral [219]:

- ocorre numa idade mais precoce que o normal (entre os 20 e os 40 anos vs. os 50 e os 60 anos);
- encontra-se frequentemente localizado na cavidade oral (língua, etc.);
- costuma ser diagnosticado num estágio avançado;
- possui uma resposta bastante fraca a qualquer tipo de terapia.

Na verdade, tem-se verificado que alguns casos de FA permanecem sem diagnóstico até que se desenvolva, de facto, o HNSCC. Assim, o teste genético que está na base da confirmação do diagnóstico da FA deve ser considerado em doentes que tenham uma idade inferior a 40 anos, especialmente se possuírem outras manifestações clínicas atípicas, como é o caso da anemia ou da resposta atípica ao tratamento citotóxico [239].

Além disto, mesmo após se ter verificado a cura de um HNSCC primário, os doentes com FA possuem uma probabilidade maior de virem a desenvolver um segundo tumor primário do que a população em geral (>60% vs. ≈ 30%). Por sua vez, a distribuição anatómica desta segunda neoplasia primária é significativamente diferente para doentes com FA, destacando-se o desenvolvimento de tumores ao nível do trato genitourinário e da pele [239].

Tumores ginecológicos

Elevadas taxas de aparecimento de tumores espinocelulares do trato genital inferior foram relatadas em vários casos de mulheres diagnosticadas com FA, incluindo-se a observação de tumores do colo do útero, vaginais, vulvares e também anais. Em média, estas doentes tendem a desenvolver cancro do colo do útero e cancro vulvar para idades compreendidas entre os 25 e os 27 anos, respetivamente, enquanto que a população feminina geral tende a desenvolver cancro do colo do útero por volta dos 47 anos e tumores vulvares a partir dos 72 anos de idade. Por outras palavras, embora o risco absoluto associado ao desenvolvimento destes tipos de cancro seja muito baixo para mulheres jovens e saudáveis, mulheres jovens diagnosticadas com FA têm um risco muito superior de desenvolverem estes tumores. Assim, é aconselhada a realização de testes associados ao diagnóstico da FA por qualquer doente que tenha sido diagnosticada com cancro do colo do útero, antes dos 30 anos de idade, ou com cancro vulvar, antes de terem alcançado os 40 anos de idade [224],[240], [241].

3.3.4. Diagnóstico

Atualmente, existem dois tipos de análise que constituem o diagnóstico da FA, sendo um deles a realização de estudos de instabilidade cromossómica que analisam quebras e rearranjos cromossómicos na presença de diepoxibutano ou de mitomicina C e o outro um teste genético específico para mutações nos genes *FANC*. Por sua vez, se se confirmar que o doente em causa tem FA, devem ser também realizados estudos de instabilidade cromossómica das células da medula óssea [219].

Os estudos de instabilidade cromossómica que analisam quebras e rearranjos cromossómicos constituem a primeira abordagem para se diagnosticar a FA. Neste ensaio, os linfócitos T presentes no sangue periférico do doente são expostos ao diepoxibutano ou à mitomicina C (Figura 29) que, por sua vez, são dois agentes clastogénicos que induzem o aparecimento de aberrações cromossómicas. Visto que doentes com FA possuem hipersensibilidade aos efeitos dos agentes clastogénicos, o número de cromossomas anormais irá ser bastante superior ao normal. Este tipo de estudos é o que se realiza com maior frequência contudo, alguns laboratórios optam pela análise do ciclo celular através de testes de citometria de fluxo, também em linfócitos T presentes no sangue periférico, após exposição ao diepoxibutano ou à mitomicina C [224]. Como em todos os procedimentos laboratoriais, há a possibilidade de poderem surgir resultados falsos negativos, nomeadamente quando as amostras são provenientes de indivíduos que possuem mosaïcismo somático hematopoiético. Nestes casos, é necessária a realização de uma biópsia da pele, com o intuito de se realizarem os estudos de instabilidade cromossómica que analisam quebras e rearranjos cromossómicos nos fibroblastos da pele. De forma semelhante ao procedimento supracitado, os fibroblastos irão ser expostos ao diepoxibutano ou à mitomicina C para que, assim, se consiga proceder ao diagnóstico da FA [219],[224],[230].

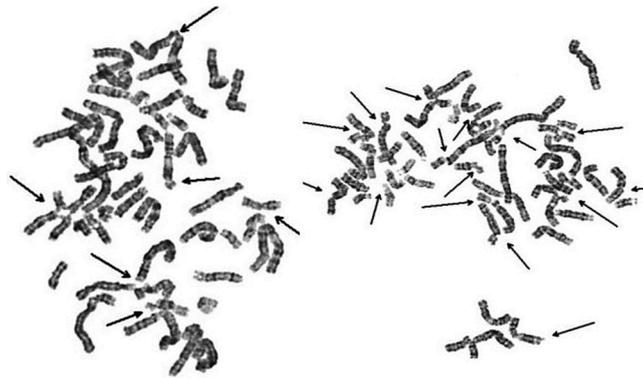


Figura 29 - Cariótipo característico de um doente com FA. As setas indicam a presença de quebras cromossômicas. Retirado de *Current insights into inherited bone marrow failure syndromes*, 2014

Se os resultados dos estudos de instabilidade cromossômica que analisam quebras e rearranjos cromossômicos revelarem alterações, devem ser identificadas as mutações que estão na causa do desenvolvimento de FA através de um teste genético. Atualmente, este tipo de análise inclui testes multiplex com a capacidade de analisar vários genes simultaneamente, bem como testes que se focam na análise completa do exoma ou no sequenciamento de todo o genoma. Desta maneira, é possível identificar quais as variantes patogênicas que estão na origem da FA, sendo esta informação crucial para o correto aconselhamento genético do próprio doente e dos seus familiares [219],[224],[229].

Após o diagnóstico de FA, deve proceder-se à análise dos cromossomas das células da medula óssea do doente, através do método de bandas *Giemsa*. Esta técnica tem a capacidade de marcar os cromossomas com faixas coloridas, de modo a que se consiga obter um padrão de coloração único para cada cromossoma. Desta maneira, é possível verificar se existem ou não anomalias clonais cromossômicas, o que irá permitir constatar se está presente um tumor ou uma condição pré-cancerígena [224].

3.3.5. Vigilância e prevenção

Um doente diagnosticado com FA necessita de um atendimento multidisciplinar e de um protocolo de rastreio bastante específico. A manutenção adequada da sua saúde deve interligar variadas especialidades médicas, incluindo a otorrinolaringologia, a hematologia, a oncologia, a gastroenterologia, a ortopedia, a ginecologia, a endocrinologia, a dermatologia e a medicina dentária [242].

Atualmente, não são conhecidos tratamentos preventivos capazes de retardar ou até mesmo evitar as manifestações clínicas da FA, principalmente a falência da medula óssea ou o desenvolvimento de neoplasias. No entanto, existem vários benefícios associados à realização de um diagnóstico precoce [224].

Disfunção progressiva da medula óssea

Relativamente à monitorização hematológica, a maioria dos médicos recomenda a realização de um hemograma completo em conjunto com, pelo menos, uma biópsia à medula óssea (Figura 30) [219],[224]. Desta maneira, irá conseguir-se avaliar a morfologia e a citogenética das células aí presentes. Estas análises irão permitir verificar se existem, ou não, anomalias cromossómicas que estejam frequentemente associadas ao desenvolvimento da síndrome mielodisplásica e de leucemia mieloblástica aguda em doentes diagnosticados com FA. Enquanto que a avaliação da medula óssea deve ser repetida, pelo menos, anualmente, as contagens sanguíneas devem ser realizadas com maior frequência (a cada 3/4 meses), para que se consigam tratar, de uma maneira proativa e eficiente, as citopenias e os casos de síndromes mielodisplásicas [224], [242], [243].

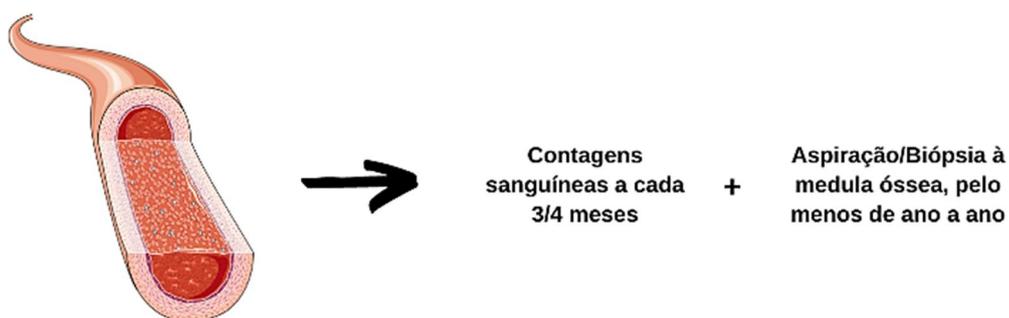


Figura 30 - Representação esquemática dos exames hematológicos que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com FA.

Tumores espinocelulares da cabeça e pescoço

Devido à elevada prevalência de HNSCC e do mau prognóstico característico deste tipo de tumor em doentes com FA, é urgente e necessário que estes indivíduos cumpram um plano de vigilância específico para evitar, tanto quanto possível, o seu diagnóstico num estágio avançado. Com base na literatura, este protocolo de vigilância deve iniciar-se entre os 9 e os 10 anos de idade, incluindo exames minuciosos à cavidade oral, cabeça e pescoço, a cada 6 meses, e também a realização de uma nasolaringoscopia, anualmente (Figura 31) [219],[224]. Estes exames devem, de facto, incluir a avaliação cuidadosa de todas as superfícies mucosas da cabeça e do pescoço destes indivíduos, tal como a avaliação da orofaringe proximal e distal. Se, por sua vez, forem identificadas lesões suspeitas, estas devem ser imediatamente biopsiadas para averiguar a existência de neoplasia. Posto isto, depois de uma determinada lesão pré-maligna ou maligna ser identificada e tratada de maneira adequada, a frequência dos exames de vigilância deve ser aumentada para 2/3 meses. Adicionalmente, indivíduos que tenham desenvolvido HNSCC que foram tratados com sucesso, devem realizar uma radiografia torácica anual [224],[242].

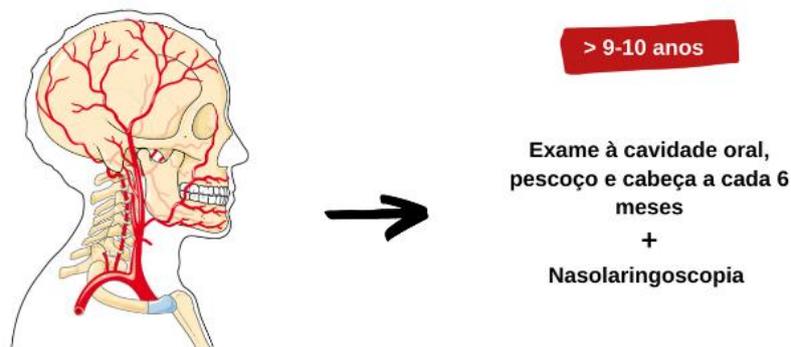


Figura 31 - Representação esquemática dos exames da cabeça e do pescoço que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com FA.

Tumores ginecológicos

A detecção precoce de lesões pré-cancerígenas em doentes com FA é imprescindível para maximizar a taxa de sobrevivência associada. Assim, mulheres diagnosticadas com FA devem iniciar o acompanhamento ginecológico em idades mais jovens do que aquelas que costumam ser recomendadas para a população geral, nomeadamente, começar a realizar uma avaliação ginecológica anual a partir dos 13 anos de idade. A partir do momento em que estas doentes se tornem sexualmente ativas ou realizem 18 anos, é aconselhado que, anualmente, passem a realizar exames vulvovaginais completos tal como o exame de Papanicolaou (Figura 32). As biópsias devem ser realizadas para quaisquer lesões visíveis, visto que a displasia pode progredir muito rapidamente para tumor [219],[224].



Figura 32 - Representação esquemática dos exames ginecológicos que devem ser realizados por indivíduos diagnosticados com FA.

3.3.6. Abordagens terapêuticas e avanços

3.3.6.1. Transplante de células estaminais hematopoiéticas

Atualmente, o transplante de células estaminais hematopoiéticas é a única abordagem terapêutica para cura da disfunção progressiva da medula óssea apresentada por muitos doentes diagnosticados com FA. Esta é a única abordagem eficaz contra a anemia aplástica e contra a síndrome mielodisplásica ou a AML, assim como na sua prevenção [219],[224]. Visto que os melhores resultados associados a esta terapia são observados em doentes jovens ainda não apresentam complicações decorrentes da insuficiência da medula óssea, esta é bastante encorajada em indivíduos jovens diagnosticados com FA. No entanto, os riscos associados ao transplante de células estaminais hematopoiéticas condicionam o momento ideal para a sua realização, pelo facto de ainda serem desconhecidos os seus efeitos colaterais a longo-prazo em doentes com FA [224].

3.3.6.2. Terapêutica com androgénios

Os androgénios sintéticos são hormonas esteroides amplamente utilizados no tratamento de citopenias em doentes portadores de FA. Estes melhoram, pelo menos temporariamente, as concentrações de glóbulos vermelhos e de plaquetas em cerca de 50% dos indivíduos diagnosticados com esta síndrome [219]. Esta terapia deve ser considerada quando os níveis de hemoglobina estão abaixo de 8 g/dL ou quando a concentração de plaquetas apresenta valores inferiores a 30.000/mm³. Embora se saiba que apenas cerca de 10% a 20% dos indivíduos que recebem terapia androgénica contínua de baixa dose verificam uma resposta a longo prazo, esta opção deve ser ponderada para doentes que decidiram não realizar um transplante de células estaminais hematopoiéticas ou para indivíduos que não apresentem um dador compatível. Mesmo assim, apesar dos androgénios terem a capacidade de aumentar a contagem sanguínea periférica e a celularidade da medula óssea em doentes diagnosticados com FA, os mecanismos que estão na base destas melhorias ainda não são muito claros [219],[224].

O androgénio mais utilizado, desde 1961, é a oximetolona. Esta foi a primeira hormona esteroide aprovada pela FDA para o tratamento da anemia aplástica em doentes diagnosticados com FA [244]. Para além da oximetolona, também são conhecidos e usados outros androgénios sintéticos, tal como é o caso do stanazolol, usado na Ásia, e da oxandrolona, que foi usada recentemente em Ohio [245],[246].

Os efeitos colaterais da administração de androgénios incluem virilização e toxicidade hepática, com o aumento das concentrações de enzimas hepáticas, a colestase, a peliose hepática (lesão vascular com múltiplos quistos de sangue) e o desenvolvimento de tumores hepatocelulares. Assim, é aconselhado que indivíduos que se submetam a este tipo de terapia sejam frequentemente monitorizados, realizando exames sanguíneos a cada 3/6 meses, tal como uma ecografia hepática anualmente. Se, por sua vez, nenhuma resposta for observada após 3/4 meses do início da terapia androgénica, esta deve ser descontinuada [219],[236].

3.3.6.3. Fator estimulador de colónias de granulócitos (G-CSF)

O G-CSF tem a capacidade de melhorar as concentrações de neutrófilos em alguns indivíduos com FA. A dose administrada de G-CSF deve ser titulada para a menor dose e frequência possíveis, com o intuito de manter a contagem absoluta de neutrófilos acima de 1.000/mm³. Assim, antes de qualquer tratamento à base de G-CSF ser realizado, os doentes

devem submeter-se a uma aspiração/biópsia da medula óssea. Durante o tratamento, estes devem ser monitorizados a cada 6 meses [219].

3.3.7. FA e efeitos da radiação ionizante

Segundo a literatura publicada até ao momento, sabe-se que doentes diagnosticados com FA possuem uma maior radiosensibilidade do que a população geral. Desta maneira, a comunidade médica responsável pelo acompanhamento de um doente com FA deve ser bastante criteriosa e consciente aquando da recomendação de exames imagiológicos de diagnóstico e de abordagens terapêuticas que envolvam radiação ionizante. Por sua vez, tendo em vista a redução dessa mesma exposição, as recomendações aconselham a realização de técnicas de imagem que não envolvam exposição à radiação ionizante, tal como a ecografia ou a ressonância magnética [224].

3.3.7.1. Radiação ionizante associada aos exames de vigilância e de diagnóstico

Estudos

➤ **Higurashi e Conen (1973)** [247]

Um dos primeiros estudos realizados acerca dos possíveis efeitos adversos decorrentes da exposição à radiação ionizante em doentes com FA foi conduzido por *Higurashi e Cone* [247], no ano de 1973. Este envolveu a colheita de 11 amostras de sangue periférico provenientes de crianças previamente identificadas com as síndromes A-T, síndrome de Bloom e FA. Adicionalmente, foram também colhidas quatro amostras sanguíneas de crianças saudáveis que, por sua vez, constituíram o grupo de controlo. As 15 amostras foram posteriormente irradiadas com duas doses distintas de radiação-X: 0,1 Gy e 1 Gy. Os resultados deste estudo demonstraram que o número de quebras cromossómicas por célula, em indivíduos com FA, foi de 0,85, enquanto que para os indivíduos controlo foi de 0,17.

Assim, concluiu-se que, *in vitro*, os cromossomas das células provenientes de crianças com FA possuíam uma maior radiosensibilidade do que as células pertencentes a crianças saudáveis, após exposição a baixas doses de radiação-X.

➤ **Bigelow et al. (1977)** [248]

Este estudo envolveu a colheita e subsequente irradiação de linfócitos periféricos de quatro doentes afetados com FA e de fibroblastos da pele pertencentes a três indivíduos também diagnosticados com FA. Os resultados mostraram que, tanto os linfócitos como os fibroblastos de doentes com FA, após terem sido irradiados com uma dose total de 50 Roentgen ($\approx 0,44$ Gy), foram afetados de maneira semelhante. Ambos mostraram que eram cerca de 2 vezes mais sensíveis à indução de aberrações cromossómicas por exposição à radiação X do que linfócitos e fibroblastos pertencentes a indivíduos saudáveis (grupo de controlo).

3.3.7.2. Radiação ionizante associada às abordagens radioterapêuticas

Estudos

➤ ***Alter et al. (2002)*** [249]

Em 2002, foi publicado na literatura um estudo de coorte retrospectivo, que envolveu a análise de 72 casos de doentes com FA. Deste conjunto de indivíduos, 64 não se tinham submetido a um transplante de células estaminais hematopoiéticas, enquanto os restantes 8 indivíduos já tinham recebido esse mesmo transplante. Dos 64 doentes, apenas 11 realizaram tratamentos radioterapêuticos adjuvantes com o objetivo de tratar tumores sólidos (7 HNSCC, três tumores do esófago e um cancro vulvar). Por outro lado, dos 8 indivíduos que já tinham recebido um transplante medular, apenas 3 realizaram radioterapia adjuvante com o intuito de tratar 3 carcinomas da cavidade oral (dois carcinomas da língua e um tumor da boca). As doses totais de radiação ionizante administradas aos 14 indivíduos que realizaram radioterapia adjuvante não foram relatadas na totalidade, existindo apenas informações acerca dessas doses para 8 dos doentes, tendo estas variado entre 3,2-80 Gy. Assim, tendo em particular atenção esses 8 indivíduos, foi possível verificar o desenvolvimento de algumas lesões descritas na Tabela 9:

Tabela 9- Doentes oncológicos com FA e complicações observadas após realização de radioterapia adjuvante.

	Sexo	Idade (anos)	Local do tumor (todos SCC)	Dose total RT (Gy)	Complicações RT	Status
Doente 1	♀	27	Vagina	42,5	dermatite severa (31 Gy)	Faleceu 3 meses após a RT
Doente 2	♀	26	Esófago	NR	NR	Faleceu 3 meses após a RT
Doente 3	♀	17	Mandíbula	68	NR	Faleceu 3 meses após a RT
Doente 4	♂	22	Gengiva	NR	NR	Vivo 10 meses após a RT
Doente 5	♂	26	Esófago	70	edema laríngeo severo, pneumonia	Faleceu durante a RT
Doente 6	♀	23	Língua	NR	NR	Faleceu 4 anos após a RT
Doente 7	♀	20	Esófago	NR	NR	Faleceu 2 meses após a RT
Doente 8	♂	14	Gengiva	80	hemorragia local	Faleceu 6 meses após a RT
Doente 9	♀	29	Cartilagem cricóide	32,5	sem complicações	Faleceu 12 meses após a RT
Doente 10	♀	32	Língua	3,2	mucosite severa	Faleceu 9 meses após a RT
Doente 11	♀	32	Amígdala	34	mucosite severa, ulceração na zona do palato	Vivo 3 meses após a RT

Doente 12^T	♀	29	Língua, bochecha	72	mucosite severa precoce (durante RT cancro da bochecha)	Faleceu 6 meses após a RT
Doente 13^T	♂	12	Língua	NR	NR	Faleceu 4 meses após a RT
Doente 14^T	♀	18	Mucosa bucal	NR	NR	Faleceu 3 meses após a RT

RT – radioterapia SCC – carcinoma espinocelular ^T – submeteu-se a 1 transplante de células estaminais hematopoiéticas
NR – não reportado

Resumidamente, 6/14 doentes com FA que se submeteram a radioterapia adjuvante desenvolveram complicações que poderão ser atribuídas a este tipo de tratamento. A única doente diagnosticada com cancro vulvar desenvolveu uma reação cutânea severa, 4/10 doentes que não tinham realizado um transplante de células estaminais hematopoiéticas e que tinham sido diagnosticados com HNSCC ou com tumores do esófago desenvolveram edema laríngeo, sangramento local, mucosites e/ou ulceração. Apenas 1/3 doentes que receberam previamente esse transplante desenvolveu mucosite após a radioterapia. Por outro lado, constatou-se que a maioria dos doentes faleceu antes de se completarem 12 meses após a radioterapia adjuvante. Os únicos sobreviventes foram dois doentes diagnosticados com cancro oral, que não foram transplantados, encontrando-se vivos 3 e 10 meses após o tratamento radioterapêutico adjuvante.

Posto isto, os autores referem que, embora os efeitos decorrentes da realização de radioterapia adjuvante possam ser responsáveis pelos resultados observados, a baixa taxa de sobrevivência também se pode dever ao estágio avançado dos tumores. No entanto, em alguns casos, a toxicidade associada à exposição à radiação ionizante impediu a conclusão do tratamento radioterapêutico, o que suporta a ideia de que estes indivíduos possam apresentar uma maior radiosensibilidade do que a população em geral. Desta forma, os autores deste estudo incentivam a publicação de casos clínicos que envolvem doentes com FA e a investigação sobre a administração de radioterapia adjuvante, a fim de se reunirem informações suficientes para que se consigam obter conclusões objetivas.

➤ ***Kutler et al. (2003)*** [238]

Em 2003, um estudo de coorte retrospectivo incluiu a análise de 19 doentes com FA que tinham sido diagnosticados com HNSCC. Desta amostra populacional, 13 eram mulheres, enquanto que os restantes 6 eram homens. Os 19 HNSCC diagnosticados nestes indivíduos incluíam 13 tumores da cavidade oral (6 carcinomas da língua, 2 tumores da crista alveolar, 2 tumores do trígono retromolar, 2 carcinomas do céu da boca e 1 cancro da mucosa bucal), 2 carcinomas da laringe, 2 carcinomas da orofaringe, 1 cancro da hipofaringe e 1 de subtipo desconhecido. Após o diagnóstico de HNSCC, 17 dos indivíduos submeteram-se a ressecção cirúrgica do tumor. Desses 17 doentes, apenas 6 realizaram radioterapia adjuvante, tendo envolvido a administração de doses entre 40 Gy e 61 Gy na zona do pescoço e do local específico do tumor. Após um período de seguimento médio de 29 meses, verificou-se que todos os doentes que realizaram radioterapia adjuvante desenvolveram complicações associadas a este tipo de terapia. As complicações a curto-prazo incluíram trombocitopenia (n=2), anemia (n=2), mielossupressão (n=2) e lesões cutâneas com posterior formação de úlceras (n=1). As

complicações a longo-prazo incluíram o desenvolvimento de estenose traqueal (n=1) e de estenose esofágica (n=1). Pouco tempo depois da conclusão da radioterapia adjuvante, dois dos doentes acabaram por falecer devido ao desenvolvimento de complicações mielossupressoras graves.

Dos 6 doentes que realizaram radioterapia adjuvante, 4 deles foram, alguns meses mais tarde (período de latência médio de 25,8 meses), diagnosticados com uma ou mais novas neoplasias primárias, como descrito na Tabela 10:

Tabela 10 - Doentes oncológicos com FA e desenvolvimento de 2^{as} neoplasias após realização de radioterapia adjuvante.

	Sexo	Idade (anos)	HNSCC	Dose total RT (Gy)	2 ^{as} neoplasias	Período de tempo entre a RT e o diagnóstico da 2 ^a neoplasia (meses)
Doente 1*	♀	22	CCO	50	Leucemia mieloblástica aguda	30
Doente 4*	♂	49	CCO	40	NR	NR
Doente 6*	♂	28	CCO	52	NR	NR
Doente 9*	♀	38	CCO	56	síndrome mielodisplásica + 1 ASCC + CM	55
Doente 10*	♂	45	CCO	61	síndrome mielodisplásica + 1 HNSCC	16
Doente 11*	♀	27	CCO	RT interrompida	Leucemia mieloblástica aguda	2

RT – radioterapia NR – não reportado CCO – carcinoma da cavidade oral HNSCC – carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço CM – cancro da mama ASCC - carcinoma espinocelular do ânus * designações conforme o estudo original

Posto isto, os autores concluem que a realização de de radioterapia adjuvante em doentes com FA e diagnosticados com HNSCC não é bem tolerada, visto que são observadas bastantes complicações sistémicas graves decorrentes da exposição à radiação ionizante. Para além destas complicações também foram diagnosticadas 7 novas neoplasias nestes doentes que se submeteram a radioterapia adjuvante.

➤ ***Bremer et al. (2003)*** [250]

Um ensaio clínico conduzido por *Bremer* teve como principal objetivo o estudo da hipersensibilidade à radiação ionizante em dois doentes com FA previamente diagnosticados com HNSCC. Ambos os indivíduos eram do sexo masculino e, após terem desenvolvido HNSCC num estágio avançado, foram tratados com radioterapia adjuvante.

- Doente 1: homem de 24 anos, diagnosticado, no ano de 1993, com um carcinoma da língua. Para além deste tipo de HNSCC se ter revelado inoperável, o doente também possuía

metástases bilaterais nos gânglios linfáticos cervicais. Após este diagnóstico, o doente submeteu-se à realização de quimioterapia com carboplatina seguida de radioterapia adjuvante. Duas semanas após ter iniciado a radioterapia (dose de 27,2 Gy), desenvolveu mucosite oral, tendo esta complicação exigido alimentação parentérica total. Após esta complicação, o tratamento prosseguiu, tendo sido interrompido durante catorze dias, após se ter atingido uma dose de 38,4 Gy. Passadas essas duas semanas, a radioterapia foi retomada, tendo-se concluído o tratamento. No total, o doente esteve exposto a uma dose de 67 Gy. Os resultados da radioterapia adjuvante mostraram que o tumor primário regrediu na totalidade que apenas algumas metástases dos gânglios linfáticos cervicais persistiram na zona direita do pescoço. Após cinco anos de seguimento, os efeitos a longo-prazo decorrentes da realização de radioterapia começaram a surgir, destacando-se o desenvolvimento de fibrose cutânea moderada, de despigmentação retromandibular e de um carcinoma espinocelular do ânus. Na sequência do diagnóstico desta nova neoplasia, o carcinoma foi excisado, tendo o doente recebido radioterapia pós-operatória (dose total de 55,8 Gy). Desta vez, o tratamento foi bem tolerado pelo doente, tendo este desenvolvido apenas algumas reações cutâneas locais moderadas. Quatro meses depois, o doente foi diagnosticado com 1 carcinoma espinocelular do céu da boca inoperável. Este voltou a ser submetido a radioterapia adjuvante, tendo-lhe sido administrada uma dose total de 25,2 Gy. Mais uma vez, o tratamento foi bem tolerado, verificando-se apenas o desenvolvimento de mucosite oral moderada. Mesmo assim, o doente acabou por falecer três meses após o último tratamento.

- Doente 2: homem de 32 anos, diagnosticado, no ano de 2001, com um carcinoma da orofaringe. Cerca de ano antes deste diagnóstico, o doente tinha-se submetido à remoção de um tumor maligno da cavidade oral, não tendo realizado qualquer tipo de tratamento adjuvante. Na sequência do diagnóstico de cancro da orofaringe, procedeu-se à ressecção macroscópica do tumor e ao esvaziamento dos gânglios linfáticos cervicais direitos. O início da radioterapia adjuvante pós-operatória teve que ser adiado por um período de sete semanas, pois o doente desenvolveu pneumonia grave após a cirurgia. A radioterapia foi administrada apenas durante sete dias, pois o doente desenvolveu trombocitopenia grave. Apesar da dose total administrada durante estes sete dias ter sido apenas de 8 Gy, a trombocitopenia demonstrou-se tão agressiva que o doente acabou por não resistir, tendo falecido alguns dias depois.

Tendo em conta os resultados deste estudo, foi possível concluir que em ambos os casos se observaram complicações severas que, muito possivelmente, decorreram da exposição destes indivíduos a altas doses de radiação ionizante. Mesmo assim, visto que no caso do doente 1 só foram observadas complicações graves após a primeira sessão de radioterapia adjuvante, os autores suportam a ideia de que este tipo de abordagem terapêutica não deve ser excluída na maioria dos casos de FA. Estes apoiam que a realização de radioterapia adjuvante por doentes com FA deve ser cuidadosamente ponderada, mas que deve ser realizada sempre que os benefícios compensem os possíveis riscos inerentes a essa terapia.

➤ ***Masserot et al. (2008)*** [251]

Em 2008, foi publicado um estudo de coorte retrospectivo que envolveu a análise de 13 doentes com FA que, por sua vez, já tinham sido submetidos a um transplante de células estaminais hematopoiéticas. Após um período médio de 10 anos da realização desse transplante, todos os 13 indivíduos foram diagnosticados com HNSCC. A maioria dos indivíduos

submeteu-se ao tratamento cirúrgico dos carcinomas, sendo que apenas 3 realizaram radioterapia após este procedimento, descritos em seguida.

- Doente 2*: rapaz de 16 anos, diagnosticado com 1 HNSCC, mais especificamente 1 carcinoma da língua. Após diagnóstico, foi submetido a cirurgia do carcinoma, incompleta devido a complicações. Na sequência deste procedimento cirúrgico, realizou radioterapia adjuvante, tendo-lhe sido administrada uma dose total de 22 Gy. O doente respondeu parcialmente à radioterapia, contudo, no final no tratamento a doença tinha progredido. O doente acabou por falecer 5,5 meses após ter concluído a radioterapia adjuvante.

- Doente 6*: homem de 19 anos, diagnosticado com 1 HNSCC, mais especificamente 1 carcinoma da orofaringe. Este indivíduo não realizou qualquer tipo de cirurgia, tendo-lhe sido apenas administrado radioterapia adjuvante. Este concluiu o tratamento radioterapêutico numa dose total de 70 Gy. O doente apresentou alguns efeitos secundários a curto-prazo, tal como mucosite e desidratação severa, exigindo a colocação de uma gastrostomia alimentar. O indivíduo acabou por falecer 4,5 meses após ter concluído a radioterapia adjuvante;

- Doente 8*: rapaz de 10 anos, diagnosticado com 1 HNSCC, mais especificamente 1 carcinoma da língua. Este indivíduo não realizou qualquer tratamento cirúrgico, tendo-lhe sido apenas administrado radioterapia adjuvante. Inicialmente, planeava-se administrar 1 dose total de 65 Gy, no entanto, quatro semanas após início do tratamento, o doente desenvolveu mucosite severa, o que ditou a interrupção da terapia. Assim, o doente apenas foi exposto a 25 Gy de radiação ionizante e faleceu cerca de 2,5 meses após esta interrupção.

Apesar deste estudo envolver uma amostra populacional bastante reduzida, é possível concluir que 2/3 doentes que realizaram radioterapia adjuvante desenvolveram complicações severas a curto-prazo decorrentes da sua exposição à radiação ionizante. Por outro lado, os 3 doentes acabaram por falecer, em média, 4,2 meses após realização dos respetivos tratamentos radioterapêuticos. Este período de sobrevivência reduzido pode significar que doentes com FA são mais radiosensíveis que a população em geral. Desta forma, estudos que envolvam uma amostra maior terão que ser realizados para que se consiga chegar a uma conclusão clara e objetiva.

* designações conforme o estudo original

➤ ***Birkeland et al. (2012)*** [252]

Em 2012, surgiu um estudo de coorte retrospectivo, com o intuito de se analisar minuciosamente os efeitos da radiação ionizante em 12 doentes diagnosticados com FA que, por sua vez, tinham sido submetidos a radioterapia pós-operatória para tratar HNSCCs, de acordo com a Tabela 11:

Tabela 11- Doentes oncológicos com FA e desenvolvimento de complicações decorrentes da realização de radioterapia adjuvante pós-operatória.

	Sexo	Idade (anos)	Local do tumor (todos HNSCC)	Dose total RT (Gy)	Complicações RT
Doente 1	♂	48	Cavidade oral	40	mucosite severa, disfagia, citopenia, sepse
Doente 2	♀	30	Cavidade oral	25	sepse
Doente 3	♂	44	Cavidade oral	61	mucosite severa, citopenia
Doente 4	♀	37	Cavidade oral	56	mucosite severa, disfagia, citopenia, sepse, hemorragia, espessamento pleural
Doente 5	♀	26	Cavidade oral	desconhecida	disfagia, dispnéia, assistolia/paragem cardíaca
Doente 6	♂	28	Orofaringe	51	mucosite severa, citopenia, estenose traqueal, pneumonia recorrente
Doente 7	♀	42	Cavidade oral	64,6	disfagia, citopenia
Doente 8	♀	40	Desconhecido	61,8	mucosite severa, disfagia, hemorragia, trismo, fibrose, estenose esofágica, secura oral
Doente 9	♂	29	Laringe	desconhecida	mucosite severa, disfagia
Doente 10	♂	20	Cavidade oral	70,2	mucosite severa, citopenia, sepse, dermatite
Doente 11	♂	34	Cavidade oral	42,4	mucosite severa, disfagia, citopenia, dermatite, hemorragia
Doente 12	♂	42	Laringe	55,8	mucosite severa, disfagia, edema laríngeo, fibrose, estenose esofágica

RT – radioterapia HNSCC – carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço

Os resultados deste estudo demonstraram que os doentes apresentaram uma série de complicações decorrentes da realização de radioterapia, destacando-se o desenvolvimento de mucosite severa, de disfagia e de pancitopenia. A mucosite severa foi observada em 9/12 (75%) doentes incluídos no estudo, a disfagia desenvolveu-se em 8/12 doentes (67%) e, por último, a pancitopenia foi observada em 6/12 (50%) desses mesmos indivíduos. Em situações pós-operatórias, o desenvolvimento de pancitopenia revela-se ainda mais preocupante que o normal, visto que pode conduzir a graves complicações hemorrágicas, astenia, má cicatrização das feridas e também ao desenvolvimento de infeções. Com uma menor frequência foram relatados casos de sepse (n=4), complicações hemorrágicas (n=2), pneumonia recorrente (n=1), assistolia/paragem cardíaca (n=1), espessamento pleural (n=1), etc. Adicionalmente, ainda foi relatado que 5/12 doentes (42%) tiveram que interromper a radioterapia. Assim, constatou-se que 8/12 doentes incluídos no estudo faleceram, sendo que 4 dessas mortes decorreram ainda durante a administração de radioterapia adjuvante.

Posto isto, embora este estudo incida sobre uma reduzida amostra populacional, este veio reforçar a ideia de que doentes com FA apresentam uma radiosensibilidade bastante superior aquela que é característica de indivíduos saudáveis. Os autores do estudo afirmam que é urgente que se realizem estudos mais aprofundados acerca dos efeitos adversos que doentes

com FA poderão desenvolver após terem sido exposto a altas doses de radiação ionizante. Só assim se conseguirão estabelecer os valores das doses apropriadas para que se consiga, simultaneamente, tratar a doença e minimizar a toxicidade verificada.

Casos clínicos

➤ ***Horta et al. (2006)*** [253]

Uma mulher de 24 anos, com FA e com história familiar de desenvolvimento tumoral, foi diagnosticada com um carcinoma espinocelular da hipofaringe. A sua irmã, aos 21 anos, foi diagnosticada com FA e, o seu irmão, de 15 anos, também diagnosticado com FA, faleceu após ter desenvolvido leucemia. Devido à condição clínica demonstrada pela doente, esta não foi aconselhada a realizar tratamento cirúrgico: faringoesofagectomia total com interposição de tubo gástrico retroesternal, esvaziamento bilateral dos gânglios linfáticos cervicais, tireoidectomia parcial e radioterapia pós-operatória. A realização de quimioterapia adjuvante também foi desaconselhada, tendo-se apenas recomendado a realização de radioterapia paliativa. Este tipo de radioterapia desencadeou rapidamente o desenvolvimento de disfagia e de odinofagia (deglutição dolorosa), tal como febre. Este conjunto de condições adversas decorrente da exposição à radiação ionizante ditaram a interrupção da radioterapia paliativa, tendo-lhe sido administrada uma dose total de 19,8 Gy. Passado pouco tempo da realização desta terapia, a doente desenvolveu uma pneumonia, o que resultou no seu falecimento.

Este caso clínico vem, desta forma, suportar a hipótese de que doentes previamente diagnosticados com FA se apresentam mais suscetíveis aos efeitos da radiação ionizante em comparação com a população em geral. Mesmo assim, visto que estas conclusões se baseiam apenas na análise de um indivíduo, é urgente que sejam reunidas mais informações acerca de casos semelhantes.

➤ ***Budrukkar et al. (2010)*** [254]

Um homem de 27 anos, previamente identificado com FA, foi diagnosticado com um carcinoma espinocelular da língua. Após este diagnóstico, submeteu-se à excisão do tumor e à realização de quimioterapia e radioterapia adjuvante. Ao doente foi administrada uma dose total de 70 Gy, não tendo existido quaisquer interrupções durante o tratamento. De facto, apenas foi relatado o desenvolvimento de alguns efeitos adversos decorrentes da exposição do doente às elevadas doses de radiação ionizante: disfagia (quatro semanas após ter iniciado o tratamento radioterapêutico), febre (após a administração de 54 Gy), lesões na pele, mucosite e pancitopenia (no final do tratamento radioterapêutico). Três meses após o término da radioterapia, foi identificado um nódulo num gânglio linfático que, por sua vez, se revelou ser um novo carcinoma espinocelular. Visto que o indivíduo não apresentava condições para ser novamente operado, apenas realizou radioterapia paliativa. Este concluiu a terapia sem desenvolver grandes complicações decorrentes da radiação ionizante. Desde o diagnóstico inicial até à publicação deste estudo passaram 14 meses e o doente encontrava-se vivo.

Assim, este caso clínico não suporta a hipótese de que doentes diagnosticados com FA se apresentem hipersensíveis aos efeitos adversos decorrentes da sua exposição à radiação

ionizante em comparação com a população em geral. Mesmo assim, visto que estas conclusões se baseiam apenas na análise de um indivíduo, é urgente que sejam reunidas mais informações acerca de casos semelhantes.

➤ **Wong et al. (2012)** [255]

Um homem com FA, de 21 anos de idade, foi diagnosticado com 1 carcinoma espinocelular da língua. Este possuía uma longa história de desenvolvimento de leucopenias e trombocitopenias desde os 2 anos de idade, mas nunca tinha apresentado infeções ou complicações hemorrágicas decorrentes dessas anomalias hematológicas características de doentes com FA. Após o diagnóstico do carcinoma, o indivíduo foi submetido a uma glossectomia total (remoção da língua) e à dissecação bilateral do pescoço. Após cirurgia realizou quimioterapia com cetuximab durante algumas semanas. Dias antes de iniciar a radioterapia adjuvante, desenvolveu-se uma lesão severa na zona da cicatriz do pescoço que demonstrou ser uma recorrência do carcinoma espinocelular da língua. Desta maneira, a radioterapia teve que ser repensada, tendo-se decidido administrar uma dose total de 70,2 Gy. Durante a realização deste tratamento, o indivíduo desenvolveu dermatite e mucosite oral decorrente da exposição à radiação ionizante. Várias semanas após esta abordagem terapêutica, o doente começou a desenvolver febre e disfagia, tendo-se verificado recidiva do carcinoma. O doente acabou por falecer dez semanas após ter concluído os tratamentos radioterapêuticos.

Visto que o doente demonstrou desenvolver lesões severas após ter sido exposto a uma dose elevada de radiação ionizante, este caso clínico vem suportar a hipótese de que doentes previamente diagnosticados com FA são mais radiosensíveis em comparação com a população em geral. Mesmo assim, visto que estas conclusões se baseiam apenas na análise de um indivíduo, é necessário entender que esta é apenas uma hipótese e que este caso em particular pode ter decorrido desta forma devido ao estágio avançado do carcinoma.

Tabela 12 - Estudos que avaliam os efeitos adversos da radiação ionizante após realização de radioterapia em doentes com FA e que foram diagnosticados com HNSCC.

Características dos estudos	Alter et al. (2002) [249]	Kutler et al. (2003) [225]	Bremer et al. (2003) [250]	Horta et al. (2006) [253]	Masserot et al. (2008) [251]	Budrukkar et al. (2010) [254]	Wong et al. (2012) [255]	Birkeland et al. (2012) [252]
Nº de doentes estudados	74	19	2	1	13	1	1	12
Nº de doentes estudados que foram sujeitos a RT	10	6	2	1	3	1	1	12
Idades (anos)	14-32	22-49	24 e 32	24	10, 16 e 19	27	21	20-48
Género	7 ♀ e 3 ♂	3 ♀ e 3 ♂	2 ♂	1 ♀	3 ♂	1 ♂	1 ♂	5 ♀ e 7 ♂
Dose de RT (Gy)	3,2-80	40-61	67 e 8	19,8	22, 25 e 70	70	70,2	25-70,2
Efeitos colaterais	<u>Curto-prazo:</u> 4/10 doentes apresentaram complicações relacionadas com a RT: 3 mucosites severas (3,2 Gy, 34 Gy e 72 Gy), 1 hemorragia local (80 Gy)	<u>Curto-prazo:</u> 2 trombocitopenias, 2 anemias, 2 mielossupressões, 1 lesão cutânea com formação de úlceras <u>Longo-prazo*</u> : 1 estenose traqueal, 1 estenose esofágica, 7 novas neoplasias primárias (2 LMA, 2 SML, 1 CM, 1 ASCC e 1 HNSCC)	<u>Curto-prazo:</u> 1 mucosite severa - 1 dos doentes desenvolveu trombocitopenia grave e morreu (8 Gy) <u>Longo-prazo*</u> : fibrose cutânea moderada, hipopigmentação da pele, ASCC	<u>Curto-prazo:</u> disfagia, odinofagia, febre (19,8 Gy) - Após a interrupção da RT desenvolveu pneumonia severa	<u>Curto-prazo:</u> - 2/3 doentes desenvolveram mucosite severa (70 Gy e 25 Gy) - 1 doente desenvolveu desidratação severa (70 Gy)	<u>Curto-prazo:</u> disfagia, febre (54 Gy), lesões na pele, mucosite, pancitopenia	<u>Curto-prazo:</u> dermatite, mucosite oral <u>Longo-prazo*</u> : febre, disfagia severa, reincidiva do SCC	<u>Curto-prazo:</u> - 9/12 doentes desenvolveram mucosite severa - 8/12 doentes desenvolveram disfagia - 6/12 doentes desenvolveram pancitopenia
Constatações finais	8/10 doentes morreram, a maioria 3 a 12 meses após a RT	Os 6 doentes faleceram, tendo 2 deles morrido após desenvolverem mielossupressão severa	Ambos morreram, tendo 1 dos doentes desenvolvido 2 tumores adicionais: 1 ASCC e 1 HNSCC	Morreu devido à pneumonia grave que desenvolveu	Os 3 doentes morreram, em média, 4,3 meses após a RT	Desenvolvimento de 1 LSCC	Morreu 10 meses após a RT	5/12 casos não concluíram a RT e 8/12 doentes morreram (4 durante a RT)

RT – radioterapia LMA – Leucemia mieloblástica aguda SML – síndrome mielodisplásica CM – cancro da mama ASCC – carcinoma espinocelular do ânus HNSCC - carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço
LSCC – carcinoma espinocelular da língua * – período superior a 6 meses

3.4. Ataxia-telangiectasia

3.4.1. História/conceito básico

A A-T é uma imunodeficiência primária autossômica recessiva causada por mutações no gene *ATM*. De facto, esta doença é considerada uma patologia rara, representando a segunda ataxia autossômica recessiva mais frequente (logo após a ataxia de *Friedreich*) [256]. Indivíduos diagnosticados com A-T costumam apresentar disfunções neurológicas progressivas que comprometem vários sistemas, tendo também um impacto grande na predisposição ao desenvolvimento de tumores, nomeadamente leucemias e linfomas [257]. A sintomatologia característica desta síndrome, de uma maneira geral, começa a revelar-se na infância (em idades compreendidas entre 1 e 4 anos), apresentando uma ampla gama de manifestações clínicas. Estas incluem o desenvolvimento de ataxia cerebelar progressiva, telangiectasia oculocutânea (“veias da aranha”, pequenos vasos sanguíneos dilatados perto da superfície da pele ou nas membranas mucosas), apraxia oculomotora, coreoatetose, imunodeficiência variável e infeções. Adicionalmente, doentes com A-T também demonstram ser mais radiosensíveis que a população em geral. Outras anomalias, tais como alterações no crescimento, desenvolvimento puberal anormal, diabetes resistente à insulina, atrofia gonadal, doenças pulmonares, alterações cutâneas e doenças cardiovasculares, também foram relatadas em doentes diagnosticados com esta patologia (Figura 33) [257], [258]. De uma maneira geral, sabe-se que os doentes diagnosticados com A-T apresentam um mau prognóstico, visto que o tempo médio de sobrevivência destes indivíduos é de cerca de 25 anos [258].

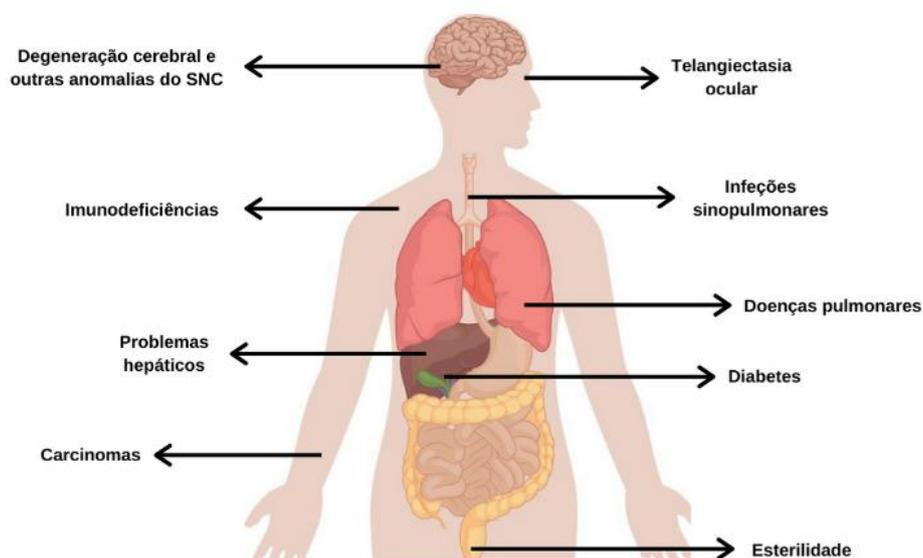


Figura 33 - Manifestações clínicas da A-T. A sintomatologia característica desta síndrome hereditária do cancro inclui, com frequência, degeneração neurológica, desenvolvimento de vários tipos de telangiectasia (principalmente ocular), infeções pulmonares, imunodeficiências, elevada predisposição a alguns tipos de cancro (principalmente leucemias e linfomas), etc.

Esta síndrome foi inicialmente descrita na literatura francesa, por *Syllaba e Henner* [259], em 1926. Contudo, nessa altura, os relatos e o estudo que estes dois investigadores realizaram não demonstraram ser suficientes, visto que não foram capazes de causar um grande impacto na comunidade médica. No seguimento destas descobertas iniciais, *Boder e Sedgwick* [260], em

1958, introduziram a descrição dos sintomas clássicos da A-T, incluindo a ataxia, a telangiectasia e também a imunodeficiência. Só mais tarde, em 1995, é que se começou a compreender que, por detrás do desenvolvimento desta doença, existiam causas genéticas. Nesse mesmo ano, foi realizada a primeira descrição do gene *ATM*, tendo-se percebido que a proteína ATM está envolvida no processo de controlo do ciclo celular, na reparação de lesões no DNA e também no processo apoptótico. Com o decorrer dos anos, múltiplas foram as variantes patogénicas que foram identificadas para o gene *ATM*, tendo-se concluído que o fenótipo associado à A-T não se correlaciona somente com os tipos de mutações encontradas aquando do diagnóstico desta síndrome. De facto, concluiu-se que o estado e a função da própria proteína ATM são bons preditores do fenótipo do doente diagnosticado com A-T [256]. Posteriormente, outras características associadas às alterações do movimento acabaram também por ser sub-reconhecidas, onde sintomatologia como a coreia, a distonia, a mioclonia, o tremor postural (de repouso e cinético) e o parkinsonismo foram as manifestações clínicas que se revelaram ser mais frequentes [261].

3.4.2. Predisposição genética

Gene *ATM*

O gene *ATM* localiza-se na região 22.3 do braço longo do cromossoma 11 (11q22.3) e é responsável pela codificação da proteína ATM. Este gene foi identificado por *Savitsky et al.* [262], no ano de 1995, estando nome do gene “ATM” relacionado com o facto das mutações presentes neste gene serem causa do aparecimento da alteração congénita A-T. Mais tarde, em 1998, *Banin et al.* [263] e *Canman et al.* [264], dedicaram-se ao estudo mais aprofundado do gene *ATM*, concluindo que este é responsável pela codificação de uma proteína cinase, cuja atividade está aumentada aquando da existência de lesões no DNA.

A proteína ATM é uma proteína cinase serina/treonina constituída por dois terminais, o N-terminal e o C-terminal, e é responsável pela ativação de mais de cem proteínas envolvidas na resposta a lesões existentes no DNA, no processo de regulação celular e noutras vias importantes. A proteína ATM pertence a uma família de proteínas cinase que inclui a proteína ATR, a subunidade catalítica da proteína cinase dependente de DNA (DNA-PKcs, do inglês “DNA-dependent protein kinase”), a mTOR (do inglês “mammalian target of rapamycin”) e a SMG1 (do inglês “suppressor with morphological effect on genitalia family member”). A proteína ATM, tal como todos os membros pertencentes à sua família, é constituída por quatro domínios distintos: o domínio de repetição HEAT, o domínio FRAP-ATM-TRRAP (FAT), o domínio cinase (KD) e o domínio FATC (Figura 34) [265].

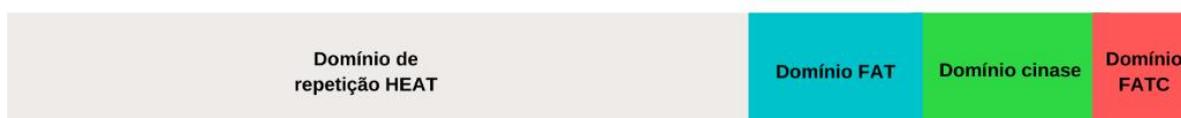


Figura 34 - Domínios funcionais da proteína ATM. A proteína ATM é constituída por quatro domínios: domínio de repetição HEAT, o domínio FAT, domínio cinase e domínio FATC.

A ATM é uma proteína nuclear que desempenha um papel fulcral no controlo da taxa de crescimento e proliferação celular, tal como no auxílio do reconhecimento de lesões existentes no DNA [266]. Esta proteína é ativada por uma série de mecanismos: DSBs (o que se revela mais significativo), ROS (espécies reativas de oxigénio, do inglês “reactive oxygen species”), stresse hipotónico (Figura 35) [265], mitofagia e peroxifagia [267], [268]. Esta proteína, em situações normais, encontra-se inativa, apresentando-se na forma de dímeros ou de multímeros inativos. Quando surgem lesões no DNA, nomeadamente DSBs, estas são reconhecidas pelo complexo Mre11 (sensor de DSBs), composto pelas proteínas Mre11, MCD1 e NBS1. Nestas condições, o complexo Mre11 induz a rápida ativação da proteína ATM através da sua autofosforilação. Este processo promove a monomerização de ATM e a sua atividade cinase, fazendo com que a proteína ATM consiga proceder à fosforilação de várias proteínas-chave (P53, CHEK2, BRCA1, NBS1 e H2AX) que, por sua vez, irão inibir a progressão do ciclo celular e reparar as lesões no DNA ou conduzir a célula para um processo de morte por apoptose [31],[265].

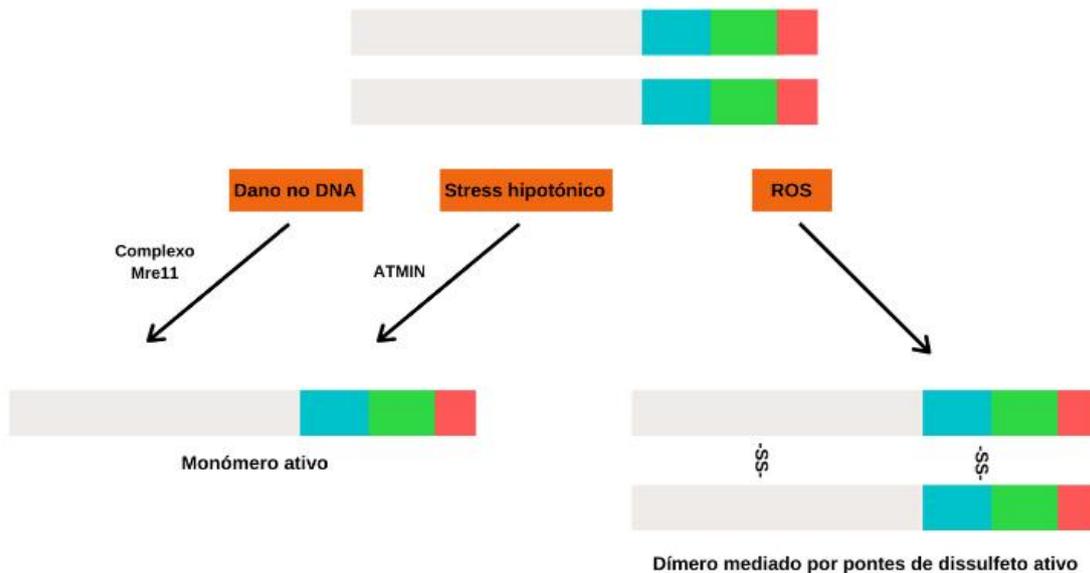


Figura 35 - Ativação da proteína ATM. A proteína ATM, em situações consideradas normais, encontra-se inativa. Aquando da existência de lesões no DNA ou de stresse hipotónico, a ativação da ATM requer o complexo Mre11, ou a ATMIN, respetivamente. Assim, monómeros de ATM são ativados. Paralelamente, a ATM é ativada diretamente aquando da acumulação de ROS para formar o dímero mediado por pontes de dissulfureto.

Devido ao seu papel central na reparação do DNA e na verificação dos *checkpoints* do ciclo celular, é facilmente entendido o porquê da proteína nuclear ATM suscitar tanto interesse na área de investigação oncológica [266]. De facto, sabe-se que os níveis de expressão de mRNA e da proteína associados ao gene *ATM* se encontram elevados na maioria dos órgãos humanos, exceto no fígado, tecido adiposo e tecidos moles. Adicionalmente, esta proteína também revela ter um papel preponderante na manutenção dos telómeros e na alteração da compactação da cromatina. Evidências recentes indicam que uma minoria destas proteínas, entre 10% a 20% conforme o tipo de células, se encontram no citoplasma, onde são responsáveis pela coordenação das funções dos peroxissomas e das mitocôndrias aquando de situações de stresse oxidativo, pela regulação da angiogénese, pelo metabolismo da glicose, pela homeostase mitocondrial e pela autofagia dos peroxissomas [265], [269].

3.4.3. Prevalência e caracterização da A-T

A A-T, como já foi supracitado, trata-se de um distúrbio neurodegenerativo complexo que apresenta um espectro fenotípico bastante mais vasto do que aquilo que se pensava. Estima-se que esta síndrome apresente uma prevalência de cerca de 1:40000 a 1:100000, não se tendo verificado a existência de raças ou etnias mais propensas ao seu desenvolvimento [258]. Além do clássico sintoma associado a esta doença, a ataxia cerebelar, esta doença também se pode manifestar através de uma série de outras manifestações clínicas, sendo as mais frequentes a disartria, a mioclonia, a distonia, a coreioatetose, a telangiectasia oculocutânea e também a apraxia oculomotora (Tabela 13). Sabe-se também que a progressão da própria doença pode ser mais lenta quando essas manifestações clínicas se apresentam numa idade precoce, sendo este fenómeno geralmente atribuído à atividade residual que está a ser desempenhada pela proteína ATM [256].

Tabela 13 - Características clínicas observadas em doentes com A-T e a sua prevalência durante o curso da doença ou como uma manifestação inicial. Tabela baseada no artigo "Ataxia-Telangiectasia: A Review of Movement Disorders, Clinical Features, and Genotype Correlations", 2018

Manifestação clínica	Prevalência	Manifestação inicial
<u>Anomalias do movimento</u>		
Sintomas cerebelares	344/357 (96%)	87/130 (67%)
Distonia	186/210 (89%)	24/130 (18%)
Parkinsonismo	17/41 (41%)	Nenhuma
Coreoatetose	246/276 (89%)	13/130 (10%)
Mioclonia	124/132 (92%)	Nenhuma
Tremores	97/131 (74%)	5/130 (4%)
<u>Anomalias neurológicas</u>		
Apraxia oculomotora	217/265 (82%)	Nenhuma
Nistagmo	97/165 (59%)	Nenhuma
Sintomas piramidais	31/156 (20%)	1/130 (1%)
Neuropatia	131/179 (73%)	Nenhuma
Disartria	278/279 (99%)	9/130 (7%)
<u>Características sistémicas</u>		
Telangiectasia conjuntival	276/327 (84%)	
Telangiectasia cutânea	79/132 (60%)	
Imunodeficiência	198/296 (67%)	
<u>Características laboratoriais</u>		
Concentrações de AFP elevadas	150/153 (98%)	

Adicionalmente, aquando da autópsia de doentes com A-T, também foi possível constatar que o timo se encontra hipoplásico, não apresentando corpúsculos de Hassall (estruturas que se encontram presentes na medula do timo humano) [256],[257].

3.4.3.1. Características neurológicas

As manifestações neurodegenerativas são aquelas que se apresentam como mais frequentes em portadores de mutações no gene *ATM*. Condições específicas como é o caso da neurodegeneração progressiva e da neurodegeneração espinocerebelar manifestam-se, geralmente, em idades compreendidas entre os 6 e os 18 meses de idade, sendo a ataxia cerebral, usualmente, o primeiro sinal verificado. Após alcançarem os 10 anos de idade, estas crianças tendem a verificar inúmeros problemas relacionados com o movimento, ficando normalmente confinadas a uma cadeira de rodas. Para além disto, doentes diagnosticados com A-T costumam apresentar marcas de disfunção cerebelar, tais como oscilação truncal, ataxia da marcha, dissinergia e hipotonia muscular. Adicionalmente, também podem verificar movimentos involuntários anormais, incluindo coreia, distonia, disfagia, atetose, espasmos musculares ou tremores [258]. Geralmente, uma forma grave de coreia e distonia é observada em cerca de 90% dos doentes [270].

As degenerações cerebelares em doentes com A-T surgem da atrofia do vermis cerebelar e dos hemisférios cerebrais que, por sua vez, comprometem as dendrites e os axónios das células de Purkinje e os neurónios da camada granulosa. Os movimentos oculares anormais e os distúrbios visuais observados nestes doentes são causados pela degeneração do córtex cerebelar, incluindo disartria, apraxia oculomotora, nistagmo alternado periódico, nistagmo evocado pelo olhar, estrabismo e reflexo vestibulo-ocular. De uma forma geral, o uso de terapias físicas, ocupacionais e da fala podem ser úteis para tentar manter a função neurológica destes doentes, sendo que, no entanto, estas não retardarão o processo de degeneração neurológica [256],[258].

Ataxia Cerebelar

A ataxia ou, por outra palavras, a falta de coordenação dos movimentos, não se trata de uma doença específica, mas sim de um sintoma que pode ser observado aquando do diagnóstico de algumas síndromes hereditárias. Normalmente, este sintoma é causado por uma perda da função do cerebelo, a parte cerebral que se revela ser o centro de coordenação do movimento, assim como da medula espinal ou das vias condutoras que interligam o cerebelo e a própria medula [261]. A ataxia cerebelar é encontrada, em muitos dos casos, associada a distúrbios como a disartria, a coreia leve, a disfunção cognitiva e a presença de anomalias oculomotoras, tal como apraxia oculomotora e nistagmo. Embora a ataxia cerebelar seja a manifestação clínica inicial mais frequentemente observada em crianças, o mesmo não se verifica aquando do diagnóstico desta patologia em idade adulta. Mesmo assim, apesar desta variabilidade, sabe-se que cerca de 96% dos indivíduos diagnosticados com A-T desenvolvem ataxia cerebelar num qualquer período da doença [256].

Disartria

A disartria tende a manifestar-se mais tarde do que a ataxia cerebelar. Esta disfunção neurológica é caracterizada pela fala arrastada, fazendo com que os doentes em causa não consigam completar frases completas, ou pela fala disfónica fraca (alteração de algumas qualidades acústicas da voz, tais como o timbre, a intensidade, etc.). Esta manifestação clínica

surge em praticamente 100% dos casos diagnosticados com A-T, mas raramente se manifesta como sintoma inicial desta síndrome (7%) [256].

Coreia e Atetose – “Coreoatetose”

A “coreoatetose” é uma manifestação frequente da A-T ($\approx 89\%$), mas raramente se revela incapacitante. A distinção entre coreia e atetose, de uma forma geral, não é evidente, daí ter surgido o conceito coreoatetose [256]. Enquanto que a coreia provoca o aparecimento de movimentos involuntários breves, repetitivos, irregulares e relativamente rápidos nestes doentes, a atetose envolve o fluxo contínuo de movimentos involuntários lentos, contínuos e contorcidos que, geralmente, afetam as mãos e os pés. Tanto uma como outra resultam de uma hiperatividade existente ao nível dos gânglios basais, a parte cerebral que ajuda a controlar e a coordenar os movimentos iniciados pelos impulsos nervosos provenientes do cérebro. Verificou-se, na maioria das variantes de coreia observadas, a existência de um excesso de dopamina, o principal neurotransmissor dos gânglios basais, que, por sua vez, impede que esses mesmos gânglios funcionem normalmente [258].

Distonia

A distonia é responsável pelo aparecimento de contrações musculares involuntárias de longa duração que, por sua vez, podem forçar os próprios doentes a adotarem posições anormais, fazendo com que o tronco, os membros ou o pescoço do doentes se torçam. De uma maneira geral, assume-se que a causa por detrás da distonia é uma hiperatividade associada a várias zonas cerebrais, incluindo zonas fulcrais como os gânglios basais, o tálamo, o cerebelo e também o córtex cerebral. Sabe-se que a distonia pode afetar um indivíduo de variadas maneiras, podendo afetar apenas uma parte do corpo (distonia focal), duas ou mais partes do corpo que estão próximas uma da outra (distonia segmentar), duas ou mais partes que não estão próximas uma da outra (distonia multifocal) ou até o tronco e mais duas partes diferentes do corpo (distonia generalizada) [261].

No entanto, considera-se que a atetose e a distonia se referem à mesma condição, pensando-se, por isto mesmo, que a distonia acabou por ser bastante subestimada em vários casos de doentes diagnosticados com A-T no decorrer do século XX. Atualmente sabe-se que a distonia representa um dos distúrbios do movimento mais comuns em indivíduos com A-T (89% dos casos) [256].

Mioclonia

A mioclonia é um distúrbio do movimento que se refere ao aparecimento de espasmos bastante rápidos e repentinos (contrações) num determinado músculo ou grupo de músculos. Este sintoma pode ser observado em doentes diagnosticados com A-T, isoladamente ou então associado ao desenvolvimento de distonia. A mioclonia pode ser do tipo segmentar, multifocal ou generalizada [261]. Segundo a análise de *Levy et al.*, a mioclonia é o distúrbio do movimento mais frequentemente observado em indivíduos com A-T, estando presente em 92% dos casos [256].

Tremores e parkinsonismo

Várias formas de tremor são observadas em indivíduos com A-T, podendo estas estar associadas à disfunção cerebelar, à distonia ou até mesmo ao parkinsonismo. Segundo a revisão elaborada por *Levy et al.* [256], concluiu-se que o tremor foi relatado como manifestação inicial em cerca de 4% dos doentes diagnosticados com A-T e que este sintoma se mostrava estar presente, em algum momento da doença, em 74% desses casos.

Mais especificamente, o parkinsonismo é uma característica frequentemente presenciada em doentes diagnosticados com A-T, que se refere aos sintomas descritos para a doença de Parkinson, mas que, realmente, são causados por outras doenças. Este distúrbio pode ser causado por alterações cerebrais, lesões no cérebro ou até por determinados medicamentos e toxinas. Indivíduos que verifiquem parkinsonismo apresentam tremores em situações em que os músculos se encontram relaxados, rígidos ou quando há execução de movimentos lentos, apresentando assim muitas dificuldades em equilibrar-se. Apesar de inicialmente ser leve, este sintoma acaba por evoluir, tornando-se bastante mais evidente entre a segunda e a terceira década de vida dos doentes [261].

3.4.3.2. Telangiectasia

A telangiectasia apresenta-se como um distúrbio em que os vasos sanguíneos apresentam anomalias, tornando-se dilatados e visíveis a olho nu. Devido a isto, os vasos sanguíneos destes doentes apresentam uma grande fragilidade, sendo bastante propensos a hemorragias. De uma maneira geral, a telangiectasia tende a observar-se, com maior incidência, na face, mais especificamente em zonas como os lábios, as escleras oculares e os cantos da boca e do nariz, podendo também verificar-se ao nível das extremidades das mãos e dos pés. Por outro lado, os vasos sanguíneos de menor calibre, presentes nos órgãos e tecidos do sistema digestivo e urinário, assim como no cérebro, fígado, pulmões e na medula espinal, podem igualmente ser afetados, podendo causar graves hemorragias internas nesses mesmos locais. Em casos particulares de A-T, a telangiectasia é, habitualmente, mais evidente ao nível dos globos oculares, orelhas e também nas zonas laterais ao pescoço [258]. De facto, 84% dos indivíduos com A-T tendem a desenvolver telangiectasias conjuntivais, sendo que 60% desses doentes verificam telangiectasias cutâneas. Mesmo assim, nenhum destes tipos de telangiectasia parece surgir como manifestação inicial da doença [256].

A base fisiopatológica do desenvolvimento de telangiectasia em doentes com A-T ainda não foi totalmente compreendida. No entanto, sabe-se que as telangiectasias oculocutâneas verificadas nestes indivíduos estão associadas a anomalias vasculares decorrentes da sobreexpressão de HIF-1 (do inglês "*hypoxia-inducible factors*") que, por sua vez, é causada pela disfunção das proteínas ATM. Em condições de hipoxia, a sobreexpressão de HIF-1 leva ao aumento da expressão de genes alvo de HIF-1, tal como é o caso do *VEGF* (do inglês "*vascular endothelial growth factor*"), que é um fator angiogénico potente [258].

3.4.3.3. Imunodeficiência

A imunodeficiência primária é uma das manifestações clínicas frequentemente observadas em indivíduos diagnosticados com A-T, sendo verificada em cerca de 67% destes indivíduos [256]. Esta manifestação decorre de um distúrbio causado pelo mau funcionamento do sistema imunológico. De facto, é sabido que a grande maioria destes indivíduos apresenta linfopenia de linfócitos B ou T, diminuição de linfócitos T CD8+ e/ou de linfócitos T CD4+, deficiência na produção de anticorpos e uma redução significativa dos níveis séricos de IgA, IgG e IgE, bem como anomalias nas subclasses IgM e IgG [258]. Visto que a imunodeficiência primária compromete elementos cruciais, a esta acaba por induzir o desenvolvimento de infeções mais agressivas, mais duradouras e também mais frequentes em comparação com as infeções que afetam a população geral. Geralmente, a manifestação de imunodeficiência mais frequentemente verificada em doentes com A-T é a infeção sinopulmonar bacteriana que, na maioria das vezes, se manifesta no início da vida do doente. De uma forma geral, as infeções surgem acompanhadas de otites e sinusite, bem como de bronquite e pneumonias recorrentes [258],[271].

Até ao momento, ainda não se conseguiu relacionar o estado de imunodeficiência, que permanece estável ao longo do tempo, com a frequência das infeções sinopulmonares desenvolvidas por doentes com A-T. Sabe-se apenas que os indivíduos que sobreviveram até à idade adulta apresentaram menos infeções do que aqueles que faleceram numa idade mais prematura [256].

3.4.3.4. Doenças Pulmonares

As doenças pulmonares manifestam-se em mais de 70% dos casos de A-T, progredindo, principalmente, com o aumento da idade e com o aumento da deterioração neurológica. As doenças do foro respiratório são a principal causa de morbimortalidade entre os doentes diagnosticados com esta síndrome, visto que cerca de 50% desses indivíduos acabam por falecer ainda durante a adolescência devido a insuficiências respiratórias graves. De uma forma geral, existem três tipos de doenças pulmonares mais frequentes em doentes com A-T, incluindo as infeções sinopulmonares e bronquiectasias recorrentes, as doenças pulmonares intersticiais/fibroses pulmonares e os distúrbios neuromusculares que, por sua vez, têm a capacidade de afetar severamente a função respiratória dos doentes em causa. Crianças e jovens adultos diagnosticados com esta síndrome apresentam um risco bastante aumentado de desenvolverem linfomas pulmonares secundários. Por outro lado, sabe-se que alguns aspetos clínicos associados à presença de doenças pulmonares, em doentes com A-T, podem estar relacionados a défices neuromusculares progressivos. Por exemplo, a disfunção muscular bulbar pode resultar em disfagia (dificuldades aquando da deglutição) e na aspiração crónica que pode causar o aparecimento da doença pulmonar. Desta maneira, a identificação de estratégias que limitem o desenvolvimento e a progressão das doenças pulmonares é crucial, visto que serão estas que irão conseguir melhorar a qualidade de vida dos doentes com A-T [258].

3.4.3.5. Alfa-fetoproteína (AFP)

A elevada concentração sérica de AFP tem-se revelado um marcador bastante promissor para o diagnóstico de doentes com A-T. Na verdade, a AFP é uma proteína plasmática, normalmente produzida no saco vitelino embrionário, pelos hepatócitos fetais. O seu pico de

expressão decorre durante os três primeiros meses de desenvolvimento sendo que, posteriormente, acaba por ver a sua concentração diminuída. Tanto os doentes jovens como os adultos apresentam concentrações séricas elevadas desta proteína, sendo esta característica verificada em 95% dos casos [257]. Sabe-se que o nível sérico de AFP se apresenta mais baixo em doentes diagnosticados com A-T do que em doentes diagnosticados com tumores derivados do saco vitelino e com tumores do fígado, sendo essa concentração mais semelhante aquela observada em casos de hepatite, sendo que nos doentes com A-T o fígado se apresenta quase sempre intacto [258].

3.4.3.6. Tumores

A A-T, como já foi supracitado, é classificada como uma síndrome associada à instabilidade genómica, o que pode implicar uma maior predisposição ao desenvolvimento de várias neoplasias. Os doentes diagnosticados com A-T apresentam um maior risco de desenvolverem cancro, podendo esse mesmo risco ser 10% a 25% superior ao risco considerado para a população em geral. Os tipos de tumores mais frequentemente diagnosticados em crianças com A-T são as leucemias e os linfomas, enquanto que os adultos se revelam mais suscetíveis ao desenvolvimento de tumores linfóides e a diferentes tipos de tumores sólidos, tais como o cancro da mama, do estômago, do fígado, das glândulas parótidas e também do esófago [258],[272]. Outro fator que, ao longo dos anos, mostrou contribuir para o aparecimento de doenças malignas é o vírus *Epstein-Barr* (VEB), visto que em alguns casos de doentes com A-T foi verificado um padrão de anticorpos EBV que, por sua vez, podem estar associados a uma regulação deficiente dos níveis de EBV presentes nos linfócitos B [258].

Apesar do mau prognóstico atribuído aos doentes com A-T que desenvolvem, em algum período da vida, algum tipo de tumor, á verificado que a maioria dos doentes que conseguem responder, de forma eficaz ao tratamento, sobrevivem durante mais tempo que o normal. No entanto, devido à alta sensibilidade que as células dos doentes diagnosticados com A-T apresentam a alguns dos agentes usados nessas abordagens terapêuticas, como é o caso de alguns agentes quimioterapêuticos e o uso de radiação ionizante, estes indivíduos devem ser monitorizados de uma forma mais cautelosa do que os doentes oncológicos normais [258],[273].

Por outro lado, sabe-se que o desenvolvimento de cancro em indivíduos diagnosticados com A-T aumenta com a idade, existindo, portanto, uma correlação entre a idade do diagnóstico do tumor e a mortalidade associada a este [256],[274].

Leucemias e Linfomas

Doentes com A-T apresentam uma elevada predisposição para desenvolverem diferentes tipos de tumores hematopoiéticos, sobretudo em idades precoces (crianças ou jovens adultos). Os tipos de tumores mais frequentemente diagnosticados nestes doentes são as leucemias e os linfomas, representando, em conjunto, cerca de 85% de todas as doenças malignas observadas em crianças diagnosticadas com A-T [258],[275]. As leucemias linfoblásticas agudas dos linfócitos T e as leucemias prolinfocíticas dos linfócitos T são os dois tipos de leucemia mais frequentemente diagnosticados em crianças com A-T, enquanto que os linfomas dos

linfócitos B representam a maioria dos linfomas relatados em crianças diagnosticadas com esta síndrome hereditária do cancro [257].

Cancro da Mama

O cancro da mama é o único tipo de tumor, para além das leucemias e dos linfomas, que foi estudado mais extensivamente em doentes com A-T. Como supramencionado, sabe-se que a existência de mutações no gene *ATM* constitui um risco moderado no que toca ao desenvolvimento de cancro da mama. De facto, foi verificado que mulheres portadoras destas mesmas mutações têm um risco 5,1 vezes superior do que o estimado para a população em geral [276]. Estudos relativamente recentes vieram demonstrar que o risco de desenvolvimento de cancro mamário, em portadores de mutações no gene *ATM*, aos 50 anos de idade, varia entre 6% a 9%, sendo que, aos 80 anos de idade, este é, aproximadamente, de 33% [277],[278].

Outros tumores malignos

Embora não existam evidências suficientes que sejam capazes de provar que a presença de mutações heterozigóticas no gene *ATM* está associado ao aumento do risco de desenvolvimento de outros tipos de tumores, existem alguns estudos que levam a crer que estas mutações também têm um impacto grande no aparecimento de tumores colorretais, do estômago, do pâncreas, do fígado e da vesícula biliar [279].

Segundo um estudo conduzido por *Reiman et al.*, no ano de 2016, verificou-se que membros da família de doentes previamente diagnosticados com A-T apresentavam um risco aumentado de desenvolvimento de cancro do estômago, pancreático e colorretal, sendo esse risco 1,5, 2,2 e 1,3 vezes superior ao risco considerado normal, respetivamente. Estes valores combinados com os elevados valores encontrados para o desenvolvimento de cancro do fígado (4,8 vezes superior ao risco inerente à população em geral) e de cancro da vesícula biliar por indivíduos (5,7 vezes superior ao risco inerente à população em geral), demonstram que portadores de mutações no gene *ATM* parecem ser bastante mais suscetíveis ao desenvolvimento de tumores do trato digestivo [280].

3.4.3.7. Outros

Anomalias Cutâneas

Cerca de 10% dos doentes diagnosticados com A-T apresentam granulomas cutâneos crónicos (tumores cutâneos benignos). Outras anomalias comuns da pele associadas a doentes com A-T incluem dermatites seborreicas, isto é, inflamações crónicas da pele que provocam a descamação e o aparecimento de caspa no couro cabeludo, na face e nas zonas envolventes às orelhas, e também alterações ao nível da pigmentação da pele e do cabelo. Estas últimas duas alterações são características que têm marcado a aparência geral dos indivíduos diagnosticados com esta síndrome. Inicialmente, crianças pequenas começam por apresentar alguns cabelos grisalhos, tornando-se estes cada vez mais frequentes à medida que crescem [256]. O envelhecimento do cabelo deve-se ao comprometimento da manutenção das células estaminais dos melanócitos, que decorre das lesões existentes no DNA destes doentes e da consequente

instabilidade genómica [258]. Por outro lado, atrofia cutânea, tal como reduções do tecido subcutâneo, são frequentemente visualizadas em zonas como a face, mãos e pés, sendo que, em muitos casos, estas também são acompanhadas da presença de máculas hipopigmentadas (manchas brancas na pele com uma distribuição característica). A progressão dessas alterações cutâneas tem-se mostrado variável [256].

Resistência à insulina – Diabetes

Hoje em dia, é sabido que uma minoria de doentes diagnosticados com A-T acaba por sofrer de diabetes resistente à insulina (diabetes *mellitus* tipo 2) durante a sua vida. No entanto, várias evidências têm vindo, também, a comprovar que doentes com A-T que não têm diabetes podem, efetivamente, apresentar valores elevados de glicemia e uma sensibilidade reduzida à insulina. De facto, *Schlack et al.* [281] descreveram, pela primeira vez, uma forma invulgar de diabetes em 5 de 8 doentes previamente diagnosticados com esta síndrome hereditária. Estes apresentavam hiperglicemia acentuada, resistência à cetose, ausência de glicosúria e níveis bastante elevados de insulina no plasma após se ter administrado glicose. Subsequentemente, também foi demonstrado que os monócitos de 2 desses doentes apresentaram uma diminuição da afinidade ao recetor de insulina de, aproximadamente, 80%, o que poderia estar na origem da resistência à insulina [282]. Essa relação foi, posteriormente, comprovada por *Yang e Kistan* [283], que demonstraram que a proteína ATM tinha, efetivamente, um papel fulcral na via de sinalização da insulina que, por sua vez, controla o início da tradução de várias proteínas [271].

3.4.4. Diagnóstico

Na verdade, existem alguns distúrbios raros que podem ser confundidos com a A-T, levando à realização de um diagnóstico incorreto. Isto deve-se ao facto dessas patologias apresentarem manifestações clínicas (resumidas na Tabela 14) muito semelhantes a esta síndrome, o que se revela ser um problema. Outras patologias, nomeadamente aquelas que costumam verificar o desenvolvimento de ataxia cerebelar no início da infância, são facilmente confundidas com a A-T, destacando-se a ATLD2 (do inglês “*ataxia-telangiectasia-like disorder 2*”), a AOA1 (do inglês “*ataxia with oculomotor apraxia type 1*”), a AOA2 (do inglês “*ataxia with oculomotor apraxia type 2*”), a síndrome de RIDDLE e também a SCAN1 (do inglês “*spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy type 1*”). Também é importante referir que a deficiência imunológica, uma das frequentes manifestações clínicas observadas em doentes com A-T, é também um dos sintomas usualmente observados na síndrome de rutura de *Nijmegen* e na ATLD1 (do inglês “*ataxia-telangiectasia-like disorder 1*”), devido à deficiência de Mre11 [258].

Em termos moleculares, observou-se que a concentração sérica de AFP, aquando da confirmação do diagnóstico da síndrome A-T, da AOA2 e da RIDDLE se apresentam bastante semelhantes [258]. Contudo, o doseamento de AFP é imprescindível e fundamental para um diagnóstico correto da A-T, sabendo que são bastante raros os casos em que as concentrações de AFP se verificaram normais nestes doentes. Por outro lado, também existem evidências que relatam que uma grande parte dos doentes diagnosticados com esta síndrome hereditária

verificam um aumento da concentração das transaminases hepáticas, o que, por sua vez, pode apontar para o seu comprometimento hepático crónico [271].

Tabela 14 - Características clínicas e laboratoriais de alguns distúrbios genéticos que podem ser confundidos com a síndrome A-T. ATLD1 - “ataxia with oculomotor apraxia type 1”; ATLD2 - ataxia with oculomotor apraxia type 2”; AOA1 - “ataxia with oculomotor apraxia type 1”; AOA2 - “ataxia with oculomotor apraxia type 2”; NBS – síndrome de Nijmegen; síndrome de RIDDLE.

Síndromes	Gene	Ataxia	Imunodeficiência	Telangiectasia	Radiossensibilidade	Tumores	Concentração AFP
A-T	ATM	✓	✓	✓	✓	✓	Elevada
ATLD1	Mre11	✓	X	X	✓	Desconhecido	Normal
ATLD2	PCNA	✓	X	✓	X	✓	Normal
AOA1	APTX	✓	X	X	✓	X	Normal
AOA2	SETX	✓	X	X	X	X	Elevada
NBS	NBS1	X	✓	X	✓	✓	Normal
RIDDLE	RNF168	✓	✓	✓	✓	X	Elevada

Os critérios que, atualmente, estão na base do diagnóstico da A-T incluem a presença de manifestações clínicas como a ataxia e de, pelo menos dois dos seguintes: telangiectasia oculocutânea, concentração sérica de AFP elevada e cariótipo A-T de linfócitos com t(7; 14) conjuntamente com a verificação de hipoplasia aquando da realização da ressonância magnética. Contudo, existe um conjunto de características que juntas poderão ajudar na realização deste diagnóstico:

Manifestações clínicas [257]

A disfunção cerebelar progressiva, em idades compreendidas entre os 1 e os 4 anos de idade, manifesta-se através da:

- Marcha e ataxia troncular;
- Inclinação da cabeça;
- Fala arrastada (distrasia);
- Apraxia oculomotora e movimentos oculares anormais.

O diagnóstico de A-T é mais difícil em crianças muito pequenas, visto que essas ainda não exibem todas as características associadas a esta síndrome e devido ao facto de estas ainda não serem capazes de cooperar durante a realização de um exame neurológico.

Características laboratoriais [257]

- O rastreio neonatal de imunodeficiência combinada grave permite verificar se os níveis TREC (do inglês “*T-cell receptor excision circles*”) se encontram reduzidos nestas crianças. Este método é capaz de identificar cerca de 50% das crianças com A-T que apresentam linfopenia. No entanto, este exame pode ser menos sensível em crianças mais velhas, nomeadamente naquelas em que as linfopenias de linfócitos T são menos graves;
- A concentração sérica de AFP verifica valores acima de 10 ng/mL em cerca de 95% dos indivíduos com A-T. Notas: (1) a concentração sérica de AFP pode apresentar valores superiores aos normais em crianças não afetadas até estas alcançarem os 24 meses de idade; (2) o aumento frequente das concentrações séricas de AFP não indica necessariamente dano cerebelar contínuo nem se correlaciona com o prognóstico do doente;
- Análise cromossómica - a translocação de cromossomas 7;14 é identificada em cerca de 5% a 15% das células de indivíduos com A-T. As ruturas cromossómicas são frequentemente observadas na região 11 do braço longo do cromossoma 14 (14q11), que é o principal *locus* dos recetores dos linfócitos T. Estas também se encontram usualmente na região 32 do braço longo do cromossoma 14 (14q32), o *locus* do recetor de cadeia pesada da imunoglobulina dos linfócitos B [IGH].

Manifestações decorrentes da realização de uma ressonância magnética [257]

Após a realização de uma ressonância magnética, doentes com A-T geralmente apresentam atrofia do vermis frontal e posterior, tal como atrofia de ambos os hemisférios. Importa atentar que, embora o cerebelo de crianças pequenas nem sempre seja perceptível na ressonância magnética, a ressonância magnética ponderada por difusão permite quantificar o grau das lesões verificadas na via corticomotora cerebelar em crianças com apenas 3 anos de idade, sugerindo que este exame pode ser útil na confirmação precoce do diagnóstico de A-T.

3.4.5. Abordagens terapêuticas e avanços

Embora nenhum tratamento se tenha verificado completamente eficaz em doentes diagnosticados com A-T, existem alguns medicamentos e abordagens terapêuticas usados no alívio dos sintomas [258]. Inúmeros estudos têm sido feitos com o objetivo de reverter a sintomatologia associada aos doentes com A-T [256],[258].

Problemas neurológicos

O uso de agentes farmacoterapêuticos, tais como a amantadina, a fluoxetina, a buspirona, o trihexifenidil, o baclofeno e também o clonazepam, diminuem significativamente as manifestações neurológicas em indivíduos diagnosticados com A-T [258]. Um estudo conduzido por *Nissenkorn et al.* [284], em 2013, mostrou que a administração de amantadina (fármaco capaz de aumentar a transmissão dopaminérgica, inibindo a captação sináptica deste

neurotransmissor), em 17 crianças diagnosticadas com A-T, foi eficaz na atenuação de sintomas como a coreia, em cerca de 32,5% dos doentes, e como a ataxia, em aproximadamente 25,3% das crianças. Além disto, foi também relatado que os glicocorticóides (especialmente a dexametasona e a betametasona) eram capazes de melhorar a sintomatologia neurológica verificada por estes doentes. Segundo os resultados de 2 estudos, um conduzido por *Russo et al.* [285], no ano de 2009, e outro por *Broccoletti et al.* [286], em 2008, verificou-se uma melhoria significativa dos sintomas neurológicos em indivíduos diagnosticados com A-T após a administração de betametasona oral a curto-prazo. No entanto, apesar de ter demonstrado resultados promissores, esta classe específica de medicamentos pode aumentar a frequência de infecções nestes doentes. Por outro lado, *Chessa et al.* [287], em 2014, através de um sistema específico que permitiu o encapsulamento de fosfato de sódio de dexametasona em eritrócitos autólogos de 22 doentes com A-T, demonstrou uma melhoria significativa dos distúrbios neurológicos aquando da administração deste glicocorticóide. Mesmo assim, apesar destes estudos terem demonstrado um impacto estatisticamente significativo na melhoria dos distúrbios neurológicos presentes nestes doentes, as complicações a longo-prazo do uso de esteróides superaram os benefícios a curto-prazo associados a estes tratamentos [258].

Outra abordagem terapêutica que tem sido estudada baseia-se na reposição dos níveis intracelulares de NAD⁺ em doentes diagnosticados com A-T. Estes têm como foco principal a redução da gravidade das neuropatologias verificadas nestes doentes, permitindo, assim a normalização da sua função neuromuscular, o atraso da perda de memória e o prolongamento da sua vida útil. Efetivamente, um estudo de *Fei Fang et al.* [288], de 2016, demonstrou que a reposição dos níveis de NAD⁺, em modelos animais que possuíam uma depleção desta coenzima, mostrou-se bastante promissora. Além da melhoria significativa da sintomatologia neuropatológica, este estudo permitiu compreender que este tratamento é capaz de estimular a reparação do DNA neuronal e de induzir um melhor funcionamento da mitofagia. De facto, este estudo relacionou duas grandes teorias acerca do envelhecimento: a acumulação de lesões no DNA e a disfunção mitocondrial através da sinalização nuclear-mitocondrial induzida por lesões no DNA nuclear, demonstrando que estes são determinantes fisiopatológicos importantes no envelhecimento precoce de doentes com A-T.

Até ao momento, ainda não existem outros estudos específicos que se tenham focado no estudo do tratamento destes distúrbios em indivíduos com A-T, tal como ainda não existe nenhum tratamento específico capaz de retardar ou interromper a progressão destes défices neurológicos. Devido a isto, tratamentos convencionais, como a administração de toxinas botulínicas para a atenuação da distonia focal, devem ser usados até que se realizem mais estudos específicos acerca desta síndrome [261]. Atualmente são vários os ensaios clínicos que estão a decorrer, incluindo novas e promissoras abordagens, tais como um estudo de fase III que envolve a administração de uma terapia específica de infusão intra-eritrocitária de fosfato sódico de dexametasona [289], um estudo inicial que se foca no tratamento de linfomas e de leucemias em crianças diagnosticadas com A-T [290] e também um estudo que tem como objetivo a administração de N-acetil-L-Leucina nestes mesmos doentes [291].

Imunodeficiência

Mais de 50% das imunodeficiências primárias resultam da produção deficiente de anticorpos pelos linfócitos B. Desta maneira, visto que as infecções nos doentes diagnosticados

com A-T são recorrentes, causando morbidade e incapacidades bastante significativas devido a complicações relacionadas com o desenvolvimento de doenças pulmonares crônicas e de distúrbios autoimunes, a expectativa de vida mostra-se reduzida nestes doentes. Ao longo dos anos, tem-se percebido que o tempo de vida útil dos doentes com A-T pode ser potencialmente prolongada através da administração da terapia de reposição de imunoglobulinas e também através da realização de tratamentos que envolvam a toma de antibióticos. Além disso, a vacinação contra agentes patogênicos respiratórios bacterianos frequentes, tal como é o caso do *hemophilus influenzae*, vírus da influenza e pneumococos, mostrou ter um impacto bastante positivo na imunidade desenvolvida por esses mesmos doentes [258]. Por sua vez, estratégias que visam desobstruir as vias aéreas têm, também, sido usadas em conjunto com estas terapias, tendo alguns estudos até recomendado a administração de azitromicina para reduzir a frequência de exacerbações das bronquiectasias subjacentes [271].

Tumores

Cerca de 30% das crianças diagnosticadas com A-T desenvolvem tumores durante a sua vida, sendo que os mais frequentemente observados tendem a ser os linfomas e as leucemias [276]. Visto que estes doentes apresentam uma maior sensibilidade aos agentes radioterapêuticos e quimioterapêuticos do que a população em geral, ajustes às terapias atuais têm sido implementados com o intuito de reduzir o risco associado ao aparecimento de efeitos adversos nestes doentes [292]. De facto, *Seidemann et al.* [293] dedicaram-se ao tratamento de doentes diagnosticados com A-T que, por sua vez, tinham desenvolvido linfoma não Hodgkin dos linfócitos B. Os resultados deste estudo revelaram que 5/9 doentes em estudo estavam em remissão completa e contínua, o que se traduziu num grande sucesso. Estes comprovaram que é possível modificar o tratamento quimioterapêutico administrado a estes doentes através do ajuste da dose administrada, tendo por base os fatores de risco e a tolerância individual de cada doente. Desta maneira, concluiu-se que a abordagem quimioterapêutica não deve incluir a administração de quaisquer agentes alquilantes e epipodofilotoxinas, que a dose de metotrexato administrado deve ser limitada e que a redução da dose de agentes quimioterapêuticos administrada a estes doentes atenuou a toxicidade associada à quimioterapia. No ano de 2008, um estudo conduzido por *Sandlund et al.* [294], estudou a efetividade de uma abordagem quimioterapêutica específica para o tratamento de malignidades existentes nos linfócitos B maduros de 5 crianças diagnosticadas com A-T. Este tratamento inovador baseou-se na redução da dose de agentes quimioterapêuticos que usualmente é administrada a doentes diagnosticados com linfomas dos linfócitos B. De facto, os resultados destes estudo permitiram observar que se verificou remissão completa e contínua do tumor em duas dessas crianças, contudo, duas delas acabaram por falecer devido à toxicidade associada à realização desta terapia. Desta forma, foi possível concluir que a redução da dose quimioterapêutica não é, por si só, suficiente para evitar a remissão dos carcinomas e prevenir o desenvolvimento de complicações severas decorrentes da sua administração em doentes com A-T [258].

3.4.6. A-T e efeitos da radiação ionizante

O gene *ATM* é caracterizado por possuir uma grande sensibilidade a determinados agentes específicos, tal como é o caso da radiação ionizante, que, por sua vez, têm a capacidade de induzir DSBs. As DSBs são reparadas através da ativação de duas vias principais: a via NHEJ (do inglês “*non-homologous end joining*”), que é ativada no decorrer de todo o ciclo celular; e a reparação por recombinação homóloga, restrita à fase S/G2 do ciclo celular [295]. Através da análise de fibroblastos de doentes diagnosticados com A-T, é possível perceber que a maioria das DSBs é reparada via NHEJ, independentemente da sinalização da proteína ATM. Mesmo assim, cerca de 15% destas quebras são particularmente induzidas pela exposição do material genético à radiação ionizante que, por sua vez, requerem a ativação da proteína ATM. Além disto, aquando da presença de inibidores desta proteína, a DSB encontra-se localizada ao nível da heterocromatina, indicando, desta maneira, que esta proteína é necessária para proceder à reparação destas quebras nestas regiões específicas [296]. O fenótipo celular característico dos doentes diagnosticados com A-T é descrito por apresentar uma elevada instabilidade cromossômica, uma senescência prematura ao nível dos fibroblastos e também uma elevada sensibilidade a agentes que são capazes de induzir essas mesmas quebras no DNA, tal como é o caso da radiação ionizante, de certos produtos químicos radiomiméticos e das espécies reativas de oxigénio. Essa sensibilidade, verificada tanto *in vivo* como *in vitro*, sugere que a proteína ATM é fundamental aquando do processo de reparação do DNA [297],[298].

3.4.6.1. Radiação ionizante associada às abordagens radioterapêuticas

Estudos

➤ ***Taylor et al. (1978)*** [299]

Este estudo envolveu a colheita de 16 amostras sanguíneas pertencentes a 8 doentes diagnosticados com A-T e a 8 indivíduos saudáveis, sem A-T. As amostras foram, posteriormente, irradiadas com doses totais de radiação-X de 100, 200, 300 e 400 rad (1 Gy, 2Gy, 3Gy e 4 Gy, respetivamente), tendo permanecido em cultura 52 h. Seguidamente, avaliou-se a frequência de aberrações cromossômicas por célula em cada uma das amostras sanguíneas, tendo-se verificado que, para doses mais baixas, as diferenças entre o número de cromossomas dicêntricos por célula verificado nas células de doentes saudáveis e nas células de doentes com A-T eram bastante acentuadas (100 rad – 0,12 vs. 0,24; 200 rad - 0,47 vs. 0,76; 300 rad – 1,06 vs.1,19). Por outro lado, para a dose mais elevada, 400 rad, o número de aberrações cromossômicas por célula, para ambos os casos, obteve valores idênticos (400 rad - 1,84 vs. 1,95).

Desta maneira, visto que as células sanguíneas de doentes com A-T, em comparação com as células de indivíduos saudáveis, apresentaram várias lesões após exposição a doses de 1 Gy, 2 Gy e 3 Gy, concluiu-se que este estudo veio apoiar a hipótese de que doentes diagnosticados com A-T apresentam uma hipersensibilidade à radiação ionizante. O facto de não terem sido observadas diferenças estatisticamente significativas para uma dose de 4 Gy pode dever-se ao facto dessa dose já ser suficientemente elevada para induzir um elevado número de lesões em células saudáveis.

➤ **Weissberg et al. (1998)** [300]

Um estudo de 1998, que incluiu a análise de 13 indivíduos com A-T, 2 diagnosticados com cancro da próstata e 11 com cancro da mama, teve como objetivo averiguar a radiosensibilidade destes doentes após terem sido sujeitos a doses moderadas a altas de radiação ionizante decorrentes da realização de radioterapia adjuvante.

Enquanto que os indivíduos diagnosticados com cancro da próstata foram sujeitos a doses totais de 70 Gy e de 40 Gy, as mulheres diagnosticadas com cancro da mama foram tratadas com doses totais que variaram entre 45 Gy e 60,4 Gy. Nos indivíduos masculinos, a toxicidade aguda decorrente da administração de radiação ionizante verificou-se ausente ou leve para ambas as doses. Relativamente às mulheres diagnosticadas com cancro da mama, o mesmo não se verificou. Todas elas apresentaram dermatites decorrente da realização de radioterapia, tendo sido observado o desenvolvimento de eritemas leves em 3 das doentes e eritemas mais intensos ou descamações irregulares nas restantes 8 mulheres. Adicionalmente, também foi relatado o desenvolvimento de leucopenia leve numa das doentes com cancro da mama. Não existiram casos de pneumonite, pericardite por radiação ou outras toxicidades associadas a estas doses de radiação ionizante. Por outro lado, foram relatadas lesões a longo-prazo, incluindo hiperpigmentação da pele ou telangiectasia (5/11 doentes), fibrose subcutânea leve (4/11 doentes) ou moderada (2/11 doentes) e dor nas costelas (2/11 doentes). Não se verificou necrose dos tecidos moles, desenvolvimento de fibroses pulmonares, lesões cardíacas ou outras complicações graves decorrentes da exposição a altas doses de radiação ionizante.

Assim, estes resultados mostram que não foram observadas quaisquer lesões a curto e a longo-prazo nos 13 indivíduos com A-T que foram expostos a doses altas de radiação ionizante. Por esta razão, este estudo não suporta a hipótese de que indivíduos diagnosticados com esta síndrome hereditária do cancro são mais suscetíveis ao desenvolvimento de lesões mais severas decorrentes da sua exposição à radiação ionizante em comparação com a população em geral.

➤ **Yanofsky et al. (2009)** [301]

Segundo um estudo de 2009, desta vez conduzido por *Yanofsky et al.*, 3 doentes diagnosticados com A-T, que apresentavam neoplasias linfóides, foram sujeitos a uma série de tratamentos quimio e radioterapêuticos, tendo-se verificado a remissão desses mesmos tumores em todos eles. Desses 3 indivíduos, apenas 2 realizaram radioterapia:

- Doente 1: criança de 20 meses, diagnosticada com leucemia linfoblástica aguda dos linfócitos T. Após este diagnóstico, realizou quimioterapia seguida de radioterapia adjuvante, tendo-lhe sido administrada uma dose total de 18 Gy na região craniana e uma dose total de 3 Gy na região do mediastino. Durante o decorrer da radioterapia, a criança não demonstrou apresentar quaisquer lesões decorrentes desta terapia. Aos 7 anos de idade, foi diagnosticada à criança uma nova neoplasia, um carcinoma neuroectodérmico primitivo supratentorial. Na sequência deste novo diagnóstico, foi realizado um procedimento cirúrgico, não tendo sido possível remover grande parte do tumor. Desta forma, após a cirurgia, a criança apenas realizou radioterapia adjuvante. O doente acabou por falecer 4 meses após o diagnóstico deste segundo tumor;

- Doente 1: criança de 31 meses, diagnosticada com leucemia linfoblástica aguda dos linfócitos T. Após este diagnóstico, realizou quimioterapia seguida de radioterapia adjuvante,

tendo-lhe sido administrada uma dose total de 24 Gy na região craniana e uma dose total de 6 Gy ao nível da medula óssea. A criança terminou a radioterapia aos 6 anos de idade, não tendo sido relatados efeitos adversos significativos de curto-prazo. Contudo, entre os seus 8-10 de idade foram muitos os efeitos a longo-prazo observados: desenvolvimento de uma leucoencefalopatia, convulsões, deficiência dos níveis da hormona do crescimento, puberdade precoce, hipotireoidismo, perda auditiva bilateral e desenvolvimento de escoliose. Cerca de 6 anos após a criança ter concluído a radioterapia, foi diagnosticada uma nova neoplasia: um **tumor** neuroectodérmico primitivo supratentorial. Na sequência deste novo diagnóstico, a criança foi intervencionada, não se tendo conseguido remover parte do tumor. Desta forma, a criança apenas realizou radioterapia paliativa após a cirurgia. O doente acabou por falecer 6 meses após o diagnóstico desta segunda neoplasia;

De facto, poderia pensar-se que o desenvolvimento destes segundos tumores primários poderia ser uma coincidência, contudo o tipo específico de tumores que surgiram nestes doentes, dois tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriais, nunca foram descritos, até hoje, em indivíduos diagnosticados com A-T. O mesmo não se verifica com tantos outros tipos, como é o caso dos meduloblastomas [302], dos astrocitomas [302], dos craniofaringiomas [303] e também dos linfomas do sistema nervoso central primário [304]. Devido a esta constatação, os autores deste estudo afirmam que o desenvolvimento destes tumores se deveu à exposição dos doentes às elevadas doses de radiação ionizante decorrentes da realização de radioterapia adjuvante. Assim, este estudo suporta a hipótese de que doentes com A-T demonstram ser significativamente mais radiosensíveis à radiação ionizante que a população em geral.

➤ ***Kiuru et al. (2014)*** [305]

Em 2014, um importante ensaio clínico focou-se no estudo da sensibilidade a baixas e a altas doses de radiação ionizante em três linhas celulares linfoblastoides: uma proveniente de um portador de mutações no gene *ATM* com cancro da mama, uma derivada de um indivíduo com A-T e outra derivada de um indivíduo saudável (linha celular de controlo). Esta radiosensibilidade foi investigada através da análise da frequência de aberrações cromossómicas presentes nessas mesmas linhas celulares, após irradiação com doses de 0,01 Gy, 0,1 Gy, 1 Gy e 2 Gy.

Os resultados revelaram que, para doses mais baixas (0,01 Gy ou 0,1 Gy), não se observaram diferenças entre o número de aberrações cromossómicas na linha celular do portador da mutação *ATM* e na linha celular proveniente do doente com A-T em relação à linha celular controlo. No entanto, para as outras duas doses mais altas (1 Gy e 2 Gy), verificou-se um aumento significativo do número de aberrações cromossómicas nas linhas celulares do portador da mutação *ATM* e do doente com A-T, em comparação com a linha celular controlo. Desta maneira, concluiu-se que as linhas celulares linfoblastóides do portador da mutação *ATM* e do doente com A-T são mais radiosensíveis a doses mais elevadas de radiação ionizante.

Casos clínicos

➤ ***Gotoff et al. (1967)*** [292]

O primeiro caso clínico que relatou que doentes diagnosticados com A-T poderiam, efetivamente, demonstrar uma maior hipersensibilidade à radiação ionizante do que aquela que é considerada normal, foi realizado no ano de 1967 por *Gotoff*. Este relatou o caso de um rapaz de 10 anos de idade, previamente diagnosticado com A-T, que foi internado após se ter verificado a presença de uma massa na cavidade oral. Após biópsia, o exame histológico mostrou a existência de um linfossarcoma. Na sequência deste diagnóstico, o rapaz realizou radioterapia adjuvante durante vinte e um dias, tendo sido planeado administrar-lhe uma dose total de 4,000 rads (40 Gy). Perto do final da terceira semana de tratamento, o doente desenvolveu uma mucosite aguda na orofaringe, tendo o tratamento que ser interrompido. Devido a isto, a dose total a que o indivíduo esteve exposto foi de 30 Gy e não de 40 Gy, como estava inicialmente planeado. Uma semana após a radioterapia ter terminado, o doente apresentou eritemas cutâneos e secreções serosas no local da irradiação, que, com o passar do tempo, foram piorando. De facto, estas lesões só melhoraram dois meses depois, nunca tendo sarado completamente. Alguns meses mais tarde, o doente voltou a piorar e voltou a ser internado. Uma radiografia torácica comprovou que este tinha desenvolvido uma pneumonia grave, o que fez com que o doente falecesse no próprio dia em que foi internado.

A autópsia permitiu verificar que a causa da morte do doente foi broncopneumonia já num estágio bastante avançado e que este apresentava dermatite severa decorrente da exposição à radiação ionizante na zona do pescoço, tal como ulcerações graves na área da hipofaringe e base da língua. Adicionalmente também foi observado que a concentração de linfócitos era baixa e que os corpúsculos de Hassall estavam ausentes.

Uma vez que as lesões decorrentes da exposição à radiação ionizante se apresentaram na área que sofreu irradiação, os autores afirmam que este indivíduo diagnosticado com A-T aparenta ser mais radiosensível que a população em geral, não parecendo este caso tratar-se de uma ocorrência casual. Apesar deste caso clínico suportar esta hipótese, os autores apelam para a necessidade do estudo de mais casos semelhantes, de maneira a poderem ser retiradas conclusões claras e objetivas.

➤ ***Morgan et al. (1968)*** [306]

Um rapaz de 9 anos de idade, previamente diagnosticado com A-T, foi internado após ter sido diagnosticado com linfoma de Hodgkin. Após o diagnóstico, a criança começou a realizar radioterapia, sendo que após duas semanas de radioterapia, foi possível verificar que o doente tinha desenvolvido disfagia. Mesmo assim, o tratamento prosseguiu e, cerca de quatro semanas após o início do tratamento, o doente desenvolveu esofagites decorrentes, tendo mesmo deixado de comer. Desta maneira, a radioterapia foi interrompida após 34 dias do seu início, tendo sido administradas ao doente dose totais de 26,52 Gy (porção anterior do tórax), 27,5 Gy (porção posterior do tórax) e 28,43 Gy (áreas supraclaviculares anteriores). Mesmo assim, várias semanas após a realização da radioterapia, a criança continuava a apresentar disfagia severa, tendo-se também verificado que a pele que havia sido irradiada se encontrava hipopigmentada e descamada. Passado algum tempo, após se ter detetado um constrangimento respiratório progressivo, este acabou por falecer.

A autópsia permitiu detetar dermatite ulcerosa na área que foi irradiada e determinar que a criança faleceu devido ao desenvolvimento de pneumonia crónica, broncopneumonia aguda e bronquiectasia. Para além disto, também foram verificadas alterações degenerativas das células de Purkinje.

Com base nestes resultados, concluiu-se que o rapaz desenvolveu várias lesões graves decorrentes da sua exposição à radiação ionizante. Assim, tal como o caso clínico de *Gotoff et al.*, este estudo suporta a ideia de que indivíduos diagnosticados com A-T apresentam uma maior predisposição ao desenvolvimento de complicações severas decorrentes da realização de radioterapia do que a população em geral.

➤ **Hart et al. (1987)** [307]

Um rapaz de 11 anos de idade, previamente diagnosticado com A-T, foi internado após ter sido diagnosticado com um meduloblastoma. Após este diagnóstico, a criança foi submetida a uma ressecção do tumor, tendo-lhe sido administrada radioterapia craniana pós-operatória. O doente foi exposto a uma dose total de 20 Gy na fossa craniana posterior, tendo esta dose sido muito inferior aquela que costuma ser administrada a um doente oncológico sem A-T (dose média de 55 Gy). No decorrer do tratamento, o doente verificou lesões frequentemente visualizadas na maioria dos doentes que se submetem a este tipo de terapia: queda do cabelo, eritema do escalpe e descamação da pele na área occipital. Desta forma, considerou-se que este rapaz tolerou bastante bem a radioterapia. Um mês após o término do tratamento, o doente realizou uma CT, tendo esta revelado que não existiam quaisquer vestígios do meduloblastoma. Após seis meses da conclusão da radioterapia, o doente continuava clinicamente estável.

Desta maneira, este caso clínico veio mostrar que a redução da dose total de radiação ionizante administrada a um doente com A-T verificou excelentes resultados em comparação com aqueles que costumam ser observados em indivíduos com A-T que recebem doses semelhantes às que são administradas em doentes saudáveis. Assim, para além deste estudo reforçar a ideia de que doentes com A-T são, de facto, mais radiosensíveis que a população em geral, este também demonstra que a redução da dose total de radiação administrada nestes casos pode revelar-se uma excelente solução. Inevitavelmente, é necessária a publicação de mais estudos na literatura para que se consiga entender se esta redução da dose total deverá ser especificamente implementada em casos diagnosticados com esta síndrome hereditária do cancro.

➤ **DeWire et al. (2013)** [308]

Uma rapariga de 12 anos de idade, com A-T, foi internada após ter sido diagnosticada com um tumor glioneuronal maligno do lobo parietal direito. Após este diagnóstico, a criança foi submetida a uma ressecção do tumor, tendo esta sido seguida da administração de quimioterapia e radioterapia. A doente foi exposta a uma dose total de 21 Gy que, na verdade, apresenta um valor muito inferior aquele que costuma ser administrado a um doente oncológico saudável (dose média de 60 Gy). A avaliação clínica da doente durante o período em que realizou radioterapia adjuvante revelou a inexistência de lesões severas decorrentes da sua exposição à radiação ionizante, tendo-se apenas relatado o aparecimento de lesões mínimas na pele. Contudo, quatro semanas após a radioterapia ter terminado, a doente apresentou toxicidade cutânea severa no local que fora irradiado. Após doze semanas da conclusão dessa mesma abordagem, a criança desenvolveu doença progressiva multifocal, exibindo progressão do tumor e declínio clínico, incluindo deficiência de crescimento, perda de memória de curto-prazo e fadiga. A doente acabou por falecer, tendo a sua morte ocorrido 14 meses após o diagnóstico do tumor glioneuronal.

Embora a doente tenha sucumbido à doença, o que era consistente com o curso de um glioma de elevado grau, os autores afirmam que a realização de radioterapia adjuvante recorrendo a doses inferiores às normalmente administradas foi capaz de proporcionar um controlo local seguro e prolongado do tumor. Apesar de não ter sido verificado o desenvolvimento de lesões graves a curto-prazo, não foi possível concluir nada acerca dos efeitos a longo-prazo decorrentes da exposição da criança a altas doses de radiação ionizante. Isto deveu-se ao facto do tempo de sobrevivência da doente em causa ter sido insuficiente para avaliar o desenvolvimento destas complicações. Mesmo assim, este caso clínico vem, mais uma vez, suportar a hipótese de que a radioterapia administrada a doentes com A-T é capaz de possuir mais benefícios se recorrer à administração de doses mais reduzidas que o normal.

Tabela 15 - Estudos que avaliam os efeitos adversos decorrentes da realização de radioterapia em doentes com A-T.

Características dos estudos	<i>Gotoff et al. (1967)</i> [292]	<i>Morgan et al. (1968)</i> [306]	<i>Hart et al. (1997)</i> [307]	<i>Weissberg et al. (1998)</i> [300]	<i>Rochelle et al. (2009)</i> [301]	<i>DeWire et al. (2013)</i> [308]
Nº de doentes estudados	1	1	1	13	3	1
Nº de doentes estudados que foram sujeitos a RT	1	1	1	13	2	1
Sexo	1 ♂	1 ♂	1 ♂	2 ♂ e 11 ♀	NR	1 ♀
Idade (anos)	10	9	11	NR		12
Tipo de carcinoma	Linfossarcoma	Linfoma Hodgkin	Meduloblastoma	2 Cancros da Próstata + 11 Cancros da Mama	Leucemia linfoblástica aguda dos linfócitos T	Tumor glioneuronal maligno do lobo parietal direito
Dose de RT (Gy)	30	26,52, 27,5 e 28,43 (pelas diferentes áreas do tórax)	20	40-70	D1 - 18 (cérebro) + 3 (mediastino) / D2 - 24 (cérebro) e 6 (medula óssea)	21
Efeitos colaterais	<p><u>Curto-prazo</u>: mucosite aguda na orofaringe (final da 3ª semana de RT)</p> <p><u>Longo-prazo</u>^x: eritemas cutâneos, secreções serosas no local da irradiação e pneumonia grave</p>	<p><u>Curto-prazo</u>: disfagia severa, esofagites decorrentes, tendo deixado de comer, hipopigmentação, descamação da pele</p>	<p><u>Curto-prazo</u>: queda do cabelo, eritema do escalpe e descamação da pele na área occipital</p>	<p><u>Curto-prazo</u>:</p> <p>♂ – nenhuma lesões observadas</p> <p>♀ – dermatites (3/11 leves e 8/11 intensas), leucopenia (1/11)</p> <p><u>Longo-prazo</u>^x:</p> <p>♀ - hiperpigmentação ou telangiectasia (5/11), fibrose subcutânea (4/11 leve e 2/11 moderada), dor nas costelas (2/11)</p>	<p><u>Longo-prazo</u>^x:</p> <p>- D2: leucoencefalopatia, convulsões, deficiência dos níveis da hormona do crescimento, puberdade precoce, hipotiróidismo, perda auditiva e também escoliose</p> <p>- Ambos desenvolveram PNET supratentoriais</p>	<p><u>Curto-prazo</u>: lesões cutâneas mínimas (durante RT), toxicidade cutânea severa (4 semanas após RT), progressão do tumor (12 semanas após RT)</p>

Tempo entre a RT e a morte do doente	9 meses	4 meses	---	---	D1 – NR D2 – 4 anos	12 meses
Conclusões da autópsia	<p><u>Causa da morte:</u> broncopneumonia num estágio bastante avançado</p> <p><u>Lesões observadas:</u> dermatite severa, ulcerações graves na área da hipofaringe e base da língua, níveis de linfócitos baixos e corpúsculos de Hassall ausentes</p>	<p><u>Causa da morte:</u> pneumonia crónica, broncopneumonia aguda e bronquiectasia</p> <p><u>Lesões observadas:</u> dermatite ulcerosa na área irradiada e alterações degenerativas das células de Purkinje</p>	---	---	---	---

RT – radioterapia NR - não reportado PNET – tumor neuroectodérmico primitivo D – doente * – período superior a 6 meses

4. Conclusões e Perspetivas Futuras

A análise retrospectiva sobre os efeitos da radiação ionizante em indivíduos diagnosticados com HBOC, LFS, FA e A-T permitiu concluir que, de um modo geral, todos estes indivíduos parecem apresentar uma hipersensibilidade à radiação ionizante, decorrente da realização de exames imagiológicos de diagnóstico ou de radioterapia, em comparação com a população em geral. Os resultados desta análise mostraram que a maioria destes doentes apresentou lesões a curto e a longo-prazo mais severas do que aquelas normalmente relatadas para a população em geral, destacando-se o desenvolvimento de uma segunda neoplasia na área irradiada de muitos indivíduos. Apesar destas constatações, a literatura existente até à data sobre os efeitos da radiação ionizante em indivíduos diagnosticados com qualquer uma das síndromes hereditárias do cancro não é estatisticamente significativa para suportar a hipótese de que estes indivíduos são mais suscetíveis aos efeitos da radiação ionizante e, conseqüentemente, apresentam um risco acrescido de desenvolver lesões decorrentes da exposição à radiação ionizante. Assim, apesar de esta dissertação apoiar esta hipótese, e de apresentar vários estudos que suportam esta teoria, é urgente que se realizem mais estudos que validem estas hipóteses. Só assim será possível a implementação de alterações nas diretrizes que se encontram atualmente definidas para indivíduos diagnosticados com HBOC, LFS, FA ou A-T.

HBOC

Tendo por base os resultados expostos na Tabela 5, que resume os riscos relativos associados ao desenvolvimento de cancro da mama em portadores de mutações nos genes *BRCA1/2* que realizaram exames imagiológicos de diagnóstico e de vigilância, podemos concluir que, à exceção dos resultados obtidos no estudo de *Goldfrank et al.*, os resultados revelaram que esse risco é significativamente superior para estes indivíduos do que o estabelecido para a população em geral. De acordo com os estudos aqui apresentados, o risco mais elevado apresenta um valor de HR de 1,65, tal como exposto por *Pjipe et al.*, enquanto que o risco mais baixo, verificado no estudo conduzido por *Narod et al.*, apresenta um valor de OR de 1,03. Analisando a Tabela 3 mais pormenorizadamente, é possível entender que existem uma série de fatores que influenciam o aumento do valor estimado para esse risco geral, tais como a idade, o número de exames de diagnóstico a que já se submeteram e a presença do gene *BRCA1* ou *BRCA2* mutado. De facto, quanto menor for a idade do doente e quanto maior for o número de exames imagiológicos de diagnóstico realizados, maior é o risco de desenvolverem cancro da mama primário. De uma maneira geral, o risco relativo associado ao desenvolvimento de cancro da mama devido à exposição à radiação ionizante apresenta um valor estatisticamente significativo para portadores que possuam uma idade inferior a 30 anos e que já tenham realizado mais do que 4-5 exames imagiológicos que envolvam o uso de radiação-X, nomeadamente mamografias e radiografias torácicas. Segundo o estudo de *Gonzalez et al.*, mutações no gene *BRCA1* induzem um aumento nesse risco relativo quando comparadas com o valor do risco que é estimado quando são identificadas mutações no gene *BRCA2*, enquanto que de acordo com o estudo de *John et al.*, se verifica exatamente o contrário.

Relativamente aos resultados expostos na Tabela 6, que demonstra quais os diferentes valores estimados para o risco relativo associado ao desenvolvimento de cancro da mama contralateral decorrente da realização de radioterapia adjuvante por portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2*, é possível concluir que, dos três estudos analisados, somente dois apresentaram resultados que apoiam a hipótese de que estas portadoras, nestas condições, apresentam uma maior radiosensibilidade do que indivíduos sem mutações nos genes *BRCA1/2*. O risco relativo geral estimado para o desenvolvimento de cancro da mama

contralateral nestas doentes, no estudo conduzido por *Metcalfe et al.*, foi 1,1 vezes superior ao risco relativo associado à população em geral, enquanto que, no estudo conduzido por *Bernstein et al.*, esse valor foi significativamente mais elevado, tendo-se apresentado 1,4 vezes superior ao risco “padrão”. Por outro lado, no estudo de *Metcalfe et al.*, constatou-se que a idade das portadoras aquando do diagnóstico de cancro da mama primário aparentava estar relacionado com o valor do risco relativo de desenvolvimento de cancro da mama contralateral. De facto, para idades inferiores a 50 anos, esse risco era superior ao risco verificado para idades superiores a 50 anos (1,1 vs. 0,57, respetivamente). Apesar do valor do risco relativo geral estimado por *Pierce et al.* não ter demonstrado que estas portadoras possuíam uma predisposição superior para desenvolverem cancro da mama contralateral em comparação com outras mulheres com cancro da mama, mas sem mutações nos genes *BRCA1/2*, os riscos relativos calculados após 10 e 15 anos da realização da radioterapia adjuvante permitem inferir outras conclusões mais específicas. Para um período de latência de 10 anos entre a realização de radioterapia e o desenvolvimento de cancro da mama contralateral, o valor deste risco foi estimado como 1,29 vezes superior ao normal. Já para um período de latência de 15 anos, o risco relativo demonstrou ser 1,15 vezes superior para estas portadoras.

Assim, seria de esperar que, hoje em dia, já existissem diretrizes específicas e perfeitamente definidas para portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*. Infelizmente, apesar de se acreditar cada vez mais que estes indivíduos apresentam, efetivamente, maior radiosensibilidade do que a população geral, não existem evidências concretas e suficientes para que se ajustem as diretrizes atuais. Apesar de existirem vários estudos que mostram que é fulcral que essas mesmas alterações sejam efetuadas, também existe um vasto número de estudos que não foram capazes de demonstrar a existência de uma relação entre a exposição à radiação ionizante e o aumento de risco de desenvolvimento de cancro em portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*. Posto isto, é extremamente urgente a realização de mais estudos específicos para que, assim, se consigam obter conclusões claras e objetivas acerca deste assunto.

LFS

Segundo os dados expostos na Tabela 7, que relata os resultados obtidos a partir da análise de 7 estudos que avaliam o risco de desenvolvimento de neoplasias induzidas pela radiação ionizante após realização de radioterapia em doentes com LFS, conclui-se que foram identificados 22 CIRs. Analisando o tipo de CIRs, foi possível verificar que os tipos de tumores mais frequentemente observados nestes indivíduos foram sarcomas, representando cerca de 77% desses mesmos CIRs (17/22). Existem inúmeros subtipos de sarcomas, sendo estes usualmente divididos em 2 grandes categorias: sarcomas dos tecidos moles e sarcomas ósseos. Tendo em conta todos os estudos apresentados na Tabela 5, verifica-se que aproximadamente 71% desses sarcomas se referem a sarcomas dos tecidos moles. Visto que este tipo de sarcomas são o tipo mais frequentemente diagnosticado em doentes oncológicos que se tenham submetido a tratamentos radioterapêuticos adjuvantes, esta percentagem demonstra que os resultados desta análise estão de acordo com estes mesmo resultados [217]. Por outro lado, tumores ósseos, tais como os osteossarcomas e os condrossarcomas, representam a minoria do número total de sarcomas diagnosticado (cerca de 24%). Outra conclusão importante é relativa ao período de latência entre a realização de radioterapia adjuvante e o desenvolvimento de CIRs. É sabido que, para a população em geral, este período varia entre 9 e 15 anos [204]. Contudo, para indivíduos que tenham sido diagnosticados com LFS, afirma-se que é normal que

o valor destes períodos de latência sejam mais reduzidos que o habitual [207]. Dos 15 períodos de latência definidos na Tabela 5, apenas 5 deles possuem valores inferiores a 9 anos. Na verdade, em nenhum dos casos se verificou que o desenvolvimento de uma segunda neoplasia surgiu logo nos anos seguintes ao término da radioterapia, sendo que se desenvolveram, em média, 11,1 anos após a realização dessas abordagens terapêuticas. De facto, dos 7 estudos relatados na Tabela 5, apenas o estudo de *Nandikola et al.* não comprovou a teoria de que doentes com LFS apresentam uma maior sensibilidade à radiação ionizante do que indivíduos saudáveis.

Relativamente aos resultados relatados na Tabela 8, que descreve seis casos clínicos que relataram, ao longo dos anos, o desenvolvimento de segundas neoplasias induzidas pela radiação ionizante após a realização de radioterapia em doentes com LFS, concluiu-se que foram identificados sete CIRs. Destas neoplasias, 71,4% referem-se a sarcomas (5/7 CIRs), principalmente angiossarcomas. O período de latência médio entre a realização da radioterapia e o aparecimento de CIRs foi de 5,96 anos.

Posto isto, apesar de não existirem, atualmente, evidências estatisticamente significativas que consigam afirmar que existe uma relação significativa entre a exposição destes doentes à radiação ionizante e o desenvolvimento de tumores associados aos tratamentos que têm por base o seu uso, tem sido cada vez mais apoiado pela comunidade médica que os tratamentos radioterapêuticos devem ser evitados em indivíduos diagnosticados com LFS. Desta forma, como alternativa, surge o aconselhamento da realização de abordagens cirúrgicas, tal como é o caso das mastectomias profiláticas, conseguindo-se assim reduzir os riscos de desenvolvimento de uma neoplasia secundária decorrente da exposição destes doentes à radiação ionizante. No entanto, apesar destas conclusões preliminares, muitos profissionais de saúde afirmam que a eficácia deste tipo de tratamentos, em doentes diagnosticados com LFS, deve ser priorizada acima das preocupações relativas ao risco de malignidades subsequentes [159].

FA

Considerando os resultados expostos na Tabela 12, que resume os resultados obtidos em 8 estudos que avaliaram os efeitos adversos da radiação ionizante após a realização de radioterapia em doentes com FA e que foram diagnosticados com HNSCC, verificou-se que estes doentes apresentaram uma toxicidade exacerbada durante e após a radioterapia. Como sintomatologia de curto-prazo mais frequente destaca-se o desenvolvimento de mucosites e de disfagias severas. Enquanto que as mucosites foram observadas em 17/36 doentes que foram abrangidos nesta análise (47%), o desenvolvimento de disfagia verificou-se em 11 desses doentes (31%). Outros sintomas de curto-prazo também relatados com alguma frequência incluem o desenvolvimento de pancitopenias (7/36 doentes), o surgimento de lesões cutâneas (3/36 doentes) e o desenvolvimento de trombocitopenias (3/36 doentes). Com uma incidência pontual, verificaram-se anemias, hemorragias locais, odinofagia e febre. Por outro lado, a sintomatologia de longo-prazo incluiu alguns casos de estenose (1 estenose traqueal e 1 estenose esofágica), 1 pneumonia grave, 1 caso de fibrose cutânea moderada e hipopigmentação da pele, 1 caso de desidratação severa, febres, a recidiva de alguns dos HNSCC inicialmente diagnosticados e, por último, o desenvolvimento de 10 novas segundas neoplasias primárias. De facto, segundo o estudo conduzido por *Kutler et al.*, após um período de seguimento médio de 25,8 meses e de uma administração de uma dose média total de 51,8 Gy, foram diagnosticadas 7 neoplasias primárias em 4/6 indivíduos que realizaram radioterapia

adjuvante: 2 leucemias mieloblásticas agudas, 2 casos de síndrome mielodisplásica, 1 tumor mamário, 1 carcinoma espinocelular do ânus e 1 carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço. Da mesma maneira, *Bremer et al.* observaram que após a administração de 67 Gy a 1 dos doentes com FA considerado nesse estudo, se desenvolveram 2 novos carcinomas: 1 espinocelular do ânus e 1 espinocelular da cabeça e pescoço. Já no caso clínico relatado por *Budrukkar*, 3 meses após o doente oncológico com FA ter sido exposto a uma dose total de 70 Gy, foi diagnosticado um carcinoma espinocelular da língua. De uma forma geral, verificou-se que a maioria dos indivíduos considerados nestes 8 estudos faleceram (29/36 doentes). Apenas alguns deles faleceram durante a realização do tratamento radioterapêutico (5/29 doentes), tendo a grande percentagem destes indivíduos falecido alguns meses após a realização de radioterapia adjuvante (24/29 doentes).

Assim, todas as evidências presentes na Tabela 12 reforçam a teoria de que existe uma relação evidente entre o diagnóstico de FA e o surgimento de efeitos adversos agressivos decorrentes da realização de radioterapia adjuvante. Estes dados, apesar de não serem estatisticamente significativos, relatam que indivíduos diagnosticados com esta patologia apresentam hipersensibilidade à radiação ionizante, que, por sua vez, se traduz no surgimento de complicações graves que, na maioria dos casos, conduz à morte. Adicionalmente, a maioria dos efeitos relatados nestes estudos são efeitos a curto-prazo. De forma a que se consiga demonstrar o verdadeiro efeito da exposição destes indivíduos a altas doses de radiação ionizante é necessário que os doentes sejam seguidos e estudados durante mais tempo do que aquele que foi verificado na maioria dos estudos analisados. Assim, é urgente que sejam realizados mais estudos e reunidos mais dados acerca do grau de toxicidade verificado em doentes com FA que tenham sido submetidos a radioterapia. Só assim se conseguirá entender quais os ajustes que se terão que fazer às doses totais de radiação ionizante administradas a estes doentes, o que, por sua vez, irá proporcionar-lhes um melhor tratamento e uma minimização dos efeitos adversos.

A-T

Segundo os dados expostos na Tabela 15, que relata seis estudos que se dedicaram à avaliação dos efeitos colaterais decorrentes da realização de radioterapia por doentes com A-T diagnosticados com um determinado tipo de cancro, constatou-se que estes indivíduos demonstraram uma toxicidade excessiva durante e após a radioterapia. Foram observados inúmeros efeitos adversos, maioritariamente a curto-prazo. Os efeitos a curto-prazo mais frequentemente relatados foram dermatites e descamações cutâneas (15/19 doentes totais). Adicionalmente, também se observou o desenvolvimento de mucosite aguda (1/19), disfagia severa (1/19), esofagites recorrentes (1/19), hipopigmentação da pele (1/19), queda do cabelo (1/19) e leucopenia (1/19). Por outro lado, visto que o tempo de seguimento médio dos doentes envolvidos em cada um dos estudos foi inferior a 12 meses (à exceção do estudo de *Rochelle et al.*), não foi possível observar o desenvolvimento de muitos efeitos colaterais de longo-prazo. Mesmo assim, verifica-se que aqueles que foram reportados para os 19 doentes considerados nestes 6 estudos variaram bastante. Como efeitos de longo-prazo foi relatado o desenvolvimento de fibrose subcutânea (6/11), de telangiectasia ou de hiperpigmentação (5/19), dor nas costelas (2/19), eritemas cutâneos (1/19), secreções serosas nos locais irradiados (1/19), desenvolvimento de pneumonia grave (1/19), leucoencefalopatia (1/19), convulsões (1/19), decréscimo das concentrações da hormona do crescimento (1/19), puberdade precoce (1/19), hipertiróidismo (1/19), hipoacusia bilateral (1/19), escoliose (1/19), progressão de um

dos tumores primários (tumor glioneuronal maligno do lobo parietal direito) e, por último, o desenvolvimento de 2 carcinomas neuroectodérmicos primitivos supratentoriais. Estes últimos foram relatados em ambos os doentes incluídos no estudo de *Rochelle et al.* Como supramencionado, estes tipos de tumores foram, muito provavelmente, induzidos pela exposição destes doentes à radiação ionizante, visto que este tipo específico de carcinomas nunca foi relatado em indivíduos diagnosticados com A-T.

Na mesma tabela, verifica-se que existem relatos adicionais de lesões decorrentes da administração de elevadas doses características da radioterapia que, por sua vez, só puderam ser observadas no momento da autópsia dos doentes com A-T que faleceram na sequência destes tratamentos (um total de 3 doentes). Para além da confirmação da existência de dermatites severas e ulcerosas na área que foi irradiada, também se verificou que o doente diagnosticado com linfossarcoma apresentava linfopenia e que os seus corpúsculos de Hassal estavam ausentes. Por outro lado, a autópsia do doente incluído no ensaio clínico conduzido por *Morgan et al.*, que apresentava um linfoma Hodgkin, permitiu concluir que este indivíduo apresentou dermatite ulcerosa no local da irradiação, tal como alterações degenerativas bastante significativas nas células de Purkinje.

Desta forma, todos os efeitos colaterais decorrentes da realização de radioterapia relatados na Tabela 15 reforçam a teoria de que doentes diagnosticados com A-T apresentam uma hipersensibilidade à radiação ionizante, visto que desenvolveram lesões graves, seja a curto ou a longo-prazo. Assim, é necessário que sejam realizados mais estudos e reunidos mais dados acerca do grau de toxicidade verificado em doentes com A-T, visto que os estudos e ensaios clínicos que se encontram publicados na literatura, até ao momento, são considerados estatisticamente insuficientes para que se consigam desenvolver e implementar planos de tratamento radioterapêuticos específicos para doentes que possuam esta síndrome hereditária.

5. Referências Bibliográficas

- [1] J. A. Reisz, N. Bansal, J. Qian, W. Zhao, and C. M. Furdui, "Effects of ionizing radiation on biological molecules - mechanisms of damage and emerging methods of detection," *Antioxidants Redox Signal.*, vol. 21, no. 2, pp. 260–292, 2014.
- [2] M. F. Botelho, "Radiações e Electricidade," *Fisiopatol. - Fundam. e Apl.*, pp. 79–102, 2007.
- [3] H. Wang, X. Mu, H. He, and X. D. Zhang, "Cancer Radiosensitizers," *Trends Pharmacol. Sci.*, vol. 39, no. 1, pp. 24–48, 2018.
- [4] United Nations Environment Programme, *United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation - Radiation Effects and Sources*. 2016.
- [5] "radioisotopes-in-medicine @ www.world-nuclear.org." .
- [6] K. Metcalfe *et al.*, "Predictors of contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers," *Br. J. Cancer*, vol. 104, no. 9, pp. 1384–1392, 2011.
- [7] P. Teles, "Avaliação da Exposição da POpulação Portuguesa e Radiações Ionizantes devido a Exames M´édicos de Radiodiagnóstico e Medicina Nucelar," p. 7, 2012.
- [8] N. Miranda, P. Alves, Â. Oliveira, M. Roldão, and A. Matias, "Segunda Revisão: Rede Nacional de Especialidade Hospitalar e de Referência de Radioterapia," pp. 1–74, 2014.
- [9] M. L. Yap, E. Zubizarreta, F. Bray, J. Ferlay, and M. Barton, "Global Access to Radiotherapy Services: Have We Made Progress During the Past Decade?," *J. Glob. Oncol.*, vol. 2, no. 4, pp. 207–215, 2016.
- [10] W. L. Santivasi and F. Xia, "Ionizing radiation-induced DNA damage, response, and repair," *Antioxidants Redox Signal.*, vol. 21, no. 2, pp. 251–259, 2014.
- [11] Nimrat Chatterjee* and Graham C., "Mechanisms of DNA damage, repair and mutagenesis Nimrat," *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 5, pp. 139–148, 2017.
- [12] M. B. Kastan and J. Bartek, "Cell-cycle checkpoints and cancer," *Nature*, vol. 432, no. 7015, pp. 316–323, 2004.
- [13] R. Scully, A. Panday, R. Elango, and N. A. Willis, "DNA double-strand break repair-pathway choice in somatic mammalian cells," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 20, no. 11, pp. 698–714, 2019.
- [14] G. Pistritto, D. Trisciuglio, C. Ceci, Alessia Garufi, and G. D’Orazi, "Apoptosis as anticancer mechanism: Function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies," *Aging (Albany. NY).*, vol. 8, no. 4, pp. 603–619, 2016.
- [15] K. Kiwerska and K. Szyfter, "DNA repair in cancer initiation, progression, and therapy—a double-edged sword," *J. Appl. Genet.*, vol. 60, no. 3–4, pp. 329–334, 2019.

- [16] A. D. Patterson, F. J. Gonzalez, G. H. Perdew, and J. M. Peters, "Molecular Regulation of Carcinogenesis: Friend and Foe," *Toxicol. Sci.*, vol. 165, no. 2, pp. 277–283, 2018.
- [17] M. J. O'Connor, "Targeting the DNA Damage Response in Cancer," *Mol. Cell*, vol. 60, no. 4, pp. 547–560, 2015.
- [18] P. A. Jeggo, L. H. Pearl, and A. M. Carr, "DNA repair, genome stability and cancer: A historical perspective," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 16, no. 1, pp. 35–42, 2016.
- [19] ACOG, "Clinical Management Guidelines for Obstetrician – Gynecologists," *Obstet. Gynecol.*, vol. 133, no. 76, pp. 168–186, 2017.
- [20] H. Hampel, R. L. Bennett, A. Buchanan, R. Pearlman, and G. L. Wiesner, "A practice guideline from the American College of Medical Genetics and Genomics and the National Society of Genetic Counselors: Referral indications for cancer predisposition assessment," *Genet. Med.*, vol. 17, no. 1, pp. 70–87, 2015.
- [21] F. C. Nielsen, T. Van Overeem Hansen, and C. S. Sørensen, "Hereditary breast and ovarian cancer: New genes in confined pathways," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 16, no. 9, pp. 599–612, 2016.
- [22] E. Jarhelle *et al.*, "Identifying sequence variants contributing to hereditary breast and ovarian cancer in BRCA1 and BRCA2 negative breast and ovarian cancer patients," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–12, 2019.
- [23] P. Broca, *Traité des tumeurs*. 1866.
- [24] A. G. Knudson, "Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma," vol. 68, no. 4, pp. 820–823, 1971.
- [25] Y. Miki *et al.*, "A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1," *Science (80-.)*, vol. 266, no. 5182, pp. 66–71, 1994.
- [26] S. G. Richard Wooster, Graham Bignell, Jpnathan Lancaster, Sally Swift, Sheila Seal, Jonathan Mangion, Nadine Collins, "Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2," *Nature*, vol. 378, pp. 703–706, 1995.
- [27] S. Gregg, F. Scala, and G. Laurelli, "Hereditary breast and ovarian cancer," *Curr. Probl. Cancer*, vol. 27, no. 1, pp. 24–28, 2003.
- [28] N. J. Samadder, K. V. Giridhar, N. Baffy, D. Riegert-Johnson, and F. J. Couch, "Hereditary Cancer Syndromes—A Primer on Diagnosis and Management: Part 1: Breast-Ovarian Cancer Syndromes," *Mayo Clin. Proc.*, vol. 94, no. 6, pp. 1084–1098, 2019.
- [29] A. Peixoto *et al.*, "International distribution and age estimation of the Portuguese BRCA2 c.156-157insAlu founder mutation," *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 127, no. 3, pp. 671–679, 2010.
- [30] R. Roy, J. Chun, and S. N. Powell, "BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection," *Nat Rev Cancer*, vol. 12, no. 1, pp. 68–78, 2016.

- [31] Weizmann Institute of Science, "Carddisp @ Www.Genecards.Org." 2016.
- [32] National Institutes of Health, "BRCA1 gene," *U.S. Natl. Libr. Med.*, pp. 1–5, 2015.
- [33] J. C. Michael S.Y. Huen, Shirley M.H. Sy, "BRCA1 and its toolbox for the maintenance of genome integrity," *Nat Rev Mol Cell Biol.*, vol. 11, no. 2, pp. 138–148, 2010.
- [34] J. Li, C. Zou, Y. Bai, D. E. Wazer, V. Band, and Q. Gao, "DSS1 is required for the stability of BRCA2," *Oncogene*, vol. 25, no. 8, pp. 1186–1194, 2006.
- [35] A. R. Venkitaraman, "Linking the cellular functions of BRCA genes to cancer pathogenesis and treatment," *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, vol. 4, pp. 461–487, 2009.
- [36] T. C. Nepomuceno, G. De Gregoriis, F. M. B. de Oliveira, G. Suarez-Kurtz, A. N. Monteiro, and M. A. Carvalho, "The role of PALB2 in the DNA damage response and cancer predisposition," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 9, pp. 1–20, 2017.
- [37] M. Ducey *et al.*, "The Tumor Suppressor PALB2: Inside Out," *Trends Biochem. Sci.*, vol. 44, no. 3, pp. 226–240, 2019.
- [38] H. Hanenberg and P. R. Andreassen, "PALB2 (partner and localizer of BRCA2)," *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.*, vol. 22, no. 12, pp. 484–490, 2018.
- [39] "RAD51C @ ghr.nlm.nih.gov." .
- [40] J. Y. Masson *et al.*, "Identification and purification of two distinct complexes containing the five RAD51 paralogs," *Genes Dev.*, vol. 15, no. 24, pp. 3296–3307, 2001.
- [41] A. Meindl *et al.*, "Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene," *Nat. Genet.*, vol. 42, no. 5, pp. 410–414, 2010.
- [42] F. Vaz *et al.*, "Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder," *Nat. Genet.*, vol. 42, no. 5, pp. 406–409, 2010.
- [43] C. Loveday *et al.*, "Europe PMC Funders Group Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer," *Nat. Genet.*, vol. 43, no. 9, pp. 879–882, 2016.
- [44] E. R. Thompson *et al.*, "Analysis of RAD51D in Ovarian Cancer Patients and Families with a History of Ovarian or Breast Cancer," *PLoS One*, vol. 8, no. 1, 2013.
- [45] H. Kobayashi, S. Ohno, Y. Sasaki, and M. Matsuura, "Hereditary breast and ovarian cancer susceptibility genes (Review)," *Oncol. Rep.*, vol. 30, no. 3, pp. 1019–1029, 2013.
- [46] V. S. Nils Rahner, "Hereditary Cancer Syndromes," *Dtsch. Arztebl. Int.*, vol. 105, no. 41, pp. 706–714, 2008.
- [47] H. Yamauchi and J. Takei, "Management of hereditary breast and ovarian cancer," *Int. J. Clin. Oncol.*, vol. 23, no. 1, pp. 45–51, 2018.

- [48] "hereditary-breast-and-ovarian-cancer-syndrome-factsheet @ www.jax.org." .
- [49] S. Greenberg *et al.*, "Population prevalence of individuals meeting criteria for hereditary breast and ovarian cancer testing," *Cancer Med.*, vol. 8, no. 15, pp. 6789–6798, 2019.
- [50] N. Petrucelli, M. B. Daly, and T. Pal, "BRCA1- and BRCA2 -Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer Summary," *GeneReviews, Univ. Washington, Seattle*, pp. 1–37, 2016.
- [51] N. Mavaddat *et al.*, "Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: Results from prospective analysis of EMBRACE," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 105, no. 11, pp. 812–822, 2013.
- [52] K. B. Kuchenbaecker *et al.*, "Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers," *JAMA - J. Am. Med. Assoc.*, vol. 317, no. 23, pp. 2402–2416, 2017.
- [53] J. Cancer Registry *et al.*, "Triple Negative Breast Cancer – An Overview NIH Public Access," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 98, no. 19, pp. 10869–74, 2013.
- [54] A. C. Antoniou *et al.*, "Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2," *N. Engl. J. Med.*, vol. 371, no. 6, pp. 497–506, 2014.
- [55] Y. C. Tai, S. Domchek, G. Parmigiani, and S. Chen, "Breast cancer risk among male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 99, no. 23, pp. 1811–1814, 2007.
- [56] D. G. R. Evans, I. Susnerwala, J. Dawson, E. Woodward, E. R. Maher, and F. Laloo, "Risk of breast cancer in male BRCA2 carriers," *J. Med. Genet.*, vol. 47, no. 10, pp. 710–711, 2010.
- [57] D. J. Osher *et al.*, "Mutation analysis of RAD51D in non-BRCA1/2 ovarian and breast cancer families," *Br. J. Cancer*, vol. 106, no. 8, pp. 1460–1463, 2012.
- [58] J. Kotsopoulos *et al.*, "Frequency of germline PALB2 mutations among women with epithelial ovarian cancer," *Fam. Cancer*, vol. 16, no. 1, pp. 29–34, 2017.
- [59] M. C. Southey *et al.*, "PALB2, CHEK2 and ATM rare variants and cancer risk: Data from COGS," *J. Med. Genet.*, vol. 53, no. 12, pp. 800–811, 2016.
- [60] D. Leongamornlert *et al.*, "Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk," *Br. J. Cancer*, vol. 106, no. 10, pp. 1697–1701, 2012.
- [61] Z. Kote-Jarai *et al.*, "BRCA2 is a moderate penetrance gene contributing to young-onset prostate cancer: Implications for genetic testing in prostate cancer patients," *Br. J. Cancer*, vol. 105, no. 8, pp. 1230–1234, 2011.
- [62] H. A. Risch *et al.*, "Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: A kin-cohort study in Ontario, Canada," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 98, no.

23, pp. 1694–1706, 2006.

- [63] J. Iqbal *et al.*, “The incidence of pancreatic cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers,” *Br. J. Cancer*, vol. 107, no. 12, pp. 2005–2009, 2012.
- [64] D. B. Zhen *et al.*, “BRCA1, BRCA2, PALB2, and CDKN2A Mutations in Familial Pancreatic Cancer (FPC): A PACGENE Study HHS Public Access Author manuscript,” *Genet Med*, vol. 17, no. 7, pp. 569–577, 2015.
- [65] S. Jones *et al.*, “Exomic Sequencing Identifies PALB2 as a Pancreatic Cancer Susceptibility Gene,” vol. 324, no. 5924, pp. 2009–2011, 2010.
- [66] A. Moran *et al.*, “Risk of cancer other than breast or ovarian in individuals with BRCA1 and BRCA2 mutations,” *Fam. Cancer*, vol. 11, no. 2, pp. 235–242, 2012.
- [67] D. Thompson and D. F. Easton, “Cancer Incidence in BRCA1 Mutation Carriers,” *Obstet. Gynecol. Surv.*, vol. 58, no. 1, pp. 27–28, 2003.
- [68] M. E. Beiner *et al.*, “The risk of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations. A prospective study,” *Gynecol. Oncol.*, vol. 104, no. 1, pp. 7–10, 2007.
- [69] C. J. Van Asperen *et al.*, “Cancer risks in BRCA2 families: Estimates for sites other than breast and ovary,” *J. Med. Genet.*, vol. 42, no. 9, pp. 711–719, 2005.
- [70] L. Castéra *et al.*, “Landscape of pathogenic variations in a panel of 34 genes and cancer risk estimation from 5131 HBOC families,” *Genet. Med.*, vol. 20, no. 12, pp. 1677–1686, 2018.
- [71] “028c8ef8685684301fb6421b15f586e09123d4f1 @ www.germanodesousa.com.” .
- [72] R. M. Pfeiffer *et al.*, “Risk Prediction for Breast, Endometrial, and Ovarian Cancer in White Women Aged 50 y or Older: Derivation and Validation from Population-Based Cohort Studies,” *PLoS Med.*, vol. 10, no. 7, 2013.
- [73] B. A. Rosner, G. A. Colditz, P. M. Webb, and S. E. Hankinson, “Mathematical models of ovarian cancer incidence,” *Epidemiology*, vol. 16, no. 4, pp. 508–515, 2005.
- [74] D. G. R. Evans and A. Howell, “Breast cancer risk-assessment models,” *Breast Cancer Res.*, vol. 9, no. 5, pp. 1–8, 2007.
- [75] E. Mazzola, A. Blackford, G. Parmigiani, and S. Biswas, “Recent enhancements to the genetic risk prediction model BRCAPRO,” *Cancer Inform.*, vol. 14, pp. 147–157, 2015.
- [76] A. Lee *et al.*, “BOADICEA: a comprehensive breast cancer risk prediction model incorporating genetic and nongenetic risk factors,” *Genet. Med.*, vol. 21, no. 8, pp. 1708–1718, 2019.
- [77] A. L. Siu, “Screening for breast cancer: U.S. Preventive services task force recommendation statement,” *Ann. Intern. Med.*, vol. 164, no. 4, pp. 279–296, 2016.

- [78] F. Cardoso *et al.*, “Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up,” *Ann. Oncol.*, vol. 30, no. 8, pp. 1194–1220, 2019.
- [79] K. C. Oeffinger *et al.*, “Guideline Update from the American Cancer Society,” *Jama*, vol. 314, no. 15, pp. 1599–1614, 2015.
- [80] S. Klarenbach *et al.*, “Recommendations on screening for breast cancer in women aged 40-74 years who are not at increased risk for breast cancer,” *Cmaj*, vol. 190, no. 49, pp. E1441–E1451, 2018.
- [81] T. F. De Curso, “O papel do Exame Clínico da Mama como método de rastreio de Cancro da Mama.”
- [82] M. C. King *et al.*, “Tamoxifen and Breast Cancer Incidence,” *Jama-Journal Am. Med. Assoc.*, vol. 286, no. 18, pp. 2251–2256, 2001.
- [83] H. D. Nelson, M. E. B. Smith, J. C. Griffin, and R. Fu, “Use of medications to reduce risk for primary breast cancer: A systematic review for the U.S. preventive services task force,” *Ann. Intern. Med.*, vol. 158, no. 8, pp. 604–614, 2013.
- [84] Lynn C. Hartmann , Daniel J. Schaid , John E. Woods , Thomas P. Crotty , Jeffrey L. Myers, P.G. Arnold , Paul M. Petty , Thomas A. Sellers , Joanne L. Johnson , Shannon K., “With a Family History of Breast Cancer,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 340, pp. 77–84, 1999.
- [85] H. Meijers-Heijboer *et al.*, “Breast cancer after prophylactic bilateral mastectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 345, no. 3, pp. 159–164, 2001.
- [86] S. M. Domchek, “Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality,” *Breast Dis.*, vol. 22, no. 3, pp. 288–289, 2010.
- [87] A. B. Skytte *et al.*, “Breast cancer after bilateral risk-reducing mastectomy,” *Clin. Genet.*, vol. 79, no. 5, pp. 431–437, 2011.
- [88] L. C. Hartmann and N. M. Lindor, “The role of risk-reducing surgery in hereditary breast and ovarian cancer,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 374, no. 5, pp. 454–468, 2016.
- [89] B. A. M. Heemskerk-Gerritsen *et al.*, “Improved overall survival after contralateral risk-reducing mastectomy in brca1/2 mutation carriers with a history of unilateral breast cancer: A prospective analysis,” *Int. J. Cancer*, vol. 136, no. 3, pp. 668–677, 2015.
- [90] T. M. Friebel, S. M. Domchek, and T. R. Rebbeck, “Modifiers of cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: Systematic review and meta-analysis,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 106, no. 6, 2014.
- [91] P. G. Moorman *et al.*, “Oral contraceptives and risk of ovarian cancer and breast cancer among high-risk women: A systematic review and meta-analysis,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 31, no. 33, pp. 4188–4198, 2013.
- [92] K. Metcalfe *et al.*, “Effect of oophorectomy on survival after breast cancer in BRCA1 and

- BRCA2 mutation carriers," *JAMA Oncol.*, vol. 1, no. 3, pp. 306–313, 2015.
- [93] "<https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-oncologicas/tipos-de-tratamento-do-cancro/quimioterapia/>."
- [94] C. Chabali er, C. Lamare, C. Racca, M. Privat, A. Valette, and F. Larminat, "BRCA1 downregulation leads to premature inactivation of spindle checkpoint and confers paclitaxel resistance," *Cell Cycle*, vol. 5, no. 9, pp. 1001–1007, 2006.
- [95] J. Maksimenko *et al.*, "Prognostic role of BRCA1 mutation in patients with triple-negative breast cancer," *Oncol. Lett.*, vol. 7, no. 1, pp. 278–284, 2014.
- [96] A. Tutt *et al.*, "Europe PMC Funders Group Europe PMC Funders Author Manuscripts Europe PMC Funders Author Manuscripts A randomised phase III trial of carboplatin compared with docetaxel in BRCA1 / 2 mutated and pre-specified triple negative breast cancer ' BRCAness ' subg," vol. 24, no. 5, pp. 628–637, 2018.
- [97] F. Cardoso *et al.*, "ESMO Clinical Practice Guidelines Slideset - Advanced Breast Cancer," *Esmo*, 2018.
- [98] A. Katherine Clifton, Angelica Gutierrez-Barrera, Junsheng Ma, Roland Bassett Jr., Jennifer Litton, Henry Kuerer, Stacy Moulder, Constance Albarracin, Gabriel Hortobagyi, "Adjuvant versus neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients with BRCA mutations," *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 12, pp. 139–148, 2018.
- [99] "<https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-oncologicas/tipos-de-tratamento-do-cancro/radioterapia/>."
- [100] J. A. Bradley and N. P. Mendenhall, "Novel Radiotherapy Techniques for Breast Cancer," *Annu. Rev. Med.*, vol. 69, no. 1, pp. 277–288, 2018.
- [101] S. A. Castaneda and J. Strasser, "Updates in the Treatment of Breast Cancer with Radiotherapy," *Surg. Oncol. Clin. N. Am.*, vol. 26, no. 3, pp. 371–382, 2017.
- [102] M. Falco, B. Masoj c, M. Milchert-Leszczynska, and A. Kram, "Frequency of whole breast irradiation (WBRT) after intraoperative radiotherapy (IORT) is strongly influenced by institutional protocol qualification criteria," *Reports Pract. Oncol. Radiother.*, vol. 23, no. 1, pp. 34–38, 2018.
- [103] Y. Sheng *et al.*, "Automatic planning of whole breast radiation therapy using machine learning models," *Front. Oncol.*, vol. 9, no. AUG, pp. 1–8, 2019.
- [104] A. W. Tann, S. S. Hatch, M. M. Joyner, L. R. Wiederhold, and T. A. Swanson, "Accelerated partial breast irradiation: Past, present, and future," *World J. Clin. Oncol.*, vol. 7, no. 5, pp. 370–379, 2016.
- [105] A. Pilar, M. Gupta, S. G. Laskar, and S. Laskar, "Intraoperative radiotherapy: Review of techniques and results," *Ecancermedicalscience*, vol. 11, pp. 1–33, 2017.
- [106] J. S. Vaidya *et al.*, "Risk-adapted targeted intraoperative radiotherapy versus whole-

- breast radiotherapy for breast cancer:5-year results for local control and overall survival from the TARGIT-A randomised trial," *Lancet*, vol. 383, no. 9917, pp. 603–613, 2014.
- [107] U. Veronesi *et al.*, "Intraoperative radiotherapy versus external radiotherapy for early breast cancer (ELIOT): A randomised controlled equivalence trial," *Lancet Oncol.*, vol. 14, no. 13, pp. 1269–1277, 2013.
- [108] M. McCormack, "Radiation Therapy in Ovarian Cancer: An Overview and Future Directions," *Clin. Oncol.*, vol. 30, no. 8, pp. 504–506, 2018.
- [109] S. Tangutoori, P. Baldwin, and S. Sridhar, "PARP inhibitors: A new era of targeted therapy," *Maturitas*, vol. 81, no. 1, pp. 5–9, 2015.
- [110] J. C. Morales *et al.*, "Review of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) mechanisms of action and rationale for targeting in cancer and other diseases," *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, vol. 24, no. 1, pp. 15–28, 2014.
- [111] C. J. Lord and A. Ashworth, "PARP Inhibitors: The First Synthetic Lethal Targeted Therapy," *Science (80-.)*, vol. 355, no. 6330, pp. 1152–1158, 2017.
- [112] K. L. Smith and C. Isaacs, "BRCA mutation testing in determining breast cancer therapy," *Cancer J.*, vol. 17, no. 6, pp. 492–499, 2011.
- [113] Infarmed, "Anexo I - Resumo das Características do Medicamento - Lynparza," pp. 1–29, 2019.
- [114] "drugInfo @ dailymed.nlm.nih.gov." 2018.
- [115] Peter C. Fong, David S. Boss, Timothy A. Yap, Andrew Tutt, Peijun Wu, Marja Mergui-Roelvink, Peter Mortimer, Helen Swaisland, Alan Lau, Mark J. O'Connor, Alan Ashworth, James, "New England Journal Medicine," *N. Engl. J. Med.*, vol. 361, no. 2, pp. 123–134, 2009.
- [116] D. Kamel, C. Gray, J. S. Walia, and V. Kumar, "PARP Inhibitor Drugs in the Treatment of Breast, Ovarian, Prostate and Pancreatic Cancers: An Update of Clinical Trials," *Curr. Drug Targets*, vol. 19, no. 1, pp. 21–37, 2018.
- [117] E. Pujade-Lauraine *et al.*, "Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial," *Lancet Oncol.*, vol. 18, no. 9, pp. 1274–1284, 2017.
- [118] J. Ledermann *et al.*, "Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer," *N. Engl. J. Med.*, vol. 366, no. 15, pp. 1382–1392, 2012.
- [119] "lynparza-recommended-approval-ovarian-cancer @ www.ema.europa.eu." .
- [120] K. Moore *et al.*, "Maintenance olaparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer," *N. Engl. J. Med.*, vol. 379, no. 26, pp. 2495–2505, 2018.

- [121] "fda-approves-olaparib-tablets-maintenance-treatment-ovarian-cancer @ www.fda.gov." .
- [122] "fda-approved-olaparib-lynparza-astrazeneca-pharmaceuticals-lp-maintenance-treatment-adult-patients @ www.fda.gov." .
- [123] M. Robson *et al.*, "Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation," *N. Engl. J. Med.*, vol. 377, no. 6, pp. 523–533, 2017.
- [124] "fda-approves-first-treatment-breast-cancer-certain-inherited-genetic-mutation @ www.fda.gov." .
- [125] D. Scarlatti, H. S. Amsterdam, and E. M. Agency, "Rubraca (rucaparib) - An overview of Rubraca and why it is authorised in the EU," vol. 31, no. 0, pp. 0–3, 2019.
- [126] "fda-approves-rucaparib-maintenance-treatment-recurrent-ovarian-fallopian-tube-or-primary-peritoneal @ www.fda.gov." .
- [127] "rubraca @ www.ema.europa.eu." .
- [128] R. C. Overview and A. Rucaparib, "Clovis Oncology believes that precision medicine — delivering the right treatment to the right patient — is the future of cancer therapy .," no. December 2016, 2017.
- [129] EMA, "Talzenna (talazoparib) - Um resumo sobre Talzenna e porque está autorizado na UE," vol. 44, no. 0, pp. 0–3, 2018.
- [130] "fda-approves-talazoparib-gbrcam-her2-negative-locally-advanced-or-metastatic-breast-cancer @ www.fda.gov." .
- [131] "talzenna @ www.ema.europa.eu." .
- [132] N. Andrieu *et al.*, "Effect of chest x-rays on the risk of breast cancer among BRCA1/2 mutation carriers in the international BRCA1/2 carrier cohort study: A report from the EMBRACE, GENEPSO, GEO-HEBON, and IBCCS Collaborators' Group," *J. Clin. Oncol.*, vol. 24, no. 21, pp. 3361–3366, 2006.
- [133] M. D. Jennifer K. Litton, M.D., Hope S. Rugo, M.D., Johannes Ettl, P. D. Sara A. Hurvitz, M.D., Anthony Gonçalves, M.D., Ph.D., Kyung-Hun Lee, M.D., M. D. Louis Fehrenbacher, M.D., Rinat Yerushalmi, M.D., Lida A. Mina, P. D. Miguel Martin, M.D., Ph.D., Henri Roché, M.D., Ph.D., Young-Hyuck Im, M.D., P. D. Ruben G.W. Quek, Ph.D., Denka Markova, Ph.D., Iulia C. Tudor, and P. D. Alison L. Hannah, M.D., Wolfgang Eiermann, M.D., and Joanne L. Blum, M.D., "Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline BRCA Mutation." p. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC64854>.
- [134] S. K. Sharan *et al.*, "Embryonic lethality and radiation hypersensitivity mediated by Rad51 in mice lacking Brca2," *Nature*, vol. 386, no. 6627. pp. 804–810, 1997.
- [135] S. A. Narod *et al.*, "Screening mammography and risk of breast cancer in BRCA1 and

- BRCA2 mutation carriers: a case-control study," *Lancet Oncol.*, vol. 7, no. 5, pp. 402–406, 2006.
- [136] D. Goldfrank *et al.*, "Effect of mammography on breast cancer risk in women with mutations in BRCA1 or BRCA2," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 15, no. 11, pp. 2311–2313, 2006.
- [137] S. Schlosser *et al.*, "Radiation-Associated Secondary Malignancies in BRCA Mutation Carriers Treated for Breast Cancer," *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 107, no. 2, pp. 353–359, 2020.
- [138] A. Pijpe *et al.*, "Exposure to diagnostic radiation and risk of breast cancer among carriers of BRCA1/2 mutations: Retrospective cohort study (GENE-RAD-RISK)," *BMJ*, vol. 345, no. 7878, pp. 1–15, 2012.
- [139] E. M. John *et al.*, "Diagnostic chest x-rays and breast cancer risk before age 50 years for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers for the Kathleen Cuninghame Foundation Consortium for Research into Familial Breast Cancer (kConFab)," *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, vol. 22, no. 9, pp. 1547–1556, 2013.
- [140] Lori J. Pierce, Kelly-Anne Phillip, Kent A. Griffith, Sandra Buys, David K. Gaffney, Sofia D. Merajver, Judith Balmaña, Amichay Meirovitz, "Local Therapy in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers with Operable Breast Cancer: Comparison of Breast Conservation and Mastectomy," *Breast Cancer Res Treat.*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2010.
- [141] J. L. Bernstein *et al.*, "Contralateral breast cancer after radiotherapy among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: A WECARE Study Report," *Eur. J. Cancer*, vol. 49, no. 14, pp. 2979–2985, 2013.
- [142] A. Baert *et al.*, "Increased chromosomal radiosensitivity in asymptomatic carriers of a heterozygous BRCA1 mutation," *Breast Cancer Res.*, vol. 18, no. 1, pp. 1–12, 2016.
- [143] A. Baert *et al.*, "Analysis of chromosomal radiosensitivity of healthy BRCA2 mutation carriers and non-carriers in BRCA families with the G2 micronucleus assay," *Oncol. Rep.*, vol. 37, no. 3, pp. 1379–1386, 2017.
- [144] M. B. Wagner, "Medidas de associação em estudos epidemiológicos: risco relativo e odds ratio," pp. 1–7, 1998.
- [145] E. Clínico, "Capítulo 9 Estudos sobre Experimento Clínico Revisão Sistemática," *Leitura Crítica Artig. Científicos a*, pp. 123–136.
- [146] "Glossário de termos MBE." .
- [147] W. H. Vogel, "Li-Fraumeni Syndrome," vol. 45, pp. 742–746, 2017.
- [148] K. Schneider, K. Zelle, and K. E. Nichols, "Li-Fraumeni Syndrome Summary," pp. 1–21, 2019.
- [149] F. P. Li and J. F. Fraumeni, "Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A

- familial syndrome?," *Ann. Intern. Med.*, vol. 71, no. 4, pp. 747–752, 1969.
- [150] J. M. Birch, A. L. Hartley, H. B. Marsden, M. Harris, and R. Swindell, "Excess risk of breast cancer in the mothers of children with soft tissue sarcomas," *Br. J. Cancer*, vol. 49, no. 3, pp. 325–331, 1984.
- [151] J. M. Birch *et al.*, "Identification of factors associated with high breast cancer risk in the mothers of children with soft tissue sarcoma," *J. Clin. Oncol.*, vol. 8, no. 4, pp. 583–590, 1990.
- [152] M. De Andrade, J. S. Barnholtz, C. I. Amos, P. Adatto, C. Spencer, and M. L. Bondy, "Segregation analysis of cancer in families of glioma patients," *Genet. Epidemiol.*, vol. 20, no. 2, pp. 258–270, 2001.
- [153] S. Srivastava, Z. Zou, K. Pirollo, W. Blattner, and E. H. Chang, "Germ-line transmission of a mutated p53 gene in a cancer-prone family with Li-Fraumeni syndrome," *Nature*, vol. 348, no. 6303, pp. 747–749, 1990.
- [154] H. Correa, "Li – Fraumeni Syndrome," pp. 84–88, 2016.
- [155] J. Varley and D. A. Haber, "Familial breast cancer and the hCHK2 1100delC mutation: Assessing cancer risk," *Breast Cancer Res.*, vol. 5, no. 3, pp. 123–125, 2003.
- [156] R. C. Andrade, A. C. E. dos Santos, J. C. de Aguirre Neto, J. Nevado, P. Lapunzina, and F. R. Vargas, "TP53 and CDKN1A mutation analysis in families with Li–Fraumeni and Li–Fraumeni like syndromes," *Fam. Cancer*, vol. 16, no. 2, pp. 243–248, 2017.
- [157] M. H. Julian M. Birch, Ann L. Hartley, Karen J. Tricker, Jane Presser, Alison Condie, Anna M. Kelsey and and M. F. S.-K. Patricia H. Morris Jones, Aine Binchy, Derek Crowther, Alan W. Craft, Osborne B. Eden, D. Gareth R. Evans, Eileen Thompson, Julian R. Mann, John Martin, Erika L. D. Mitchell, "Prevalence and Diversity of Constitutional Mutations in the p53 Gene among 21 Li-Fraumeni Families," *Cancer Res.*, vol. 54, no. 5, pp. 1298–1304, 1994.
- [158] E. RA., "Germline mutations in the TP53 gene.," *Cancer Surv*, vol. 25(25), pp. 101–124, 1995.
- [159] A. Chompret, A. Abel, D. Stoppa-Lyonnet, "Criteria for P53 Germline Mutation," *J Med Genet*, vol. 38, pp. 43–47, 2001.
- [160] R. Beckerman and C. Prives, "Transcriptional regulation by p53.," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 2, no. 8, pp. 1–19, 2010.
- [161] V. Rotter, "P53, a Transformation-Related Cellular-Encoded Protein, Can Be Used As a Biochemical Marker for the Detection of Primary Mouse Tumor Cells," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 80, no. 9 I, pp. 2613–2617, 1983.
- [162] D. Eliyahu, A. Raz, P. Gruss, D. Givol, and M. Oren, "Participation of p53 cellular tumour antigen in transformation of normal embryonic cells," *Nature*, vol. 312, no. 5995, pp. 646–649, 1984.

- [163] B. V. Suzanne J. Baker, Eric R. Fearon, Janice M. Nigro, Stanley R. Hamilton, Ann C. Preisinger, J. Milburn Jessup, Peter Vantuinen, David H. Ledbetter, David F. Barker, Yusuke Nakamura, Ray White, "Chromosome 17 Deletions and p53 Gene Mutations in Colorectal Carcinoma," *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 49, p. 317, 1987.
- [164] C. A. Finlay, P. W. Hinds, and A. J. Levine, "The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation," *Cell*, vol. 57, no. 7, pp. 1083–1093, 1989.
- [165] J. M. Valdez, K. E. Nichols, and C. Kesserwan, "Li-Fraumeni syndrome: a paradigm for the understanding of hereditary cancer predisposition," *Br. J. Haematol.*, vol. 176, no. 4, pp. 539–552, 2017.
- [166] "TP53 @ ghr.nlm.nih.gov." .
- [167] P. L. Mai *et al.*, "Risks of first and subsequent cancers among TP53 mutation-carriers in the NCI LFS cohort," *Cancer*, vol. 122, no. 23, pp. 3673–3681, 2016.
- [168] D. W. Bell *et al.*, "Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome," *Science (80-.)*, vol. 286, no. 5449, pp. 2528–2531, 1999.
- [169] J. A. Amara G Nandikolla, Sangeetha Venugopal, "Breast cancer in patients with Li–Fraumeni syndrome – a case-series study and review of literature," pp. 207–215, 2017.
- [170] D. M. Badr Id Said, Han Kim, James Tran, Ana Novokmet, "Super-transactivation TP53 Variant in the Germline of a Family with Li-Fraumeni Syndrome," pp. 1–11, 2015.
- [171] G. Bougeard *et al.*, "Revisiting Li-Fraumeni syndrome from TP53 mutation carriers," *J. Clin. Oncol.*, vol. 33, no. 21, pp. 2345–2352, 2015.
- [172] M. April D. Sorrell, MD, Carin R. Espenschied, MS, CGC, Julie O. Culver, MS, CGC, and Jeffrey N. Weitzel, "Tumor protein p53 (TP53) testing and li-fraumeni syndrome: Current status of clinical applications and future directions," *Mol. Diagnosis Ther.*, vol. 17, no. 1, pp. 31–47, 2013.
- [173] P. P. Khincha, A. F. Best, J. F. Fraumeni, J. T. Loud, S. A. Savage, and M. I. Achatz, "Reproductive factors associated with breast cancer risk in Li–Fraumeni syndrome," *Eur. J. Cancer*, vol. 116, pp. 199–206, 2019.
- [174] S. Ognjanovic, M. Olivier, T. L. Bergemann, and P. Hainaut, "Sarcomas in TP53 germline mutation carriers: A review of the IARC TP53 database," *Cancer*, vol. 118, no. 5, pp. 1387–1396, 2012.
- [175] L. Mirabello *et al.*, "Germline TP53 Variants and Susceptibility to Osteosarcoma," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 107, no. 7, pp. 1–4, 2015.
- [176] M. Simone Hettmer, MD, Natasha M. Archer, MD, Gino R. Somers, MBBS, Ana Novokmet, BA, Amy J. Wagers, PhD, Lisa Diller, MD, Carlos Rodriguez-Galindo, MD, Lisa A. Teot, MD, and David Malkin, "Anaplastic Rhabdomyosarcoma in TP53 Germline Mutation Carriers," *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2014.

- [177] K. D. Gonzalez *et al.*, “Beyond li fraumeni syndrome: Clinical characteristics of families with p53 germline mutations,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 27, no. 8, pp. 1250–1256, 2009.
- [178] U. Tabori *et al.*, “TP53 alterations determine clinical subgroups and survival of patients with choroid plexus tumors,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 28, no. 12, pp. 1995–2001, 2010.
- [179] N. Zhukova *et al.*, “Subgroup-specific prognostic implications of TP53 mutation in medulloblastoma,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 31, no. 23, pp. 2927–2935, 2013.
- [180] E. M. Pinto *et al.*, “Genomic landscape of paediatric adrenocortical tumours,” *Nat. Commun.*, vol. 6, 2015.
- [181] J. D. Wasserman *et al.*, “Prevalence and functional consequence of TP53 mutations in pediatric adrenocortical carcinoma: A children’s oncology group study,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 33, no. 6, pp. 602–609, 2015.
- [182] L. Holmfeldt *et al.*, “The Genomic Landscape of Hypodiploid Acute,” *Nat Genet*, vol. 45, no. 3, pp. 242–252, 2013.
- [183] L. R. T. Bradford C. Powell, MD, PhD, Lichun Jiang, PhD, Donna M. Muzny, R. A. PhD, ZoAnn E. Dreyer, MD, Louise C. Strong, MD, David A. Wheeler, PhD, and P. Gibbs, PhD, and Sharon E. Plon, MD, “Identification of TP53 as an Acute Lymphocytic Leukemia Susceptibility Gene Through Exome Sequencing,” *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2008.
- [184] T. Guha and D. Malkin, “Inherited TP53 Mutations and the Li–Fraumeni Syndrome,” pp. 1–12, 2017.
- [185] J. A. Cotter *et al.*, “Transmission of a TP53 germline mutation from unaffected male carrier associated with pediatric glioblastoma in his child and gestational choriocarcinoma in his female partner,” *Cold Spring Harb. Mol. Case Stud.*, vol. 4, no. 2, pp. 1–8, 2018.
- [186] D. Malkin, “Li-fraumeni syndrome,” *Genes and Cancer*, vol. 2, no. 4, pp. 475–484, 2011.
- [187] F. P. Li *et al.*, “A Cancer Family Syndrome in Twenty-four Kindreds,” *Cancer Res.*, vol. 48, no. 18, pp. 5358–5362, 1988.
- [188] J. Tinat *et al.*, “2009 Version of the Chompret Criteria for Li Fraumeni Syndrome,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 27, no. 26, pp. 108–109, 2009.
- [189] K. A. McBride *et al.*, “Li-Fraumeni syndrome: Cancer risk assessment and clinical management,” *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, vol. 11, no. 5, pp. 260–271, 2014.
- [190] K. Schon and M. Tischkowitz, “Clinical implications of germline mutations in breast cancer: TP53,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 167, no. 2, pp. 417–423, 2018.
- [191] J. E. G. and S. S. Serena Masciari, Akriti Dewanwala, Elena M Stoffel, Gregory Y Lauwers, Hui Zheng, Maria Isabel Achatz, Douglas Riegert-Johnson, Lenka Foretova, Edaise M. Silva, Lisa Digianni, Sigitas J Verselis, Katherine Schneider, Frederick P Li, Joseph Fraumeni, “Gastric Cancer in Individuals with Li-Fraumeni Syndrome Serena,” *NIH Public*

- Access, vol. 13, no. 7, pp. 617–632, 2013.
- [192] A. Villani *et al.*, “Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: 11 year follow-up of a prospective observational study,” *Lancet Oncol.*, vol. 17, no. 9, pp. 1295–1305, 2016.
- [193] M. P. Berry, “Genetic / Familial High-Risk Assessment : Breast and Ovarian,” 2019.
- [194] M. Jane Churpek, MD, Rafael Marquez, BA, Barbara Neistadt, MHS, Kimberly Claussen, BA, Ming Lee, PhD, Matthew Churpek, MD, MPH, PhD, Dezheng Huo, PhD, Howard Weiner, Mekhala Bannerjee, MS, Lucy Godley, MD, PhD, Michelle Le Beau, Ph, “Inherited mutations in cancer susceptibility genes are common among breast cancer survivors who develop therapy-related leukemia,” *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 1, pp. 1570–1573, 2016.
- [195] N. Schuler, J. Palm, S. Schmitz, Y. Lorat, and C. E. Rube, “Increasing genomic instability during cancer therapy in a patient with Li-Fraumeni syndrome,” *Clin. Transl. Radiat. Oncol.*, vol. 7, pp. 71–78, 2017.
- [196] E. Kasper *et al.*, “Contribution of genotoxic anticancer treatments to the development of multiple primary tumours in the context of germline TP53 mutations,” *Eur. J. Cancer*, vol. 101, pp. 254–262, 2018.
- [197] R. Mirzayans, B. Andrais, A. Scott, Y. W. Wang, and D. Murray, “Ionizing radiation-induced responses in human cells with differing TP53 status,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 14, no. 11, pp. 22409–22435, 2013.
- [198] S. Heymann *et al.*, “Radio-induced malignancies after breast cancer postoperative radiotherapy in patients with Li-Fraumeni syndrome,” *Radiat. Oncol.*, vol. 5, no. 1, p. 104, 2010.
- [199] M. L. Ballinger, G. Mitchell, and D. M. Thomas, “Surveillance recommendations for patients with germline TP53 mutations,” *Curr. Opin. Oncol.*, vol. 27, no. 4, pp. 332–337, 2015.
- [200] S. Masciari *et al.*, “Screening in Li-Fraumeni Syndrome,” vol. 299, no. 11, pp. 1315–1319, 2015.
- [201] A. Villani *et al.*, “Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: A prospective observational study,” *Lancet Oncol.*, vol. 12, no. 6, pp. 559–567, 2011.
- [202] F. P. L. Michie Hisada, Judy E. Garber, Claire Y. Fung, Joseph F. Fraumeni, Jr., “Multiple primary cancers in Families With Li–Fraumeni Syndrome,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 90, no. 8, 1998.
- [203] J. M. Varley, L. A. J. Gail McGown, Mary Thorncroft, and J. M. B. Geoffrey P. Margison, Gill Forster, D. Gareth R. Evans, Martin Harris, Anna M. Kelsey, “Are there low-penetrance TP53 alleles? Evidence from childhood adrenocortical tumors,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 65, no. 4, pp. 995–1006, 1999.

- [204] C. Rubino, F. De Vathaire, A. Shamsaldin, M. Labbe, and M. G. Lê, "Radiation dose, chemotherapy, hormonal treatment and risk of second cancer after breast cancer treatment," *Br. J. Cancer*, vol. 89, no. 5, pp. 840–846, 2003.
- [205] S. Kappel *et al.*, "TP53 germline mutation may affect response to anticancer treatments: analysis of an intensively treated Li–Fraumeni family," *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 151, no. 3, pp. 671–678, 2015.
- [206] D. G. Sheppard and H. I. Libshitz, "Post-radiation sarcomas: A review of the clinical and imaging features in 63 cases," *Clin. Radiol.*, vol. 56, no. 1, pp. 22–29, 2001.
- [207] V. Petry *et al.*, "Radiotherapy-induced malignancies in breast cancer patients with TP53 pathogenic germline variants (Li–Fraumeni syndrome)," *Fam. Cancer*, vol. 19, no. 1, pp. 47–53, 2020.
- [208] A. N. Le *et al.*, "Frequency of radiation-induced malignancies post-adjuvant radiotherapy for breast cancer in patients with Li-Fraumeni syndrome," *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 181, no. 1, pp. 181–188, 2020.
- [209] J. M. Limacher, T. Frebourg, S. Natarajan-Ame, and B. M. D. Jean-Pierre, "Two metachronous tumors in the radiotherapy fields of a patient with Li-Fraumeni syndrome," *Int. J. Cancer*, vol. 96, no. 4, pp. 238–242, 2001.
- [210] D. L. Preston *et al.*, "Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958-1998," *Radiat. Res.*, vol. 168, no. 1, pp. 1–64, 2007.
- [211] G. S. and J. H. J. Victor E. Archer, "Frequency of different histologic types of bronchogenic carcinoma as related to radiation exposure," 1974.
- [212] A. Salmon *et al.*, "Rapid Development of Post-radiotherapy Sarcoma and Breast Cancer in a Patient with a Novel Germline 'De-Novo' TP53 Mutation," *Clin. Oncol.*, vol. 19, no. 7, pp. 490–493, 2007.
- [213] E. Henry *et al.*, "Chest wall leiomyosarcoma after breast-conservative therapy for early-stage breast cancer in a young woman with Li-fraumeni syndrome," *JNCCN J. Natl. Compr. Cancer Netw.*, vol. 10, no. 8, pp. 939–942, 2012.
- [214] O. V. Barbosa, A. B. Reiriz, R. A. Boff, W. P. Oliveira, and L. R. Ossi, "Angiossarcoma em mama previamente irradiada em paciente portadora da síndrome de Li-Fraumeni. Um relato de caso," *Sao Paulo Med. J.*, vol. 133, no. 2, pp. 151–153, 2015.
- [215] A. García Novoa, B. Acea Nebril, A. Bouzón Alejandro, C. Cereijo Garea, and S. Antolín Novoa, "Radiation-induced angiosarcoma of the breast in a Li-Fraumeni patient," *Cir. Esp.*, vol. 97, no. 2, pp. 114–116, 2019.
- [216] S. M. Crafton, L. Senter-Jamieson, J. L. Chen, L. J. Copeland, and A. A. Suarez, "Radiation-associated Angiosarcoma Mimicking Fallopian Tube High-grade Serous Carcinoma in a Woman with de Novo Li-Fraumeni Syndrome," *Int. J. Gynecol. Pathol.*, vol. 38, no. 3, pp. 258–262, 2019.

- [217] M. A. Dickson, "Systemic treatment options for radiation-associated sarcomas," *Curr. Treat. Options Oncol.*, vol. 15, no. 3, pp. 476–481, 2014.
- [218] M. Bogliolo and J. Surrallés, "Fanconi anemia: A model disease for studies on human genetics and advanced therapeutics," *Curr. Opin. Genet. Dev.*, vol. 33, pp. 32–40, 2015.
- [219] P. A. Mehta and J. Tolar, "Fanconi Anemia Summary Genetic counseling," pp. 1–42, 2018.
- [220] N. Ameziane *et al.*, "A novel Fanconi anaemia subtype associated with a dominant-negative mutation in RAD51," *Nat. Commun.*, vol. 6, no. May, pp. 1–11, 2015.
- [221] M. Nepal, R. Che, J. Zhang, C. Ma, and P. Fei, "Fanconi Anemia Signaling and Cancer," *Trends in Cancer*, vol. 3, no. 12, pp. 840–856, 2017.
- [222] S. Lobitz and E. Velleuer, "Guido Fanconi (1892-1979): A jack of all trades," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 6, no. 11, pp. 893–898, 2006.
- [223] T. Taniguchi and A. D. D'Andrea, "Molecular pathogenesis of Fanconi anemia: Recent progress," *Blood*, vol. 107, no. 11, pp. 4223–4233, 2006.
- [224] D. Frohnmayer, L. Frohnmeyer, E. Guinan, T. Kennedy, and K. Larsen, "Fanconi Anemia: Guidelines for Diagnosis and Management. 4th ed.," *Fanconi Anemia Res. Fund, Inc.*, 2014.
- [225] "FANCA @ ghr.nlm.nih.gov." .
- [226] "FANCC @ ghr.nlm.nih.gov." .
- [227] "FANCG @ ghr.nlm.nih.gov." .
- [228] P. F. Raymond Che, Jun Zhang, Manoj Nepal, Bing Han, "Multifaceted Fanconi Anemia Signaling," *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 1, pp. 1570–1573, 2018.
- [229] H. Dong, D. W. Nebert, E. A. Bruford, D. C. Thompson, H. Joenje, and V. Vasiliou, "Update of the human and mouse fanconi anemia genes," *Hum. Genomics*, vol. 9, no. 1, pp. 1–10, 2015.
- [230] P. Blanche P. Alter, MD, MPH; Hans Joenje, PhD; Anneke B. Oostra; Gerard Pals and F, "Adult Head and Neck Cancer and Hematopoietic Mosaicism," *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, vol. 23, no. 2, pp. 193–214, 2009.
- [231] D. M. SIDNEY SHAW, M.D., and R. A. M. OLIVER, M.A., "Primary Hemorrhagic Thrombocytthmia Section of Pathology," no. 1955, pp. 768–772, 1957.
- [232] B. P. Alter and N. Giri, "Thinking of VACTERL-H? Rule out Fanconi Anemia according to PHENOS," *Am. J. Med. Genet. Part A*, vol. 170, no. 6, pp. 1520–1524, 2016.
- [233] A. S. and B. P. Alter, "Pathophysiology and Management of Inherited Bone Marrow Failure Syndromes," vol. 24, no. 3, pp. 101–122, 2013.

- [234] A. D. Auerbach, "FA and its diagnosis," *Mutat. Res.*, vol. 668, pp. 4–10, 2010.
- [235] D. I. Kutler *et al.*, "A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR)," *Blood*, vol. 101, no. 4, pp. 1249–1256, 2003.
- [236] S. A. Savage and C. Dufour, "Classical inherited bone marrow failure syndromes with high risk for myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia," *Semin. Hematol.*, vol. 54, no. 2, pp. 105–114, 2017.
- [237] B. P. Alter, N. Giri, S. A. Savage, and P. S. Rosenberg, "Cancer in the national cancer institute inherited bone marrow failure syndrome cohort after fifteen years of follow-up," *Haematologica*, vol. 103, no. 1, pp. 30–39, 2018.
- [238] D. I. Kutler *et al.*, "High incidence of head and neck squamous cell carcinoma in patients with Fanconi anemia," *Arch. Otolaryngol. - Head Neck Surg.*, vol. 129, no. 1, pp. 106–112, 2003.
- [239] L. G. T. Morris, A. G. Sikora, S. G. Patel, R. B. Hayes, and I. Ganly, "Second primary cancers after an index head and neck cancer: Subsite-specific trends in the era of human papillomavirus - Associated oropharyngeal cancer," *J. Clin. Oncol.*, vol. 29, no. 6, pp. 739–746, 2011.
- [240] and B. P. A. Philip S. Rosenberg, Mark H. Greene and Fanconi, "Cancer incidence in persons with Fanconi anemia," *Bone Marrow Transplant.*, vol. 41, no. 2, pp. 127–132, 2008.
- [241] P. S. Rosenberg, B. P. Alter, and W. Ebell, "Cancer risks in Fanconi anemia: Findings from the German Fanconi Anemia Registry," *Haematologica*, vol. 93, no. 4, pp. 511–517, 2008.
- [242] D. Sharon A. Savage, MD and Michael Walsh, MD, FAAP, FACMG, "Myelodysplastic Syndrome, Acute Myeloid Leukemia, and Cancer Surveillance in Fanconi Anemia," *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 1, pp. 139–148, 2018.
- [243] Michael F. Walsh, Vivian Y. Chang, Wendy K. Kohlmann, Hamish S. Scott, Christopher Cunniff, Franck Bourdeaut, Jan J. Molenaar, Christopher C. Porter, John T. Sandlund, Sharon E. Plon, Lisa L. Wang, "Recommendations for Childhood Cancer Screening and Surveillance in DNA Repair Disorders," *J Autism Dev Disord*, vol. 47, no. 3, pp. 549–562, 2017.
- [244] N. T. Shahidi and L. K. Diamond, "Testosterone-induced remission in aplastic anemia of both acquired and congenital types. Further observations in 24 cases.," *N. Engl. J. Med.*, vol. 264, pp. 953–967, 1961.
- [245] I. Velazquez and B. P. Alter, "Androgens and liver tumors: Fanconi's anemia and non-Fanconi's conditions," *Am. J. Hematol.*, vol. 77, no. 3, pp. 257–267, 2004.
- [246] M. Susan R. Rose, Mi-Ok Kim, PhD, Leslie Korbee, BS, Kimberly A. Wilson, MS, M. Douglas Ris, PhD, Ori Eyal, MD, Rosa Sherafat-Kazemzadeh, MD, Sureka Bollepalli, MD, Richard Harris, MD, Michael R. Jeng, "Oxandrolone for the Treatment of Bone Marrow

- Failure in Fanconi Anemia Susan," *Pediatr. Blood Cancer*, vol. 50, no. 5, pp. 1018–1025, 2008.
- [247] M. Makoto Higurashi and Patrick E. Conen, "In vitro chromosomal radiosensitivity in 'chromosomal breakage syndromes,'" pp. 380–383, 1973.
- [248] J. M. R. and M. . B. Susan B. Bigelow, "G2 CHROMOSOMAL RADIOSENSITIVITY IN FANCONI'S ANEMIA *," vol. 3, pp. 189–199, 1979.
- [249] B. P. Alter, "Radiosensitivity in Fanconi's anemia patients," *Radiother. Oncol.*, vol. 62, no. 3, pp. 345–347, 2002.
- [250] M. Bremer, D. Schindler, M. Groß, T. Dörk, S. Morlot, and J. H. Karstens, "Fanconi's Anemia and Clinical Radiosensitivity: Report on Two Adult Patients with Locally Advanced Solid Tumors Treated by Radiotherapy," *Strahlentherapie und Onkol.*, vol. 179, no. 11, pp. 748–753, 2003.
- [251] C. Masserot *et al.*, "Head and neck squamous cell carcinoma in 13 patients with fanconi anemia after hematopoietic stem cell transplantation," *Cancer*, vol. 113, no. 12, pp. 3315–3322, 2008.
- [252] M. Andrew C. Birkeland, BA, Arleen D. Auerbach, PhD, Erica Sanborn, MS, Bhupesh Parashar, MD, William I. Kuhel, MD, Settara C. Chandrasekharappa, PhD, Agata Smogorzewska, MD, PhD, and David I. Kutler, "Post-operative Clinical Radiosensitivity in Fanconi Anemia Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinomas," *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2012.
- [253] H. de L. e Horta, F. F. Guimarães, L. O. S. Rocha, R. E. S. Guimarães, and E. R. Valadares, "Carcinoma de células escamosas da hipofaringe em mulher jovem com anemia de Fanconi," *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, vol. 72, no. 6, pp. 845–848, 2006.
- [254] M. Ashwini Budrukkar, MD, Tanweer Shahid, DNB, Vedang Murthy, MD, Tabish Hussain, MSc, Rita Mulherkar, PhD, Babu Rao Vundinti, PhD, Mandar Deshpande, MS, Manju Sengar, MD, Sarbani Ghosh Laskar, MD, Jai Prakash Agarwal, "SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF BASE OF TONGUE IN A PATIENT WITH FANCONI'S ANEMIA TREATED WITH RADIATION THERAPY: CASE REPORT AND REVIEW OF LITERATURE," *Head Neck*, vol. 36, no. 10, p. 1391, 2014.
- [255] D. Winnifred M. Wong, M. Upendra Parvathaneni, MB, FRANZCR, Patrick D. Jewell, MD, Renato G. Martins, MD, Neal D. Futran, MD, George E. Laramore, PhD, and M. Jay J. Liao, "Squamous cell carcinoma of the oral tongue in a patient with Fanconi anemia treated with radiotherapy and concurrent cetuximab: A case report and review of the literature," *Head Neck*, vol. 36, no. 10, p. 1391, 2014.
- [256] A. Levy and A. E. Lang, "Ataxia-telangiectasia: A review of movement disorders, clinical features, and genotype correlations," *Mov. Disord.*, vol. 33, no. 8, pp. 1238–1247, 2018.
- [257] R. Gatti and S. Perlman, "Ataxia-Telangiectasia Summary Genetic counseling Suggestive Findings," pp. 1–25, 2016.

- [258] P. Amirifar, M. R. Ranjouri, R. Yazdani, H. Abolhassani, and A. Aghamohammadi, "Ataxia-telangiectasia: A review of clinical features and molecular pathology," *Pediatr. Allergy Immunol.*, vol. 30, no. 3, pp. 277–288, 2019.
- [259] H. K. Syllaba L, "Contribution a l'indépendance de l'athetose double idiopathique et congenitale," *Rev Neurol*, vol. 1, pp. 541–562, 1926.
- [260] S. R. Boder E, "Ataxia-telangiectasia: a familial syndrome of progressive cerebellar ataxia, oculocutaneous telangiectasia and frequent pulmonary infection," *Pediatrics*, vol. 21, no. 4, pp. 526–554, 1958.
- [261] H. A. G. Teive, C. H. F. Camargo, and R. P. Munhoz, "More than ataxia – Movement disorders in ataxia-telangiectasia," *Park. Relat. Disord.*, vol. 46, pp. 3–8, 2018.
- [262] K. Savitsky *et al.*, "A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase," *Science (80-.)*, vol. 268, no. 5218, pp. 1749–1753, 1995.
- [263] * Y. Ziv S. Banin, L. Moyal, S.-Y. Shieh, Y. Taya, C. W. Anderson, L. Chessa, N. I. Smorodinsky, C. Prives, Y. Reiss, Y. Shiloh, "Enhanced Phosphorylation of," vol. 281, 1998.
- [264] C. E. Canman *et al.*, "Activation of the ATM kinase by ionizing radiation and phosphorylation of p53," *Science (80-.)*, vol. 281, no. 5383, pp. 1677–1679, 1998.
- [265] M. W. Chaudhary and R. S. Al-Baradie, "Ataxia-telangiectasia: Future prospects," *Appl. Clin. Genet.*, vol. 7, pp. 159–167, 2014.
- [266] "ATM @ ghr.nlm.nih.gov." .
- [267] Y. A. Valentin-Vega *et al.*, "Mitochondrial dysfunction in ataxia-telangiectasia," *Blood*, vol. 119, no. 6, pp. 1490–1500, 2012.
- [268] and C. L. W. Jiangwei Zhang, Durga Nand Tripathi, Ji Jing, Angela Alexander, Jinhee Kim, Reid T. Powell, Ruhee Dere, Jacqueline Tait-Mulder, Ji-Hoon Lee, Tanya T. Paull, Raj K. Pandita, Vijaya K. Charaka, Tej K. Pandita, Michael B. Kastan, "ATM Functions at the Peroxisome to Induce Pexophagy in Response to ROS HHS Public Access Author manuscript," *Anal. data; J.Z*, vol. 17, no. 10, pp. 1259–1269, 2015.
- [269] M. F. Lavin, "Ataxia-telangiectasia: From a rare disorder to a paradigm for cell signalling and cancer," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 9, no. 10, pp. 759–769, 2008.
- [270] T. S. Pearson, "More Than Ataxia: Hyperkinetic Movement Disorders in Childhood Autosomal Recessive Ataxia Syndromes.," *Tremor Other Hyperkinet. Mov. (N. Y.)*, vol. 6, p. 368, 2016.
- [271] M. F. Lavin *et al.*, "Therapeutic targets and investigated treatments for Ataxia-Telangiectasia," *Expert Opin. Orphan Drugs*, vol. 4, no. 12, pp. 1263–1276, 2016.
- [272] C. Rothblum-Oviatt, J. Wright, M. A. Lefton-Greif, S. A. McGrath-Morrow, T. O. Crawford, and H. M. Lederman, "Ataxia telangiectasia: A review," *Orphanet J. Rare Dis.*,

vol. 11, no. 1, pp. 1–21, 2016.

- [273] F. Suarez *et al.*, “Incidence, presentation, and prognosis of malignancies in ataxia-telangiectasia: A report from the french national registry of primary immune deficiencies,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 33, no. 2, pp. 202–208, 2015.
- [274] R. Micol *et al.*, “Morbidity and mortality from ataxia-telangiectasia are associated with ATM genotype,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 128, no. 2, pp. 382–390, 2011.
- [275] Taylor, J.A. Metcalfe, J. Thick, “Leukemia and Lymphoma in Ataxia Telangiectasia,” *J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 87, no. 2, 1996.
- [276] J. H. Olsen *et al.*, “Cancer in patients with ataxia-telangiectasia and in their relatives in the Nordic countries,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 93, no. 2, pp. 121–127, 2001.
- [277] A. C. Antoniou, P. P. D. Pharoah, P. Smith, and D. F. Easton, “The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancer,” *Br. J. Cancer*, vol. 91, no. 8, pp. 1580–1590, 2004.
- [278] M. Marabelli, S. C. Cheng, and G. Parmigiani, “Penetrance of ATM Gene Mutations in Breast Cancer: A Meta-Analysis of Different Measures of Risk,” *Genet. Epidemiol.*, vol. 40, no. 5, pp. 425–431, 2016.
- [279] S. Perlman, S. Becker-Catania, and R. A. Gatti, “Ataxia-Telangiectasia: Diagnosis and Treatment,” *Semin. Pediatr. Neurol.*, vol. 10, no. 3, pp. 173–182, 2003.
- [280] N. J. H. van Os *et al.*, “Health risks for ataxia-telangiectasia mutated heterozygotes: a systematic review, meta-analysis and evidence-based guideline,” *Clin. Genet.*, vol. 90, no. 2, pp. 105–117, 2016.
- [281] A. P. Maggioni *et al.*, “The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at UC SHARED JOURNAL COLLECTION on February 14, 2011. For personal use only. No other uses without permission. Copyright © 1993 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 329, no. 20, pp. 1442–1448, 1993.
- [282] S. M. Bonanome, Andrea; Grundy, “The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE on October 26, 2014. For personal use only. No other uses without permission. From the NEJM Archive. Copyright © 2010 Massachusetts Medical Society. All rights,” *N. Engl. J. Med.*, pp. 1244–1248, 1988.
- [283] D. Q. Yang and M. B. Kastan, “Participation of ATM in insulin signalling through phosphorylation of eIF-4E-binding protein 1,” *Nat. Cell Biol.*, vol. 2, no. 12, pp. 893–898, 2000.
- [284] A. Nissenkorn, S. Hassin-Baer, S. F. Lerman, Y. B. Levi, M. Tzadok, and B. Ben-Zeev, “Movement disorder in ataxia-telangiectasia: Treatment with amantadine Sulfate,” *J. Child Neurol.*, vol. 28, no. 2, pp. 155–160, 2013.
- [285] I. Russo *et al.*, “In ataxia-teleangiectasia betamethasone response is inversely

- correlated to cerebellar atrophy and directly to antioxidative capacity," *Eur. J. Neurol.*, vol. 16, no. 6, pp. 755–759, 2009.
- [286] T. Broccoletti *et al.*, "Steroid-induced improvement of neurological signs in ataxia-telangiectasia patients," *Eur. J. Neurol.*, vol. 15, no. 3, pp. 223–228, 2008.
- [287] L. Chessa *et al.*, "Intra-erythrocyte infusion of dexamethasone reduces neurological symptoms in ataxia telangiectasia patients: Results of a phase 2 trial," *Orphanet J. Rare Dis.*, vol. 9, no. 1, pp. 2–9, 2014.
- [288] Evandro Fei Fang, Henok Kassahun, Deborah L. Croteau, Morten Scheibye-Knudsen, Krisztina Marosi, Huiming Lu, Raghavendra A. Shamanna, Sumana Kalyanasundaram, Ravi Chand Bollineni, Mark A. Wilson, Wendy B. Iser, Bradley N. Wollman, Marya Morevati, Jun Li, "NAD+ replenishment improves lifespan and healthspan in Ataxia telangiectasia models via mitophagy and DNA repair," *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 3, pp. 139–148, 2019.
- [289] "NCT03563053 @ clinicaltrials.gov." .
- [290] "NCT04037189 @ clinicaltrials.gov." .
- [291] "NCT03759678 @ clinicaltrials.gov." .
- [292] C. Samuel P. Gotoff, MD; Ebrahim Amirmokri, MD; and Edwin J. Liebner, MD and ATAXIA, "Neoplasia, Untoward Response to X-Irradiation, and Tuberous Sclerosis," *J. R. Soc. Med.*, vol. 56, no. 8, pp. 727–728, 1967.
- [293] G. M. & A. R. K. Seidemann, G. Henze, J. D. Beck, A. Sauerbrey, J. Kiihl, "Non-Hodgkin's lymphoma in pediatric patients with chromosomal breakage syndromes (AT and NBS): Experience from the BFM trials," *Proc. Vllth Int. Conf. Malign. Lymphoma 2–5 June 1999 – Lugano, Switz.*, vol. 11, no. i, pp. S117–S121, 2000.
- [294] Sandlund, M. M. Hudson, W. Kennedy, M. Onciu, "Pilot study of modified LMB-based therapy for children with ataxia-telangiectasia and advanced stage high grade mature b- cell malignancies," *Bone*, vol. 23, no. 1, pp. 1–7, 2008.
- [295] J. R. Chapman, M. R. G. Taylor, and S. J. Boulton, "Playing the End Game: DNA Double-Strand Break Repair Pathway Choice," *Mol. Cell*, vol. 47, no. 4, pp. 497–510, 2012.
- [296] A. A. Goodarzi, A. T. Noon, and P. A. Jeggo, "The impact of heterochromatin on DSB repair," *Biochem. Soc. Trans.*, vol. 37, no. 3, pp. 569–576, 2009.
- [297] P. J. McKinnon, "ATM and the Molecular Pathogenesis of Ataxia Telangiectasia," *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, vol. 7, no. 1, pp. 303–321, 2012.
- [298] A. Egidi, S. Filippi, F. Manganello, W. Lopez-Martinez, and R. Meschini, "Modulation of chromatin conformation by the histone deacetylase inhibitor trichostatin A promotes the removal of radiation-induced lesions in ataxia telangiectasia cell lines," *Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, vol. 836, no. February, pp. 109–116, 2018.

- [299] A. M. R. Taylor, "Unrepaired DNA strand breaks in irradiated ataxia telangiectasia lymphocytes suggested from cytogenetic observations," *Mutat. Res. - Fundam. Mol. Mech. Mutagen.*, vol. 50, no. 3, pp. 407–418, 1978.
- [300] J. B. Weissberg, D. D. Huang, and M. Swift, "Radiosensitivity of normal tissues in ataxia-telangiectasia heterozygotes," *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 42, no. 5, pp. 1133–1136, 1998.
- [301] R. A. Yanofsky *et al.*, "Ataxia-telangiectasia: Atypical presentation and toxicity of cancer treatment," *Can. J. Neurol. Sci.*, vol. 36, no. 4, pp. 462–467, 2009.
- [302] J. H. Kersey, B. D. Spector, and R. A. Good, "Primary immunodeficiency diseases and cancer: The immunodeficiency-cancer registry," *Int. J. Cancer*, vol. 12, no. 2, pp. 333–347, 1973.
- [303] A. T. Masri, F. G. Bakri, A. M. Al-Hadidy, A. F. Musharbash, and M. Al-Hussaini, "Ataxia-Telangiectasia Complicated by Craniopharyngioma - A New Observation," *Pediatr. Neurol.*, vol. 35, no. 4, pp. 287–288, 2006.
- [304] R. C. Murphy *et al.*, "Malignancies in pediatric patients with ataxia telangiectasia," *Pediatr. Radiol.*, vol. 29, no. 4, pp. 225–230, 1999.
- [305] A. Kiuru *et al.*, "Assessment of targeted and non-targeted responses in cells deficient in ATM function following exposure to low and high dose X-rays," *PLoS One*, vol. 9, no. 3, pp. 1–8, 2014.
- [306] T. Capt John L. Morgan, MC, USAF; Col Thomas M. Holcomb, MC, USAF; and Col Robert W. Morrissey, MC, USAF, Lackland Air Force Base and AN, "Radiation Reaction in Ataxia Telangiectasia," 1968.
- [307] R. M. Hart, B. F. Kimler, R. G. Evans, and C. H. Park, "Radiotherapeutic management of medulloblastoma in a pediatric patient with ataxia telangiectasia," *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 13, no. 8, pp. 1237–1240, 1987.
- [308] D. E. Mariko DeWire, Chris Beltran, Frederick Boop, Kathleen Helton, "Radiation Therapy and Adjuvant Chemotherapy in a Patient With a Malignant Glioneuronal Tumor and Underlying Ataxia Telangiectasia: A Case Report and Review of the Literature," *Clin. Oncol.*, vol. 30, no. 18, pp. 2424–2430, 2013.

