

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ

FIOCRUZ

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e
Medicina Investigativa

TESE DE DOUTORADO

SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AO CÂNCER HEREDITÁRIO E
ESPORÁDICO NA POPULAÇÃO DE MONTE SANTO-BA

POLYANNA CARÔZO DE OLIVEIRA

Salvador-Bahia

2018

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e
Medicina Investigativa

SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AO CÂNCER HEREDITÁRIO E
ESPORÁDICO NA POPULAÇÃO DE MONTE SANTO-BA

POLYANNA CARÔZO DE OLIVEIRA

Orientadora: Prof^a. Dra. Kiyoko Abe-Sandes
Co-orientadora: Ivana Lúcia de Oliveira Nascimento

Tese apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Biotecnologia em
Saúde e Medicina Investigativa
para a obtenção do grau de Doutor.

Salvador-Bahia

2018

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

O48s Oliveira, Polyanna Carôzo.
Suscetibilidade genética ao câncer hereditário e esporádico na população de
Monte Santo-BA. / Polyanna Carôzo Oliveira. - 2018.
81 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Profª. Dra. Kiyoko Abe-Sandes, Laboratório de Imunologia da
Universidade Federal da Bahia.

Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) –
Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, 2018.

1. Polimorfismos. 2. Câncer. 3. Ancestralidade. 4. Genética Populacional.
Título.

CDU 616-006:575

" SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AO CÂNCER HEREDITÁRIO E ESPORÁDICO NA POPULAÇÃO DE MONTE SANTO-BA."

POLYANNA CARÔZO DE OLIVEIRA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 20 de setembro de 2018.

COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Dalila Luciola Zanette
Pesquisadora
IGM/FIOCRUZ



Dra. Clarissa Araújo Gurgel Rocha
Pesquisadora
IGM/FIOCRUZ



Dra. Renata Lúcia Leite Ferreira de Lima
Professora Adjunta
UFBA

Dedico essa tese às minhas avós: Agda
Silva Araújo de Oliveira (*in memoriam*) e
Eutália Carôzo Lima (*in memoriam*), por
toda herança genética e ética.

FONTES DE FINANCIAMENTO

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

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB

Instituto Nacional de Genética Médica - INAGEMP

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela minha vida, sustento, ensinamentos, perdão, refúgio e sabedoria.

Aos meus pais Gina e Pedro, por serem meus maiores incentivadores, pelo amor incondicional.

Ao meu esposo Marcel Lemos, por ser o meu companheiro de todas as horas, por seu amor e paciência. E a minha nova família, os Neiva-Lemos: Tio Geraldo, Tia Conce, Thaís e Maria Rosa.

A toda minha família, especialmente representada pelas minhas avós: materna, Eutália Carôzo, minha inspiração de mulher guerreira e temente à Deus e paterna, Agda Oliveira, mulher forte, sábia e alegre. Ambas faleceram durante meu doutorado e me ensinaram que a vida se vive o Presente.

As minhas amigas e irmãs: Danielle, Lis, Ane, Nayara e Poliana Moura pelo apoio emocional e presença constante em minha vida.

A minha orientadora Professora Kiyoko, pela confiança, paciência, ajuda, atenção, disponibilidade e exemplo de pesquisadora científica.

A professora Angelina, pela coordenação do projeto e ensinamentos científicos.

A Paula Brito e Juliana Côrtes, com quem compartilhei praticamente todas as dificuldades do doutorado e que se tornou uma grande amiga.

Aos colegas de laboratório: Gabriela Felix, Taisa Machado, Thais Bomfim que fizeram o grupo da Oncogenética um ambiente de muito aprendizado.

Aos colegas do grupo de Pesquisa de Monte Santo: Aruanã e Jéssica partilharam momentos importantes de viagens e discussões.

Aos dedicados estagiários Laércio e Jéssica pelo compromisso.

Ao amigo Marcos Silva e aos colegas da UNEB por todo apoio e suporte.

Aos participantes da pesquisa em Monte Santo, os quais, voluntariamente contribuíram para que este trabalho fosse realizado e depositaram a confiança em mim e na equipe.

Aos meus alunos, incentivo e pela compreensão.

A Secretaria de Saúde de Monte Santo e seus profissionais por toda infra estrutura disponível para as atividades, nem como o envolvimento de seus profissionais nas atividades desonvolvidas no município.

A UFBA, pelo apoio estrutural, especialmente ao Professor Roberto Meyer, responsável pelo Laboratório de Imunologia, local onde realizamos a parte laboratorial e Professora Ivana Lúcia Nascimento, coordenadora do grupo de Oncogenética do qual faço parte.

A Fiocruz, pelo apoio acadêmico e financeiro.

A Biblioteca de Ciências Biomédicas Eurydice Pires de Sant'Anna pelas correções da versão final da tese.

“Viver é adaptar-se”

Euclides da Cunha

OLIVEIRA, Polyanna Carôzo. Suscetibilidade genética ao câncer hereditário e esporádico na população de Monte Santo-BA. 2018. 82f. il. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) - Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2018.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O câncer é uma doença genética causada por mutações em genes que codificam proteínas importantes para a manutenção da homeostasia celular, como os que controlam do ciclo celular, os genes de reparo e os aqueles que fazem o metabolismo de xenobióticos. As mutações podem ser herdadas, caracterizando o câncer hereditário. Porém na maioria dos casos, o câncer é esporádico, pois as alterações ocorrem espontaneamente com o avanço da idade e influência de fatores ambientais. A frequência das mutações nos genes de suscetibilidade ao câncer pode ser diferente entre as populações. Em Monte Santo-BA, estudos anteriores sugerem que esta população apresenta importantes características que podem contribuir para o aumento de doenças genéticas raras, as quais também poderiam está relacionadas a ocorrência de câncer neste município. **OBJETIVO:** Avaliar a suscetibilidade genética ao câncer esporádico e identificar o perfil de mutações nos casos de câncer hereditários. **MATERIAIS E MÉTODOS:** A amostra é composta por 118 pacientes com diagnóstico de câncer (casos) e 286 sem história pessoal de câncer (controles). Dos casos 15 indivíduos tinham critérios para câncer hereditário e foram avaliados através de um painel mutigênico composto por 17 genes de suscetibilidade à diferentes tipos de câncer com perfil hereditário. E 103 com perfil de câncer esporádico (casos) bem como nos 286 controles foram estudados 20 polimorfismos do tipo INDEL em genes de suscetibilidade ao câncer e 64 marcadores informativos de ancestralidade. A ancestralidade foi estimada através do programa STRUCTURE e as análises estatísticas com uso do software R v3.1. Os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e responderam ao questionário. **RESULTADOS:** A análise de ancestralidade genética confirmou que a população é miscigenada e apresenta elevada contribuição europeia, seguida de africana e ameríndia (66,7%, 21,2% e 12,1%, respectivamente) e não houve diferença estatística entre casos e controles. O câncer foi associado ao risco aumentado para aqueles indivíduos com genótipos: Ins/Ins no polimorfismo *TP53* (rs17878362) ($p=0,027$, OR=2,05 e IC=1,1-4,0), e ao genótipo Del/Ins + Ins/Ins no polimorfismo *HLA-G* (rs371194629) ($p= 0,0078$, OR=2,9 e IC=1.35 – 6,61) e efeito protetor para aqueles com genótipo Ins/Ins no polimorfismo *PARI* (rs11267092) ($p=0,000587$ OR=0,39 e IC= 0,23 – 0,66). No grupo com perfil de cancer hereditário foi encontrada a mutação patogênica *MUTYH* p.(Gly396Asp) em um paciente com melanoma e história familiar para esse tipo de câncer. **CONCLUSÕES:** Os resultado sugerem que nesta população miscigenada a ocorrência de câncer esporádico foi associado a três polimorfismos em genes de suscetibilidade. A mutação patogênica no gene *MUTYH* pode explicar a ocorrência de câncer de pele com história familiar mas, estudos adicionais são necessários.

Palavras - Chave: Polimorfismos, Câncer, Gene, Ancestralidade, Genética de Populações

OLIVEIRA, Polyanna Carôzo. Genetic susceptibility to hereditary and sporadic cancer in the population of Monte Santo-BA. 2018. 82f. il. Thesis (Doctorate in Biotechnology in Health and Investigative Medicine) - Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2018.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Cancer is a genetic disease caused by mutations in genes that codify proteins important in maintain cellular homeostasis, likewise those that control the cell cycle, repair genes and those that do xenobiotic metabolism. The mutations can be inherited, characterizing the hereditary cancer. Though, most cancer cases are sporadic, with aging process as well environmental factors. Mutations frequencies in cancer susceptibility genes can be different among populations. In Monte Santo-BA, previous studies suggested that this population has important aspects that contribute to the increasing of rare genetic disorders, which also could be associated with the incident of cancer in this county. **OBJECTIVE:** Evaluate the genetic susceptibility to sporadic cancer and identify the mutation profile in hereditary cancer cases. **MATERIALS AND METHODS:** The sampling was made-up of 118 patients diagnosed with cancer (cases) and 286 individuals without personal history of cancer (controls). Fifteen individuals among the cases were in hereditary cancer criteria and were assessed with a multigenic panel of 17 susceptibility genes associated with different types of hereditary cancer. One-hundred and three cases with sporadic profile and 286 controls were assessed by the analysis of 20 *INDEL* polymorphisms in cancer susceptibility genes besides sixty-four ancestry informative markers. The ancestry was estimated with *STRUCTURE* package and the statistical analysis were done with R software v3.1. All participants signed an informed consent and answer a standardized questionnaire. **RESULTS:** Ancestry genetic analysis confirmed that the population is admixed and has high European contribution, followed by African and Amerindian ancestry (66.7%, 21.2% and 12.1%, respectively) with no statistical differences between cases and controls. The cancer was associated with increasing in risk to those with the next genotype: Ins/Ins polymorphism in *TP53* (rs17878362) ($p=0.027$, OR=2.05 and CI=1.1-4.0), and Del/Ins + Ins/Ins polymorphisms in *HLA-G* (rs371194629) ($p= 0.0078$, OR=2.9 and CI=1.35 – 6.61); and protection effect to those with the genotypes Ins/Ins polymorphism in *PARI* (rs11267092) ($p=0.000587$ OR=0.39 and CI= 0.23 – 0.66). In the group with profile of hereditary cancer was found a pathogenic mutation *MUTYH* p.Gly396Asp in one patient with personal and familial history of melanoma. **CONCLUSION:** The results suggest that in this admixed population the occurrence of sporadic cancer is associated with three polymorphisms in susceptibility genes. Pathogenic mutation in *MUTYH* gene can explain the occurrence of skin cancer in individuals with familial history, though additional studies are needed.

Key words: Polymorphisms, Cancer, Ancestry, Genetics of populations

SUMÁRIO

1	INDRODUÇÃO	11
1.1	MONTE SANTO E DOENÇAS GENÉTICAS	11
1.2	CÂNCER: CONCEITO E EPIDEMIOLOGIA	12
1.3	BASES BIOLÓGICAS E GENÉTICAS DO CÂNCER	14
1.3.1	Oncogenes	14
1.3.2	Genes supressores tumorais	15
1.4	CÂNCER ESPORÁDICO E HEREDITÁRIO	15
1.4.1	Câncer hereditário	16
1.4.2	Câncer esporádico	18
1.5	ANCESTRALIDADE E CÂNCER	20
2	OBJETIVOS	23
2.1	GERAL	23
2.2	ESPECÍFICOS	23
	CAPÍTULO 1	
3	MANUSCRITO 1: TRIAGEM DE MUTAÇÕES EM GENES DE SUSCETIBILIDADE CÂNCER HEREDITÁRIO EM PACIENTES DO NORDESTE DO BRASIL	24
	CAPÍTULO 2	
	MANUSCRITO 2: ASSOCIAÇÃO ENTRE SNPs EM DIFERENTES GENES DE SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AO CÂNCER EM POPULAÇÃO NO NORDESTE DO BRASIL	41
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
5	REFERÊNCIAS	69
	APÊNDICE A - Questionário de entrevista dos pacientes	73
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	75
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	79

1 INTRODUÇÃO

1.1 MONTE SANTO E DOENÇAS GENÉTICAS

Monte Santo é um município localizado no estado da Bahia, com população de aproximadamente 52.360 habitantes (IBGE, 2010). O município possui 16 equipes do Programa de Saúde da Família (PSF) que fazem a cobertura assistencial de 95% de cerca de 13.299 famílias distribuídas em mais de 400 povoados. Desde o ano de 2006 inúmeros estudos foram realizados nesta população, evidenciando a elevada frequência de doenças genéticas, como a Mucopolissacaridose tipo VI (MPS VI) e surdez congênita não sindrômica (COSTA-MOTTA et al., 2011, 2014, MANZOLI et al., 2013, 2016). Devido à esses estudos, foi possível estabelecer um programa inédito de triagem neonatal para MPS VI no município, e reforçou a necessidade de um amplo programa de genética comunitária para esta área (ACOSTA et al., 2013). Além dessas, foram estudadas doenças genéticas como síndrome de Treacher Collins, hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria e osteogênese imperfeita (MACHADO et al., 2012).

Para compreender a estrutura dessa população foram avaliados 9.765 casamentos ao longo de três períodos (1860-1895, 1950-1961 e 1975-2010), a partir de registros disponíveis nos livros paroquiais da cidade. Esse estudo revelou elevada taxa de consanguinidade (37,1%, 13,2% e 4,2%, para cada período descrito acima) bem como alta taxa de endocruzamento (93,7%, 99,1%, 88,0% para cada período). Esses fatores indicam que o crescimento dessa população é predominantemente interno, o que pode explicar a ocorrência e aumento da frequência, de doenças genéticas recessivas na localidade (MACHADO et al., 2012).

Além disso, estudo piloto (comunicação pessoal), realizado com 5149 famílias atendidas pelo PSF, identificou que, em 2011, 15,85% dos casais residentes no município eram consanguíneos. Este estudo também observou que a cada 100 famílias, 3,7 possuíam algum morador com algum grau de deficiência auditiva, 9,2 com algum grau de deficiência mental, 8,8 com algum morador que em algum momento teve algum tipo de câncer.

A partir dos resultados e evidências sugeridas por esses estudos iniciais, foi criado em 2014 o projeto CENSO "GENÉTICA NO SERTÃO": EPIDEMIOLOGIA CLÁSSICA E MOLECULAR DE DOENÇAS GENÉTICAS NO MUNICÍPIO DE MONTE SANTO-BA. Esse projeto teve como objetivo fazer o recenseamento da população para triar indivíduos com doenças/deficiências de possível etiologia genética e encaminhá-los

ao atendimento com geneticista para que, após a confirmação da suspeita, fossem solicitados exames confirmatórios. As deficiências/doenças incluídas na avaliação foram: deficiência intelectual (DI), deficiência auditiva (DA), defeito congênito (DC), erros inatos do metabolismo e câncer.

1.2 CÂNCER: CONCEITO E EPIDEMIOLOGIA

O câncer é uma desordem genética causada por mutações no DNA que (em sua maior parte) são adquiridas espontaneamente ou induzidas por agentes ambientais. O acúmulo de mutações dá origem a uma série de propriedades que incluem: autossuficiência nos sinais de crescimento, ausência de resposta aos sinais inibidores de crescimento, evasão da morte celular, potencial replicativo ilimitado, desenvolvimento da angiogênese, capacidade de invadir tecidos locais e disseminar-se para locais distantes, reprogramação das vias metabólicas e capacidade de escapar do sistema imune (HANAHAN, WEINBERG et al., 2011; KUMAR et al., 2013).

De acordo com Danaei et al. (2005), mais de um terço das mortes por câncer no mundo podem ser atribuídas a nove fatores de risco potencialmente modificáveis: tabagismo, consumo de álcool, baixo consumo de frutas, legumes e verduras, inatividade física, sobrepeso e obesidade, fumaça proveniente da queima de combustíveis sólidos em ambientes fechados, poluição urbana do ar, sexo sem proteção e injeções contaminadas em unidades de saúde. Entre estes, tabagismo, baixo consumo de frutas, legumes e verduras e consumo de álcool são os principais fatores de risco para morte por câncer em países de baixa e média renda. Estima-se que, nestas regiões, o tabagismo seja responsável por 18% das mortes por câncer; o baixo consumo de frutas, legumes e verduras, por 6%; o consumo de álcool, por 5%.

As projeções feitas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) estimam que os casos de câncer devam aumentar a cada ano. Para o ano 2030, são esperados 27 milhões de casos incidentes e 17 milhões de mortes por câncer, especialmente em países em desenvolvimento como o Brasil. Para 2018/2019, a estimativa de ocorrência de novos casos de câncer no país foi de aproximadamente 600 mil (INCA, 2017). Esse aumento está de acordo com as mudanças no perfil demográfico brasileiro, onde se observa processo de envelhecimento populacional, redução da mortalidade infantil e da mortalidade por doenças infectocontagiosas, aliados a novos estilos de vida e exposição a fatores de risco (INCA, 2014).

No Brasil, excetuando-se o câncer de pele não-melanoma, os cânceres mais incidentes na população foram, em homens: próstata (28,6%), pulmão (8,1%), intestino (7,8%), estômago (6,0%) e cavidade oral (5,2%); e nas mulheres: os cânceres de mama (28,1%), intestino (8,6%), colo do útero (7,9%), pulmão (5,3%) e estômago (3,7%) (INCA, 2017).

Na Bahia, as estimativas para o ano de 2018 são de 12.900 casos novos de câncer por 100 mil habitantes entre os homens e 12.530 casos novos por 100 mil habitantes entre as mulheres, sendo os mais frequentes para homens (exceto pele não melanoma): próstata, estômago e traqueia, brônquio e pulmão; e para as mulheres: mama, colo do útero e colorretal (INCA, 2017).

Em relação à assistência hospitalar ao câncer, na Bahia houve aumento de 22,5% no número de internações de pacientes com câncer entre 2008 e 2018 (Quadro I), de acordo com dados obtidos no Sistema de Informações Hospitalares do SUS (DATASUS, 2016). Nesse período, os tipos de câncer mais frequentes nas internações foram: mama, próstata, tecidos moles, leucemia, cabeça e pescoço, colo de útero, estômago, pele, ginecológico (exceto útero) e colorretal. (DATASUS, 2016). Porém, nem todas as cidades baianas apresentam esse mesmo perfil.

No município de Salvador, no mesmo período houve aumento 18,9% e em Monte Santo de 56,9% no número de internações por câncer (Quadro I). Além disso, quatro entre os dez tipos de câncer mais comuns em Monte Santo são diferentes daqueles incluídos na lista dos dez mais comuns no estado da Bahia, sendo eles: ossos e cartilagens, traqueia, brônquios e pulmões e bexiga (DATASUS, 2016).

Quadro 1 - Número de internações de pacientes com câncer em hospital de referência por local de procedência, no período de 2008 a 2018.

Procedência	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Bahia	34538	35119	38042	40660	42456	42431	45971	44647	48075	48741	44325
Salvador	8901	9538	10702	12410	12489	12266	12452	12419	12067	12354	10587
Monte Santo	72	110	107	96	117	98	160	110	95	129	113

Fonte: Sistema de Informações Hospitalares do SUS.

1.3 BASES BIOLÓGICAS E GENÉTICAS DO CÂNCER

O câncer é uma doença genética, caracterizada por alterações no material genético que leva a ausência dos mecanismos de apoptose e assim, ocasionando proliferação celular descontrolada. Na origem do processo da carcinogênese uma mutação ocorre em uma célula ancestral, da qual descende uma população de células anormais que evoluem à medida que adquirem novas alterações genéticas e epigenéticas que lhes conferem vantagem seletiva em relação às células vizinhas. Desse modo, o novo grupo celular torna-se mais apto à sobrevivência em um ambiente cada vez mais restritivo, com baixo nível de oxigênio, escassez de nutrientes e com barreiras naturais ao crescimento antepostas pelo tecido normal adjacente (ALBERTS et al., 2010).

As principais mutações que conferem vantagem à homeostasia se referem àquelas que diminuem estabilidade genética e celular, bem como a capacidade de reparo genético. Assim, a carcinogênese depende do acúmulo de mutações em genes considerados críticos ao desenvolvimento da doença como oncogenes e os genes supressores de tumores (NUSSBAUM, 2008). Porém, nem sempre a mutação nesses genes é suficiente para causar o câncer, visto que em alguns desses genes a mutação pode apresentar penetrância incompleta. Os genes de alta penetrância são aqueles que, quando mutados, conferem elevado risco individual, em contrapartida, são pouco frequentes na população. Ao contrário, mutações em genes de baixa penetrância apresentam reduzido risco individual, portanto são frequentes na população e nesse caso, para o desenvolvimento do câncer os fatores externos são relevantes (SHIELDS; HARRIS, 2000).

1.3.1 Oncogenes

Os genes estão envolvidos com o crescimento e a sobrevivência da célula e quando mutados se transformam em oncogenes, os quais codificam proteínas alteradas que passam a superestimular a proliferação celular e/ou inibir a apoptose. Assim, como as mutações em uma única cópia de um proto-oncogene podem ter efeito dominante na promoção do crescimento celular, são consideradas mutações de *ganho de função* (ALBERTS et al., 2010; NUSSBAUM, 2008).

Podem tornar-se oncogenes os fatores de crescimento (ex. SIS- Fator de crescimento derivado de plaquetas), receptores de superfície celular (ex. ERBB - Receptor para fator de crescimento epidérmico), componentes dos sistemas de transdução

de sinais intracelulares (ex. RAS, ABL), fatores de transcrição e componentes da rede das ciclinas (ex. MYC, JUN – ativadores de transcrição), quinases ciclino-dependentes e inibidores de quinases, que coordenam a progressão da divisão celular (p. ex. MDM2). Os mecanismos de ativação de oncogenes incluem mutações de ponto, amplificação gênica e rearranjo cromossômico tais como translocações e inversões (HONG; HOLLAND, 2010).

1.3.2 Genes supressores tumorais

Os genes supressores de tumor podem ser classificados em “controladores” (gatekeepers) ou “de manutenção” (caretakers). Os primeiros, codificam proteínas que regulam os pontos de checagem no ciclo celular ou promovem a apoptose e o outro grupo de genes codifica proteínas responsáveis pela detecção e pelo reparo das mutações. Assim, alterações em supressores tumorais permitem o acúmulo de novas mutações ao longo do genoma. Para que ocorra a inativação funcional das proteínas codificadas por estes genes, as mutações devem ocorrer em homozigose, o que levam a *perda de função* da proteína (ALBERTS et al., 2010; THOMPSON; THOMPSON, 2008).

Entre os produtos dos genes supressores tumorais encontram-se: proteínas que inibem a progressão celular de um estágio específico do ciclo (ex. p16 – inibidor de ciclinoquinase); receptores para hormônios secretados que funcionam para inibir a proliferação celular (ex. TGF β – inibidor de proliferação celular), proteínas pró-apoptóticas (ex. p53); controladoras de “pontos de checagem” que garantem a precisão da replicação, segregação e reparo do DNA (ex. ATM – sinalizador intracelular de reparo) e enzimas que participam do reparo do DNA (ex. XPF - reparo por excisão de nucleotídeos) (HONG; HOLLAND, 2010).

1.4 – CÂNCER ESPORÁDICO E HEREDITÁRIO

As mutações genéticas que predisõem ao câncer podem ocorrer nos dois tipos de linhagens celulares e assim determinar importantes características com relação ao risco de desenvolver a doença. Na maioria dos tumores (cerca de 90%) elas ocorrem em células somáticas caracterizando os tipos de câncer esporádicos, nos quais as mutações são adquiridas ao longo da vida. Porém, algumas mutações (de 3 a 5%) podem ser herdadas, caracterizando o câncer hereditário, onde a idade da ocorrência do tumor é precoce, pois

o indivíduo já herda a mutação crítica (STRATTON; RAHMAN, 2008; RAMAMURTHY et al., 2017).

As mutações nos genes que predisõem ao câncer esporádico e hereditário variam com relação a penetrância. Os genes que geralmente estão associados as síndromes de predisposição hereditária ao câncer são aqueles denominados de alta penetrância e mostram padrão de herança autossômico dominante. Já os que contribuem mais amplamente para os cânceres esporádicos são os considerados de baixa penetrância e o padrão de herança é multifatorial. Estes também são considerados genes modificadores pois podem alterar os efeitos dos genes de alta penetrância (ANKATHIL, 2008; SHIELDS; HARRIS, 2000).

1.4.1 Câncer hereditário

O câncer hereditário pode ser classificado a partir de alguns critérios definidos por Berliner e Fay (2007), como: 1) a ocorrência da doença apresenta características de herança aparentemente autossômica dominante; 2) a idade de acometimento é mais precoce do que esperado para aquele tipo específico; 3) podem aparecer vários cânceres primários em um indivíduo; 4) pode ocorrer aglomerados de cânceres raros; 5) o câncer pode ser bilateral ou multifocal; 6) parentes de primeiro grau apresentam risco de 50% de ter a mesma mutação; 7) a penetrância do gene que causa a doença é incompleta e a expressividade é variável e 8) o risco para aqueles que não têm a mutação familiar é o mesmo da população em geral.

Os indivíduos com síndrome do câncer hereditário representam, provavelmente, entre 3 a 5% de todos os pacientes com câncer, porém, a identificação da base genética para estas neoplasias tem grande importância especialmente para o acompanhamento e inclusão em programas de redução de risco e/ou prevenção do câncer para aquela parcela da população que possuem alto risco de desenvolvimento de câncer (RAMAMURTHY; et al., 2017). O desenvolvimento de testes moleculares de diagnóstico de predisposição hereditária para diferentes tipos de câncer estimularam o desenvolvimento de programas de avaliação clínica e aconselhamento genético de famílias em risco (GREEN et al., 2018). Existem síndromes mendelianas de câncer, nas quais o risco de câncer entre familiares é muito alto (INCA, 2009). Na maioria dessas síndromes, ocorrem principalmente mutações patogênicas em alguns genes específicos os quais apresentam

média e alta penetrância (3 a 5% da população) e muitos dos quais são inclusos em testes genéticos e painéis hereditários multigênicos (Quadro 2):

Quadro 2 - Síndromes de câncer hereditário e principais genes associados

Gene	Localização	Função	Síndromes e Neoplasias
<i>BRCA1</i>	17q21	Supressor tumoral/ Reparo de DNA	Síndrome de câncer de mama e ovário hereditários (HBOC)
<i>BRCA2</i>	13q13	Supressor tumoral/ Reparo de DNA	Síndrome de câncer de mama e ovário hereditários (HBOC)
<i>hMSH2</i>	2p16	Reparo de DNA	Câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC)
<i>hMLH1</i>	3p21	Reparo de DNA	Câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC)
<i>hPMS1</i>	2q31-33	Reparo de DNA	Câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC)
<i>hPMS2</i>	7p22	Reparo de DNA	Câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC)
<i>APC</i>	5q22	Supressor tumoral	Polipose adenomatosa familiar (PAF)
<i>TP53</i>	17p13	Supressor tumoral	Síndrome de Li-Fraumeni
<i>PTEN</i>	10q22-23	Supressor tumoral	Síndrome de Cowden e Bannayan-RileyRuvalcaba
<i>MENIN 1</i>	11q	Supressor tumoral	Neoplasia endócrina múltipla tipo 1
<i>RET</i>	10q	Oncogene	Neoplasia endócrina múltipla tipo 2A ou 2B
<i>NF1</i>	17q11	Supressor tumoral	Neurofibromatose-1
<i>NF2</i>	22q	Supressor tumoral	Neurofibromatose-2
<i>VHL</i>	3p25-26	Supressor tumoral	Doença de Von Hippel-Lindau
<i>RB1</i>	13q14	Supressor tumoral	Retinoblastoma hereditário
<i>CDKN2</i>	9p21	Supressor tumoral	Melanoma familiar
<i>CDK4</i>	12q13	Oncogene	Melanoma familiar
<i>WT1</i>	11p	Supressor tumoral	Tumor de Wilms hereditário

Fonte: INCA, 2009; KATABATHINA et al., 2017

Tradicionalmente, o modelo de avaliação de risco de câncer hereditário utiliza uma série de critérios clínicos, combinando a história pessoal e familiar do câncer com fatores de risco adicionais (HAMPEL et al., 2015). O conhecimento genético sobre estas síndromes possibilitou estabelecer testes moleculares que investigam genes de

suscetibilidade, especialmente quando os critérios clínicos estão bem estabelecidos. Porém, a investigação de sucessivos genes candidatos pode ser uma abordagem dispendiosa e demorada quando se considera síndromes com sobreposição de fenótipos ou em situações onde há apresentações atípicas ou história familiar incompleta. Nesses casos, a investigação de painéis multigênicos para diferentes tipos de câncer é considerada a opção mais adequada na investigação da síndrome e para a tomada de decisões clínicas (DOMCHEK et al., 2013).

1.4.2 Câncer esporádico

Os indivíduos com perfil de câncer esporádico apresentam os seguintes critérios: 1) a ocorrência do câncer na família é provavelmente devido a causas não hereditárias; 2) a idade de ocorrência do câncer é tardia > 50 anos; 3) mesmo que haja mais do que um caso na família, não há um padrão particular de herança e 4) há baixa probabilidade de que os testes de suscetibilidade genética encontrem uma mutação que explique a ocorrência da doença na família (BERLINER; FAY 2007).

As mutações em genes de suscetibilidade ao câncer em células somáticas podem ser classificadas de acordo com as consequências para a célula em: mutações “driver”, a qual está diretamente envolvida na carcinogênese, por conferir vantagem de crescimento às células cancerígenas, e as mutações “passenger”, que não conferem vantagem de crescimento, mas são transportadas ao longo da expansão clonal e, portanto, estarão presentes em todas as células do câncer *in situ*. Estes dois tipos de mutações ajudam entender o perfil clínico do tumor, sua resposta às drogas e a resistência ao tratamento quimioterápico (STRATTON et al., 2009).

Os trabalhos de Vogelstein et al. (2013) e de Kandoth et al. (2013) consideraram que, para a maioria dos tumores são necessárias de 2 a 8 mutações “driver” sequenciais ao longo de 20 a 30 anos para transformar células normais em neoplásicas. Ao contrário, o número de mutações “passenger” excede o número de mutações “driver” e testá-las funcionalmente, após a detecção pelo sequenciamento de nova geração, seria impraticável. Desse modo, o desenvolvimento de métodos de bioinformática para prever mutações “drivers” e assim, testá-las funcionalmente parece mais plausível (PON; MARRA, 2014).

Nos últimos anos, a identificação de genes que carregam mutações “driver” tem sido, cada vez mais o objeto de pesquisa do câncer. Com as informações disponíveis na

literatura foram identificados em 2010, 522 genes que contem mutações “driver” que estão relacionados no *Catalogue of Somatic Mutations in Cancer* (COSMIC) (FORBES et al., 2010). Porém, essa lista vem aumentando e de acordo com recente levantamento no site <https://cancer.sanger.ac.uk/census>, revisada em julho de 2018, já constam 574 entradas para mutações somáticas com evidências de alteração da atividade do produto gênico possível de transformação oncogênica. Esse levantamento, porém, parece superestimar a quantidade de genes biologicamente mais confiáveis para prever o desenvolvimento do câncer (PON; MARRA, 2014).

Nesse contexto, o trabalho de Tamborero et al. (2013), utilizou 4 modelos matemáticos que avaliam tanto a frequência quanto a predição da função proteica para identificar genes candidatos mais confiáveis, diferentemente do censo COSMIC, que utiliza apenas um modelo. A partir da avaliação de 12 tipos diferentes de tumores em órgãos variados (mama, pulmão, útero, cabeça e pescoço, cólon e reto, bexiga, rins, ovário e sangue), os autores conseguiram identificar 291 genes, dos quais 165 genes não estavam presentes no censo catalogado no COSMIC. Além disso, 16 genes apresentam ocorrência mais exclusivamente em um tipo de tumor. De maneira semelhante, avaliando os mesmos tipos tumorais, Kandath et al. (2013) identificaram 127 genes com mutações “driver”, das quais 66 já estavam na lista COSMIC. Com o mesmo objetivo, Fujimoto et al. (2016) analisaram 21 tipos de tumores diferentes e identificaram 106 genes, 54 dos quais não estão identificados no censo COSMIC. Apesar da heterogeneidade de genes que podem ser responsáveis por englobar mutações “drivers”, 27 genes foram comumente frequentes nos três estudos supracitados, além da presença na listagem do banco de dados da COSMIC.

Variantes nos genes relacionados à suscetibilidade ao câncer esporádico, já pode ter sido herdado pelos indivíduos e isso aumenta a predisposição à ocorrência de novas mutações do tipo *passenger* ou *driver*. São considerados genes de suscetibilidade ao câncer aqueles relacionados às funções biológicas como: metabolismo e biotransformação (*CYP2E1*, *CYP19A1* e *UGT1A1*), genes de controle do sistema imunológico e resposta inflamatória (*IL1A* e *IL4*), genes que regulam a função de genes de controle do ciclo celular e do sistema imunológico (*MDM2* e *NFKB1*), genes de reparação do DNA (*TYMS* e *XRCC1*), gene regulador da apoptose (*CASP 8*), gene regulador da homeostasia (*PARI*) e gene de controle do ciclo celular (*TP53*). Portanto, a análise de variantes nesses genes é importante para avaliar o perfil de suscetibilidade genética ao câncer individual e/ou populacional e assim, conhecer quanto e quais dessas

variantes já estavam presente no genoma do indivíduo antes dele desenvolver o tumor. E dessta maneira, será possível estabelecer associações entre determinados variantes e o perfil de risco para o câncer ou determinados tipos de tumor (MARQUES et al., 2016; AMADOR et al., 2016).

1.5 ANCESTRALIDADE E CÂNCER

O estudo do câncer é uma área na qual a ancestralidade de diferentes populações geneticamente definidas começaram a impactar não só no entendimento da etiologia da doença, mas também nos de protocolos de pesquisa e tratamento médico. Centenas de mutações já foram identificadas nos genes *BRCA* especialmente associadas ao risco de câncer de mama e ovário hereditário, algumas das quais estão fortemente associadas ou são conhecidamente definidas como mutações fundadoras de alguns grupos populacionais específicos, como os judeus Ashkenazi (GIBBON, 2016). No Brasil, alguns estudos identificaram mutações em *BRCA* que aumentam o risco genético relacionado ao câncer de mama e encontraram prevalência entre 3,4% e 9%. Algumas dessas variantes são novas e desconhecidas e outras, no entanto, já foram encontradas em populações de judeus Ashkenazi, espanhóis da Galícia ou em grupos de origem africana, refletindo o caráter miscigenado da população. Estes achados mostram a importância de conhecer a ancestralidade genética e o perfil mutacional para otimizar o rastreamento clínico de população particulares (ACHATZ et al., 2007; PASKULIN et al., 2015).

Outro exemplo é a mutação p.R337H (c.1010G>A) no gene *TP53* descrita na literatura com elevada frequência em populações brasileiras com considerável contribuição europeia. Esta mutação foi associada com câncer adrenocortical em crianças no Sul do país, e sua frequência foi estimada em 0,3% através de triagem populacional realizada em crianças recém-nascidas nesta região (RIBEIRO et al., 2001; ACHATZ et al., 2007). Na Bahia, Felix et al. (2014) também identificou esta mutação em mulheres com câncer de mama, com elevada ancestralidade europeia, sugerindo a necessidade de ampliação da investigação dessa mutação no país.

A ancestralidade genética de uma população é determinada através da análise de marcadores de DNA informativos de ancestralidade (AIMs), que são assim denominados por apresentarem diferencial de frequência superior a 30% em populações geograficamente distintas (PARRA, et al., 1998, SHRIVER et al., 2003). A análise destes

marcadores é importante para descrição da diversidade genética populacional, reconstrução histórica dos povoamentos (CALLEGARI-JACQUES; SALZANO, 1999) e estimativa de contribuição percentual das populações ancestrais na formação de populações miscigenadas (SHRIVER et al., 2003; PARRA, E., et al., 1998; PARRA, E., et al., 2001; TSAI et al., 2006) estudos de mapeamento genético e associação com doenças (SHRIVER, 1997).

A estruturação genética da população brasileira foi modelada a partir da mistura que ocorreu entre os grupos de ameríndios, africanos e europeus (SALZANO; FREIRE-MAIA, 1967). Estudos recentes utilizando um amplo número de AIM estimam que a ancestralidade europeia e africana contribuem com proporções similares (~40%) para a formação da população brasileira (SANTOS et al., 2016). Porém, a miscigenação que ocorreu no país não mostra padrão uniforme de distribuição ao longo das regiões e cidades (GIOLO et al., 2012). Assim, com o uso de AIMS, verificou-se que mais de 70% da contribuição genética no Sul e Sudeste do país é de ancestralidade europeia, enquanto que no Nordeste a contribuição africana é maior do que 50% (KEHDY et al., 2015).

Poucos estudos foram realizados para inferir a diversidade ancestral a partir de dados genéticos na população baiana. Alguns trabalhos foram realizados, por exemplo, em remanescentes de quilombos (ABÉ-SANDES et al., 2004; BARBOSA et al., 2006). Em Salvador, Machado (2008) estudou 1286 indivíduos utilizando de 10 AIMS e encontrou que a contribuição africana, europeia e ameríndia foi 49,2%, 36,3% e 14,5%, respectivamente, porcentagem semelhante ao que foi observada no estudo de Felix et al. (2010) em uma amostra de doadores de sangue na população da Bahia. Os mesmos marcadores foram analisados em uma amostra de 517 indivíduos da Bahia composta por brancos (17,2%), mulatos (77,5%) e negros (4,3%), classificados fenotipicamente. Nesse trabalho, foi observado que a contribuição africana foi 30% nos indivíduos classificados como brancos; 47% nos mulatos em geral, sendo 33% nos mulatos claros, 50% nos mulatos médios e 62% nos mulatos escuros; e 62% nos negros (BOMFIM, 2008). Além disso, outro trabalho que avaliou pacientes com câncer de próstata no estado da Bahia e encontrou elevada contribuição europeia (EU) e africana (AF) entre casos (47% EU; 38% AF) e controles (41% EU; 43% AF) (OLIVEIRA, 2013).

A proporção de ancestralidade africana na Bahia é mais evidente em cidades que tiveram relevante importância econômica no início da colonização, como na capital Salvador e algumas cidades da Chapada Diamantina, em virtude da maior concentração africana como mão-de-obra escrava. Em contrapartida, ocorre o fenômeno de

“branqueamento” da população à medida se afasta do litoral, uma vez que a exploração econômica nestas áreas era reduzida (AZEVEDO et al., 1982). Em Monte Santo, município localizado a 320 Km de Salvador, a análise de ancestralidade genética em uma amostra de pacientes (com diferentes doenças genéticas) e uma amostra controle foi encontrada maior contribuição de ancestralidade europeia entre os casos e controles (61,3% e 63,5%), respectivamente). Vale ressaltar que 20,7% dos casos e 55,6% dos controles se autodenominaram como brancos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Verificar a suscetibilidade genética ao câncer em Monte Santo, Bahia.

2.2 ESPECÍFICOS

- Rastrear mutações em genes de suscetibilidade nos indivíduos com perfil para câncer hereditário;
- Verificar associação entre marcadores genéticos e suscetibilidade a câncer esporádico;
- Determinar a ancestralidade da população estudada e verificar a associação com as mutações identificadas e/ ou marcadores de suscetibilidade associados

CAPÍTULO 1: Inclui o Manuscrito 1 que avalia a triagem de mutações em genes de suscetibilidade em indivíduos com perfil para câncer hereditário.

Situação do manuscrito: Ainda não submetido à publicação

MANUSCRITO 1**TRIAGEM DE MUTAÇÕES EM GENES DE SUSCETIBILIDADE CÂNCER
HEREDITÁRIO EM PACIENTES DE UMA REGIÃO COM ALTA
CONSANGUINIDADE**

Polyanna Carôzo de Oliveira^{1,2}; Danniell Sann Dias da Silva¹; Paula Brito Correa^{1,4}; Angelina Xavier Acosta^{1,4}; Taísa Manuela Bonfim Machado-Lopes³; Thais Ferreira Bomfim-Palma³; Ândrea Ribeiro-dos-Santos⁵, Sidney Santos⁵; Roberto José Meyer Nascimento³; Ivana Lúcia de Oliveira Nascimento³; Kiyoko Abe-Sandes^{1,3}

1. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa do Instituto Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (PPGBSMI – CPqGM/FIOCRUZ)
2. Departamento de Ciências da Vida, Universidade Estadual da Bahia, (DCV-UNEB)
3. Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS/UFBA)
4. Serviço de Genética Médica, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos (HUPES/UFBA)
5. Laboratório de Genética Humana e Médica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, (UFPA)

RESUMO

O câncer é uma doença multifatorial dependente da influência de fatores genéticos e ambientais. Cerca de 3 a 5% dos cânceres estão associados à presença de mutações germinativas, as quais predisõem a maior risco de desenvolver câncer. Atualmente, o uso de painéis que identificam genes de suscetibilidade e / ou associação com câncer vem sendo cada vez mais utilizado, tanto na prática clínica quanto na pesquisa científica. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar mutações genéticas em pacientes com perfil para câncer hereditário em indivíduos de uma região do Nordeste Brasileiro, onde há alta frequência de casamentos endógenos e consanguíneos. Para esta pesquisa, um conjunto de 17 genes (*BRCA1*, *BRCA2*, *APC*, *TP53*, *PTEN*, *RET*, *VHL*, *RB1*, *CDKN2*, *CDH1*, *CHECK2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *XPA* e *XPC*) associados à diferentes tipos de câncer e síndromes hereditárias. Quinze pacientes com um perfil de câncer hereditário (história familiar e/ou idade menos que 50 anos) foram avaliados. A variante patogênica encontrada foi c.1187G> A (p.Gly396Asp), rs36053993 no gene *MUTYH* em um paciente do sexo masculino com diagnóstico de melanoma aos 43 anos e história familiar do tumor. Esse gene codifica uma importante enzima relacionada ao reparo do DNA e tem sido associado a outros tipos de câncer, mas não ao melanoma, embora haja plausibilidade biológica para essa associação, uma vez que a proteína *MUTYH* é expressa no tecido da pele e é responsável pelo reparo dos danos causados por exemplo, pela exposição solar. Assim, os resultados

deste estudo sugerem que essa mutação pode ser importante para a predisposição hereditária ao melanoma, mas uma investigação mais ampla dessa mutação é necessária.

INTRODUÇÃO

Todo câncer é causado por alterações no material genético, porém apenas uma pequena proporção (3 a 15%) deles ocorrem devido à mutações herdadas (RAMAMURTHY, 2017). Nesse caso, a identificação de indivíduos portadores de variantes patogênicas em genes de suscetibilidade ao câncer hereditário permitem o rastreio precoce bem como a adoção de medidas preventivas (DALY et al., 2017).

Os testes de diagnóstico molecular para o câncer hereditário, tradicionalmente restringia-se a análise de um ou poucos genes, selecionados a partir da síndrome identificada na família (KATSANIS; KATSANIS, 2013). Porém, a suscetibilidade ao câncer pode ocorrer devido à uma ou mais mutações em um dos vários diferentes genes relacionados ao desenvolvimento tumoral (não necessariamente relacionado à suspeita clínica) (DOMCHEK et al., 2013). Devido a heterogeneidade genética, nem sempre a mutação responsável pela doença está em um gene classicamente relacionado aquela síndrome, por exemplo *BRCA1* e *BRCA2* na Síndrome do Câncer de Mama e Ovário Hereditário (GARDNER et al., 2018; KATSANIS; KATSANIS, 2013). Desse modo, o Sequenciamento de Nova Geração (NGS) tem preenchido estas lacunas através da avaliação multigênica, além de apresentar eficiência de custo e tempo de análise (PRICE et al., 2018).

Os critérios utilizados para selecionar pacientes com risco para câncer hereditário, muitas vezes está baseado na história familiar auto-referida (SELKIRK et al., 2014). Porém, a ausência de documentos comprobatórios (registros médicos, atestado de óbito) podem diminuir a confiabilidade das informações e assim restringir o uso dessa ferramenta na prática clínica e na tomada de decisão sobre recomendações de vigilância primária e intervenções preventivas (QURESHI et al., 2009). Porém, no Brasil, Flória-Santos et al. 2016 sugeriram que para indivíduos de média e baixa renda o uso dessas informações, mesmo sem documentos comprobatórios tem sido útil para as políticas de triagem, visando identificar indivíduos com risco para câncer.

Para o presente estudo, foi selecionada uma amostra de pacientes diagnosticados com câncer que residem em Monte Santo, um município localizado na região nordeste do Brasil. Este município é caracterizado pelo baixo nível de

escolaridade, situação de extrema pobreza, baixa taxa de imigração, alta taxa de endogamia e consanguinidade (MACHADO et al., 2012). Além disso, em Monte Santo foi observado que algumas doenças genéticas raras apresentam frequência elevada, por exemplo mucopolissacaridose tipo VI (1:5.000 em Monte Santo, chegando a 1:1.500.000 no mundo) (COSTA-MOTTA et al., 2014). Devido às características desta população, o nosso grupo iniciou um projeto de Genética Comunitária que inclui o recenseamento de doenças/deficiências com provável etiologia genéticas na população como deficiência intelectual, erros inatos de metabolismo, defeito congênito, deficiência auditiva e câncer., Assim, o objetivo do trabalho foi investigar perfil mutacional de pacientes com suspeita de câncer hereditário utilizando um painel multigênico através de sequenciamento de nova geração.

METODOLOGIA

Amostra

Durante o período de Agosto de 2014 a Junho de 2016, 15 pacientes com diagnóstico de qualquer tipo de câncer no município de Monte Santo, Bahia (Nordeste do Brasil) foram incluídos no estudo. Estes pacientes apresentavam características de câncer hereditário utilizando os critérios: história familiar para a doença e/ou a idade de ocorrência do câncer antes de 50 anos (SELKIRK *et al.*, 2014), além disso, os pacientes não deveriam ser parentes. Para todos os participantes foi preenchido questionário com dados pessoais, clínicos e informações da raça/cor por autodenominação de acordo com critérios do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Painel multigênico

O painel foi composto de 17 genes que foram sequenciados, os quais: *BRCA1*, *BRCA2*, *APC*, *TP53*, *PTEN*, *RET*, *VHL*, *RBI*, *CDKN2*, *CDHI*, *CHECK2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *XPA* e *XPC*. Esses genes foram selecionados por apresentarem associação com diferentes tipos de câncer e síndromes hereditárias. O DNA das amostras foi obtido a partir de 200 µL de sangue periférico pelo Kit de Extração Mini Spin Plus (Biometrix, BioPur, Curitiba, Paraná, BR) de acordo com as instruções do fabricante. Todas as amostras de DNA foram quantificadas por espectrofotometria em aparelho NanoDrop 2000c® Spectrophotometer

(ThermoScientific, Wilmington, Delaware, USA) nos comprimentos de onda 260/280nm. A integridade do DNA foi verificada em gel agarose 2,5% e posteriormente diluído para uma concentração de 25ng/uL. O painel utilizado foi o TruSeq® Custom Amplicon v1.5 no MiSeq System (Illumina, San Diego, CA). As variantes foram classificadas conforme ClinVar database em: patogênica, variante de significado incerto (VUS) e de importância farmacogenética.

RESULTADOS

Foram selecionados 15 indivíduos com perfil de câncer hereditário (quatro mulheres e onze homens). A maioria das mulheres tinha câncer de mama (3/4) e entre os homens, câncer de próstata (2/11) e de pele (2/11), foram os mais frequentes (Tabela 1). A média de idade ao diagnóstico foi 47,8 anos \pm 12, 87, sendo que, entre aqueles com história familiar a média foi 51,2 e, sem história familiar, 41 anos.

Tabela 1 - Características gerais dos pacientes com perfil de câncer hereditário no município de Monte Santo-BA, 2017.

Paciente	Local do tumor	Sexo	Idade ao diagnóstico	AD	História familiar*
1	Estômago	M	47	Branco	Não
2	Pele (escamocelular)	M	41	Pardo	Não
3	Mama	F	39	Pardo	Não
4	Reto	F	66	Branco	Sim
5	Próstata	M	52	Pardo	Sim
6	Mama	F	44	Branco	Sim
7	Próstata	M	60	Pardo	Sim
8	Pele (melanoma)	M	43	Branco	Sim
9	Mama	F	50	Pardo	Não
10	Mama	F	50	Pardo	Sim
11	Mama	F	28	Pardo	Não
12	Intestino	M	69	Pardo	Sim
13	Cérebro	M	25	Pardo	Sim
14	Tireóide	F	40	Pardo	Sim
15	Próstata	M	63	Negro	Sim

AD: Autodenominação; *Tabela Suplementar 3

Foram encontrados 11 variantes com importância clínica em 12 pacientes (75%). Desses, 11 pacientes (73,3%) tinham alguma variante de importância farmacogenética e um paciente (6,6%) tem uma variante patogênica. Todas as variantes encontradas estavam em heterozigose. Foram identificadas, sete VUS em sete (46,6%) pacientes nos genes: *APC*, *PTEN*, *CDH1*, *BRCA2*, *BRCA1*. Um dos pacientes apresentou 3 diferentes VUS e em três pacientes foram encontradas 2 diferentes VUS (Tabela suplementar 2).

Tabela 2 - Variantes observados nos genes de suscetibilidade avaliados pelo painel de câncer hereditário nos pacientes de Monte Santo, BA.

Gene	Posição da variante	Variante	Consequência	Classificação	Nº de pacientes
<i>MUTYH</i>	Chr1: 45797228	c.1187G>A	p.Gly396Asp	Patogênica	1
<i>TP53</i>	Chr17: 7579472	c.215C>G	p.Pro72Arg	Farmacogenética B	5
<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A	9
<i>APC</i>	Chr5: 112102097	c.210G>C	p.Glu70Asp	VUS	1
<i>PTEN</i>	Chr10: 89623716	c.10G>A	p.Gly4Arg	VUS	4
<i>PTEN</i>	Chr10: 89623901	c.194G>C	p.Cys65Ser	VUS	1
<i>CDH1</i>	Chr16: 68856041	c.1849G>A	p.Ala617Thr	VUS	2
<i>BRCA2</i>	Chr13: 32910773	c.2281T>C	p.Tyr761His	VUS	1
<i>BRCA1</i>	Chr17: 41215385	c.5221A>G	p.Thr1741Ala	VUS	1
<i>MUTYH</i>	Chr17: 45800182	c.38C>T	p.Ala13Val	VUS	1
<i>APC</i>	Chr5: 112176905	c.5614G>A	p.Val1872Ile	VUS	1

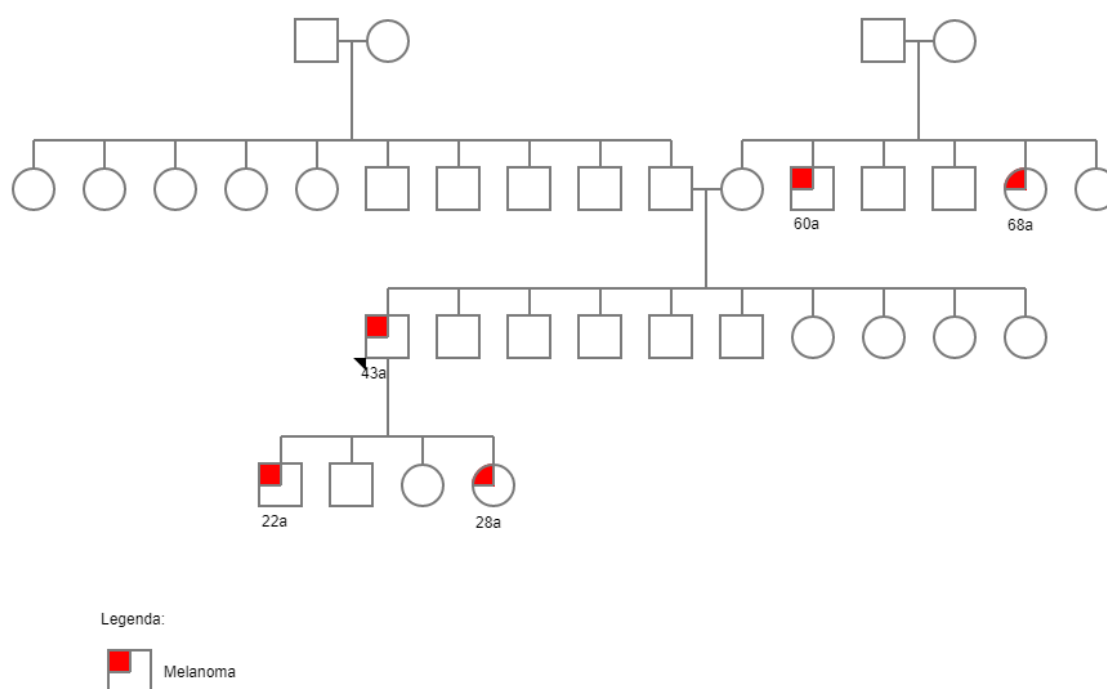
Farmacogenética A: Toxicidade à Cisplatina

Farmacogenética B: Toxicidade à Cisplatina, Ciclofosfamida, Fluoratil e Paclitaxel

A VUS com maior frequência foi *PTEN*:c.10G>A (p.Gly4Arg), presente em 4/7 pacientes. Além disso, em 2 pacientes foram encontradas a VUS

CDH1:c.1849G>A (p.Ala617Thr). Para os variantes com importância farmacogenética, a maioria dos pacientes (9/15) apresentaram a variante *XPC*:c.2815C>A (p.Gln939Lys) e os outros (5/15), a variante *TP53*:c.215C>G (p.Pro72Arg). A variante patogênica *MUTYH*:c.1187G>A (p.Gly396Asp) foi encontrada em um paciente do sexo masculino com diagnóstico de melanoma aos 43 anos e com história familiar para este tumor. O heredograma da história familiar está na Figura 1.

Figura 1 - Heredograma do paciente 8 com história familiar para melanoma.



DISCUSSÃO

Esse estudo descreve uma experiência em genética comunitária uma vez que o mesmo faz parte de um projeto mais amplo que estuda, além do câncer, outras doenças genéticas em um contexto populacional. Apesar tamanho reduzido da amostra, foi identificado um 1/15 (6,25%) pacientes com mutação patogênica e 6/15 (37,5%) pacientes com VUS. Em estudo realizado em população maior (227 pacientes) utilizando um painel multigênico com 12 genes para diferentes tipos de câncer e utilizando os mesmos critérios para seleção dos casos do presente estudo (idade <50 anos e/ou história familiar) foram identificados 12,3% pacientes com mutação patogênica e 19,4% pacientes com VUS (HERMEL et al., 2016).

As variantes de significado incerto ou VUS (do inglês, variants of uncertain significance) são variações na sequência de um gene, que podem alterar a sequência

da proteína, entretanto não existe dados suficientes para afirmar ou não sua associação à doença (DOMCHEK; WEBER 2008). As VUS incluem: as alterações missense, deleções in frame e variantes intrônicas e exônicas que podem alterar o splicing do mRNA (RADICE et al. 2011). A incerteza sobre a relação destas variantes com a predisposição ao desenvolvimento de tumores dificulta o manejo clínico dessas pacientes (Lerner-Ellis et al., 2015).

Sobre os polimorfismos de importância farmacológica, foram encontrados: p.(Gln939Lys) no gene *XPC* (em 9/15 participantes) e p.(Pro72Arg) no gene *TP53* (5/15 participantes). De acordo com o Projeto 1000 Genomas, a mutação *XPC* p.(Gln939Lys) apresenta elevada frequência do alelo T em populações parentais: africanos (0,7315) e europeu (0,5421) (sem dados em população ameríndia). Já a mutação *TP53* p.(Pro72Arg) apresenta frequência variável do alelo G entre populações africana (0,6389) e europeia (0,2757) (sem dados em população ameríndia). Os resultados observados estão de acordo com o esperado para uma população miscigenada como no Brasil, especialmente o nordeste brasileiro que apresenta elevada contribuição ancestral africana e europeia (SANTOS et al., 2016). Devido a ausência de dados sobre o tratamento realizados pelos pacientes, não foi possível utilizar as informações sobre os marcadores de importância farmacogenética encontrados e o efeito sobre a abordagem terapêutica utilizada.

O gene *MUTYH*, codifica a proteína MUTYH-DNA glicosilase (MUTYH) (SLUPSKA et al., 1996). Esta enzima é componente do sistema de Reparo por Excisão de Base (BER), responsável pela remoção de adenina (ou adenina oxidada) pareada erroneamente com bases produzidas por espécies reativas de oxigênio (ROS). A 8-oxo-7,8-dihidro-2'-dioxiguanosina (8-oxoG) é o produto mais estável, gerado por ROS, capaz de causar danos oxidativos no DNA. Estas bases quando livres são incorporadas ao DNA pelas próprias polimerases e quando não são removidas antes da replicação, provocam a transversão de bases (G:C-T:A) (ISOGAWA, 2004). Este foi o primeiro gene BER associado com uma síndrome do câncer humano inicialmente identificados em indivíduos com predisposição para múltiplos adenomas e carcinomas colorretais e câncer gástrico (AL-TASSAN et al., 2002; MAZZEI; VIEL; BIGNAMI, 2013).

Mais de 300 mutações já foram descritas no gene *MUTYH* de acordo com o database de variantes LOVD (OUT et al., 2010). Entre elas, a mutação missense encontrada neste estudo p.(Gly396Asp) descrita como patogênica pelo ClinVar

(<https://preview.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/5294/>). Este aminoácido está localizada no domínio C-terminal da proteína (éxon 13) e a sua substituição diminui a interação entre enzima e o substrato, comprometendo a atividade enzimática (D'AGOSTINO et al., 2010). Esta é uma das principais variantes que predisõem à Polipose Associada a *MUTYH* (MAP) (NIELSEN et al., 2015), síndrome hereditária que apresenta como manifestações clínicas principais o desenvolvimento precoce de múltiplos pólipos adenomatosos ao longo do intestino e o câncer colorretal (CCR). Porém, além dessas, outras manifestações extraintestinais podem ocorrer em pacientes com MAP, entre eles, os achados na pele (benignos e malignos) (VOGT et al. (2009). Em uma coorte de pacientes com MAP, Vogt et al. (2009) acompanharam a ocorrência de tumores extraintestinais e o câncer de pele foi o segundo mais comum câncer reportado, com significativa incidência (SIR: 2.8; 95% CI: 1.5– 4.8). Nesse estudo, dos 13 pacientes com câncer de pele, cinco apresentaram a mutação p.Gly396Asp e destes, dois foram diagnosticados com melanoma. Em contradição, Santonocito et al. (2011) não encontrou associação entre o risco de desenvolvimento ou agressividade do melanoma e esta variante.

A mutação *MUTYH* p.(Gly396Asp) apresenta frequência mais elevada em populações de origem caucasiana (0,0089 Europeus, 0,0043 Ameríndios, 0.0000 Africanos) de acordo com o 1000Genome, e sua origem foi estimada a cerca de 6 a 9 mil anos a.C. (ARETZ et al., 2013). Este achado está de acordo com o presente estudo que encontrou a mutação em um paciente com características fenotípicas de europeus e que se autodenominou como branco. No Brasil, esta variante já foi descrita em dois diferentes estudos: 3/60 pacientes com critérios clínicos para MAP, sendo um dos casos homozigoto (PITROSKI et al., 2011) e 1/23 (TORREZAN et al., 2013). Desse modo, encontrar a mutação em 1/16 pacientes sem critérios para MAP, mas com história familiar para melanoma reforça a associação de mutações no gene *MUTYH* com outros tipos de tumores.

A presença desta mutação em *MUTYH* em paciente com melanoma deve ser considerada com cautela para justificar a origem do tumor. A princípio é plausível considerar que o tecido epitelial está exposto à ação de espécies reativas de oxigênio (ROS) após exposição UV e que a presença de um eficiente mecanismo de reparo nesse tecido é necessária. De fato, já foi demonstrado que a origem do melanoma pode estar relacionada ao dano oxidativo especificamente devido à presença de moléculas de 8-oxoG (MURTAS et al., 2010; NISHISGORI, 2015). Assim, o defeito em enzimas

que atuam no mecanismo BER pode ser importante na compreensão desse tumor, contudo *MUTYH* não age de modo isolado. Por exemplo, foi demonstrado maior susceptibilidade ao câncer de pele em camundongos *OGG1*-knockout com produção de 8-oxoG no material genético das células epidérmicas expostos a UVB (KUNISADA et al., 2005). O gene *OGG1* codifica a enzima 8-oxoG DNA glicosilase (OGG1) que reconhece e remove 8-oxoG evitando futuro mal pareamento de bases. Já o envolvimento do gene *MUTYH* no desenvolvimento do melanoma foi sugerido no estudo de Ogbah et al., (2012) após avaliação de diferentes linhagens celulares desse tipo de câncer através de sondas de MLPA que identificaram perda de heterozigosidade do gene. Além disso, foi observada relação entre a função alterada de *MUTYH* e *OGG1* com vários tumores: células intestinais neuroendócrinas em humanos e pulmão em camundongos knockouts bialélicos para estes genes (DUMANSKI et al., 2017; XIE et al., 2004).

De fato, de acordo com o Human Protein Atlas, a proteína *MUTYH* está expressa no tecido epitelial, bem como no melanoma, embora em menor quantidade quando comparada a outros tecidos do sistema digestivo (estômago, duodeno, cólon e reto) bem como quando comparado a tecidos de mesma origem embriológica (cérebro e ossos) (UHLEN et al., 2015). Ao contrário, *OGG1* está altamente expressa, tanto nas células epiteliais como em células de melanoma, provavelmente devido ao seu efeito preventivo e anterior à ação de *MUTYH*. Apesar disso, *MUTYH* apresenta uma importante contribuição para a carcinogênese, pois além de evitar a mutagênese, ativa uma via de morte celular programada desencadeada pela acumulação de 8-oxoG no DNA nuclear e mitocondrial através da ativação da protease dependente de Ca^{2+} , a calpaina (OKA et al., 2008). Mais recentemente Oka et al. (2014) mostraram que esta via poderia ainda ser dependente *PARP/MLH1* mediando a atividade da proteína supressora tumoral p53. Já foi demonstrado que a regulação negativa de calpaina-3 e a inativação de *MLH1* são eventos que contribuem para a progressão de melanoma, reforçando a importância da funcionalidade de *MUTYH* (CASTIGLIA et al., 2003; MORETTI et al., 2015). Então, na ausência de *MUTYH*, tais células pré-mutagênicas ou pré-cancerosas poderiam sobreviver e ter uma taxa de mutação maior em proto-oncogenes ou genes supressores de tumores devido ao aumento dos níveis de 8-oxoG.

Interessante considerar que as mutações patogênicas em *MUTYH* associadas ao câncer hereditário ocorrem em homozigose, inativando completamente seu produto. Porém, foi sugerido que o risco de desenvolver câncer colorretal (CCR) é

maior em indivíduos monoalélicos mutante em *MUTYH* do que em indivíduos sem alelos patogênicos, mesmo aqueles com história familiar de CCR (WIN et al., 2015). Em um estudo com tumores neuroendócrinos do intestino delgado (SI-NET), na qual foi detectada a presença da mutação p.Gly396Asp em heterosigozidade em 6/24 pacientes com e sem história familiar, foi sugerido que a inativação bialélica de *MUTYH* pode não ser o único mecanismo que impulsionou o desenvolvimento tumoral e que mutações adicionais em *OGGI* seriam importantes para a patogênese da doença (DUMANSKI et al., 2017). Estes autores indicam ainda que a presença da mutação em heterozigose pode ser responsável por um fenótipo menos agressivo, com início tardio e progressão lenta do tumor, porém tais fatores não puderam ser comprovados no nosso estudo. Em outro estudo foi também observado associação entre risco elevado para câncer de mama e esta variante em heterozigosidade (RENNERT et al., 2012).

É importante lembrar que o paciente do presente estudo tem história familiar de melanoma e que não foram encontradas alterações em *CDKN2*, gene responsável pela susceptibilidade em ~ 10% de famílias com 2 casos de melanoma e 30-40% de famílias com 3 ou mais casos de melanoma (GOLDSTEIN et al., 2007). Assim, é possível que para o caso deste estudo outros genes de menor penetrância estejam envolvidos no processo da doença como o gene *OGGI*.

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho sugerem que através da seleção de pacientes com perfil de câncer hereditário foi possível identificar mutações de importância clínica, como as de importância farmacogenética, de significado incerto (VUS) e mutações patogênicas, mesmo em uma amostra pequena de indivíduos. O uso de um painel mutigênico permitiu identificar a mutação patogênica *MUTYH* p.(Gly396Asp) em paciente com melanoma e história familiar. Mutações nesse gene foram pouco estudadas em pacientes com essa neoplasia, mas a plausibilidade biológica indica que existe evidências para essa associação e assim justifica a ampliação do estudo. Essa também é uma vantagem da análise de múltiplos genes, onde novas associações podem ser identificadas. É importante ressaltar que, para confirmação dos achados será necessário estudo de segregação familiar da mutação, visto que outros familiares também foram diagnosticados com a doença.

REFERÊNCIAS

AL-TASSAN, N. *et al.* Inherited variants of MYH associated with somatic G:C→T:A mutations in colorectal tumors. **Nature Genetics**, v. 30, n. 2, p. 227–232, 2002.

ARETZ, Stefan *et al.* MUTYH-associated polyposis (MAP): evidence for the origin of the common European mutations p.Tyr179Cys and p.Gly396Asp by founder events. **European Journal of Human Genetics**, v. 22, n. 10, p. 923–929, 2013.

CASTIGLIA, D. *et al.* Biallelic somatic inactivation of the mismatch repair gene MLH1 in a primary skin melanoma. **Genes, Chromosomes and Cancer**, v. 37, n. 2, p. 165–175, 2003.

COSTA-MOTTA, F. M., *et al.* A community-based study of mucopolysaccharidosis type VI in Brazil: The influence of founder effect, endogamy and consanguinity. **Human Heredity**, v. 77, n. 1–4, p. 189–196, 2014.

D'AGOSTINO, V. G., *et al.* Functional analysis of MUTYH mutated proteins associated with familial adenomatous polyposis. **DNA Repair**, v. 9, n. 6, p. 700–707, 2010.

DALY, M. B. *et al.* NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 15, n. 1, p. 9–20, 2017.

DOMCHEK, S. M., *et al.* Multiplex Genetic Testing for Cancer Susceptibility : Out on the High Wire Without a Net ? v. 31, n. 10, p. 2013–2016, 2013.

DUMANSKI, J. P. *et al.* A *MUTYH* germline mutation is associated with small intestinal neuroendocrine tumors. **Endocrine-Related Cancer**, v. 24, n. 8, p. 427–443, 2017.

GARDNER, S. A., *et al.* Evaluation of a 27-gene inherited cancer panel across 630 consecutive patients referred for testing in a clinical diagnostic laboratory. **Hereditary Cancer in Clinical Practice**, v. 16, 2018.

GOLDSTEIN, A. M., *et al.* Features associated with germline CDKN2A mutations: A GenomEL study of melanoma-prone families from three continents. **Journal of Medical Genetics**, v. 44, n. 2, p. 99–106, 2007.

HERMEL, D. J. *et al.* Multi-gene panel testing for hereditary cancer susceptibility in a rural Familial Cancer Program. **Familial Cancer**, p. 1–8, 2016.

ISOGAWA, A. Functional Cooperation of Ogg1 and Mutyh in Preventing examined the tumorigenesis and. **Fukuoka Acta Med.**, v. 95, n. 1, p. 17–30, 2004.

KATSANIS, S. H.; KATSANIS, N. Molecular genetic testing and the future of clinical genomics. **Nature Reviews Genetics**, v.14, n.6, p. 415-26, 2013.

KUNISADA, M. *et al.* 8-Oxoguanine Formation Induced by Chronic UVB Exposure Makes *Ogg1* Knockout Mice Susceptible to Skin Carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 65, n. 14, p. 6006–6010, 2005.

MACHADO, T. M. B. *et al.* Types of marriages, population structure and genetic disease. **Journal of Biosocial Science**, v. 45, n. 4, p. 575, 2012.

MAZZEI, F.; VIEL, A.; BIGNAMI, M. Role of MUTYH in human cancer. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 743–744, p. 33–43, 2013.

MORETTI, D. *et al.* Calpain-3 impairs cell proliferation and stimulates oxidative stress-mediated cell death in melanoma cells. **PLoS ONE**, v. 10, n. 2, p. 1–22, 2015.

MURTAS, D. *et al.* Nuclear 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as survival biomarker in patients with cutaneous melanoma. **Oncology reports**, v. 23, n. 2, p. 329–35, 2010.

NIELSEN, M. *et al.* MUTYH -Associated Polyposis. **GeneReviews**, p. 1–19, 2015.

NISHISGORI, C. Current concept of photocarcinogenesis. **Photochem. Photobiol. Sci.**, v. 14, n. 9, p. 1713–1721, 2015.

OGBAH, Z. *et al.* Molecular characterization of human cutaneous melanoma-derived cell lines. **Anticancer Research**, v. 32, n. 4, p. 1245–1251, 2012.

OKA, S. *et al.* MUTYH, an adenine DNA glycosylase, mediates p53 tumor suppression via PARP-dependent cell death. **Oncogenesis**, v. 3, n. 10, p. e121-10, 2014.

OKA, S. *et al.* Two distinct pathways of cell death triggered by oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNAs. **EMBO Journal**, v. 27, n. 2, p. 421–432, 2008.

OUT, A. A. *et al.* Leiden open variation database of the MUTYH gene. **Human Mutation**, v. 31, n. 11, p. 1205–1215, 2010.

PITROSKI, C. E. *et al.* Frequency of the common germline MUTYH mutations p.G396D and p.Y179C in patients diagnosed with colorectal cancer in Southern Brazil. **International Journal of Colorectal Disease**, v. 26, n. 7, p. 841–846, 2011.

PRICE, K. S. *et al.* Inherited Cancer in the Age of Next-Generation Sequencing., v.20, n. 2, p. 192-204, 2018.

QURESHI, N. *et al.* The current state of cancer family history collection tools in primary care: A systematic review. **Genetics in Medicine**, v. 11, n. 7, p. 495–506, 2009.

RADICE, P. *et al.* Unclassified variants in BRCA genes: guidelines for interpretation. **Ann Oncol**, v. 22, p. 18-23, 2011.

RENNERT, G. *et al.* MutYH mutation carriers have increased breast cancer risk. **Cancer**, v. 118, n. 8, p. 1989–1993, 2012.

SANTONOCITO, C. *et al.* Common genetic variants of MUTYH are not associated with cutaneous malignant melanoma: Application of molecular screening by means of high-resolution melting technique in a pilot case-control study. **International Journal of Biological Markers**, v. 26, n. 1, p. 37–42, 2011.

SANTOS, H. C. *et al.* A minimum set of ancestry informative markers for determining admixture proportions in a mixed American population: The Brazilian set. **European**

Journal of Human Genetics, v. 24, n. 5, p. 725–731, 2016.

SELKIRK, C. G. *et al.* Cancer genetic testing panels for inherited cancer susceptibility: the clinical experience of a large adult genetics practice. **Familial Cancer**, v. 13, n. 4, p. 527–536, 2014.

SLUPSKA, M. M. *et al.* Cloning and Sequencing a Human Homolog (hMYH) of the Escherichia coli mutY Gene Whose Function Is Required for the Repair of Oxidative DNA Damage. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n. 13, p. 3885–3892, 1996.

TORREZAN, G. T. *et al.* Mutational spectrum of the APC and MUTYH genes and genotype-phenotype correlations in Brazilian FAP, AFAP, and MAP patients. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2013.

UHLEN, M. *et al.* Tissue-based map of the human proteome. **Science**, v. 347, n. 6220, p. 1260419–1260419, 2015.

VOGT, S. *et al.* Expanded Extracolonic Tumor Spectrum in MUTYH-Associated Polyposis. **Gastroenterology**, v. 137, n. 6, p. 1976–1985.e10, 2009.

WIN, A. K. *et al.* Risk of colorectal cancer for people with a mutation in both a MUTYH and a DNA mismatch repair gene. **Familial cancer**, v. 14, n. 4, p. 575–83, 2015.

XIE, Y. *et al.* Deficiencies in Mouse *Myh* and *Ogg1* Result in Tumor Predisposition and G to T Mutations in Codon 12 of the *K-Ras* Oncogene in Lung Tumors. **Cancer Research**, v. 64, n. 9, p. 3096–3102, 2004.

Tabela Suplementar 1: Principais síndromes de câncer hereditário e seus genes associados

Gene	Localização	Função	Síndromes e Neoplasias
<i>BRCA1</i>	17q	Supressor tumoral	Síndrome de câncer de mama e ovário hereditários (HBOC)
<i>BRCA2</i>	13q	Supressor tumoral	Síndrome de câncer de mama e ovário hereditários (HBOC)
<i>hMSH2</i>	2p16	Reparo de DNA	Câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC)
<i>hMLH1</i>	3p21	Reparo de DNA	Câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC)
<i>APC</i>	5q22	Supressor tumoral	Polipose adenomatosa familiar
<i>TP53</i>	17p13	Supressor tumoral	Síndrome de Li-Fraumeni
<i>PTEN</i>	10q22-23	Supressor tumoral	Síndrome de Cowden e Bannayan-RileyRuvalcaba
<i>RET</i>	10q	Oncogene	Neoplasia endócrina múltipla tipo 2A ou 2B
<i>VHL</i>	3p25-26	Supressor tumoral	Doença de Von Hippel-Lindau
<i>RBI</i>	13q14	Supressor tumoral	Retinoblastoma hereditário
<i>CDKN2</i>	9p21	Supressor tumoral	Melanoma familiar
<i>CDH1</i>	16q22.1	Supressor tumoral	Câncer Gástrico Difuso Hereditário
<i>CHECK2</i>	22q12.1	Supressor tumoral	Síndrome de câncer de mama e ovário hereditários (HBOC)
<i>MSH6</i>	2p16	Supressor tumoral	Síndrome de Lynch
<i>MUTYH</i>	1p34.1	Supressor tumoral	Polipose, Câncer colorretal
<i>XPA</i>	9q34.1	Supressor tumoral	Xeroderma Pigmentoso (Câncer de Pele)
<i>XPC</i>	3p25.1	Supressor tumoral	Xeroderma Pigmentoso (Câncer de Pele)

Fonte: Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Rede nacional de câncer familiar: manual operacional / Instituto Nacional de Câncer – Rio de Janeiro: INCA, 2009.

Tabela Suplementar 2: Variantes patogênica, de importância farmacogenética e VUS, identificadas nos pacientes com perfil de câncer hereditário na população de Monte Santo-BA.

Paciente	Gene	Posição da variante	Variante	Consequência	Classificação
01	Ausência de variantes				
	<i>APC</i>	Chr5: 112102097	c.210G>C	p.Glu70Asp	VUS
02	<i>PTEN</i>	Chr10: 89623716	c.10G>A	p.Gly4Arg	VUS
	<i>TP53</i>	Chr17: 7579472	c.215C>G	p.Pro72Arg	Farmacogenética B
03	Ausência de variantes				
04	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A
05	Ausência de variantes				
06	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A
	<i>TP53</i>	Chr17: 7579472	c.215C>G	p.Pro72Arg	Farmacogenética B
07	<i>PTEN</i>	Chr10: 89623901	c.194G>C	p.Cys65Ser	VUS
	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A
08	<i>MUTYH</i>	Chr1: 45797228	c.1187G>A	p.Gly396Asp	Patogênica
	<i>CDHI</i>	Chr16: 68856041	c.1849G>A	p.Ala617Thr	VUS
09	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A
	<i>BRCA2</i>	Chr13: 32910773	c.2281T>C	p.Tyr761His	VUS
10	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A
	<i>TP53</i>	Chr17: 7579472	c.215C>G	p.Pro72Arg	Farmacogenética B
11	<i>TP53</i>	Chr17: 7579472	c.215C>G	p.Pro72Arg	Farmacogenética B
12	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A
	<i>PTEN</i>	Chr10: 89623716	c.10G>A	p.Gly4Arg	VUS
13	<i>TP53</i>	Chr17: 7579472	c.215C>G	p.Pro72Arg	Farmacogenética B
	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A
	<i>PTEN</i>	Chr10: 89623716	c.10G>A	p.Gly4Arg	VUS
14	<i>BRCA1</i>	Chr17: 41215385	c.5221A>G	p.Thr1741Ala	VUS
	<i>CDHI</i>	Chr16: 68856041	c.1849G>A	p.Ala617Thr	VUS
	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A
	<i>PTEN</i>	Chr10: 89623716	c.10G>A	p.Gly4Arg	VUS
15	<i>MUTYH</i>	Chr17: 45800182	c.38C>T	p.Ala13Val	
	<i>APC</i>	Chr5: 112176905	c.5614G>A	p.Val1872Ile	VUS
	<i>XPC</i>	Chr3: 14187449	c.2815C>A	p.Gln939Lys	Farmacogenética A

Farmacogenética A: Toxicidade à Cisplatina

Farmacogenética B: Toxicidade à Cisplatina, Ciclofosfamida, Fluoratil e Paclitaxel

Tabela Suplementar 3: História Familiar dos pacientes com perfil de câncer hereditário na população de Monte Santo-BA.

Pct	Câncer	Sexo	ID	AD	História Familiar
01	Estômago	M	47	Branco	Não
02	Pele (Es)	M	41	Mulato	Não
03	Mama	F	39	Mulata	Não
04	Reto	F	66	Branca	Sobrinha (35a) – Estômago
05	Próstata	M	52	Mulato	Pai (78a) – Pâncreas Tia materna (?) – Mama 2 Primas maternas (35;17) – Mama Tia paterna (60a.) – Leucemia Tia paterna (50a.) – Útero Primo paterno (35a) - Garganta
06	Mama	F	44	Branca	4 Primas de 2º grau (26a; 29a; 30a; 39a) – Mama Pai (78a) - Próstata
07	Próstata	M	60	Mulato	Tio paterno (60a) – Próstata Tia paterna (70a) – Mama 2 Irmãos (?) - Próstata
08	Pele (MI)	M	43	Branca	Tio materno (60a.) – Pele Tio Materno (68a) - Pele Mãe (69a) – Pele Filho (22a.) – Pele Filho (28a) - Pele
09	Mama	F	50	Mulata	Não
10	Mama	F	50	Mulata	Pai (80a) – Próstata Tio materno (70a) – Próstata Primo Materno (?) – Próstata
11	Mama	F	28	Mulata	Não
12	Intestino	M	69	Mulato	Mãe (?) – Cabeça
13	Cérebro	M	25	Mulato	Tia materna (60a) – Intestino Prima materna (?) - ? Tia materna (?) – Fígado
14	Tireóide	F	40	Mulata	Pai (?) – Próstata Mãe (?) – Pele Tia Paterna (?) – Pulmão Avó paterna (?) – Pele Primo paterno (?) – Testículo Prima paterna (?) – Mama Prima materna (?) - Útero
15	Próstata	M	63	Negro	Avô, tio e primo maternos (?) - Próstata

Pct: Paciente; **ID:** Idade ao diagnóstico; **AD:** autodenominação de raça/cor (IBGE);
Pele (Es): Câncer de pele (escamocelular); **Pele (MI):** Câncer de pele (melanoma)

CAPÍTULO 2: Inclui o Manuscrito 2 que avalia a suscetibilidade genética ao câncer esporádico, a ancestralidade genética da população e associação entre marcadores genéticos de suscetibilidade e ancestralidade.

Situação do manuscrito: Ainda não submetido à publicação

MANUSCRITO 2

ASSOCIAÇÃO ENTRE SNPs EM DIFERENTES GENES DE SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AO CÂNCER EM POPULAÇÃO MISCIGENADADA BRASIL

Polyanna Carôzo de Oliveira^{1,2}; Dannel Sann Dias da Silva¹; Paula Brito Correa^{1,4}; Angelina Xavier Acosta^{1,4}; Taísa Manuela Bonfim Machado-Lopes³; Thais Ferreira Bomfim-Palma³; Ândrea Ribeiro-dos-Santos⁵; Sidney Santos⁵; Roberto José Meyer Nascimento³; Ivana Lúcia de Oliveira Nascimento³; Kiyoko Abe-Sandes^{1,3}

1. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa do Instituto Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (PPGBSMI – CPqGM/FIOCRUZ)
2. Departamento de Ciências da Vida, Universidade Estadual da Bahia, (DCV-UNEB)
3. Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS/UFBA)
4. Serviço de Genética Médica, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos (HUPES/UFBA)
5. Laboratório de Genética Humana e Médica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará (UFPA)

RESUMO O câncer é uma doença genética, multifatorial resultado da contribuição de fatores ambientais e predisposição genética. Mutações em genes de baixa penetrância que estão envolvidos em diferentes rotas da tumorigênese apresentam elevada frequência populacional, entretanto sua distribuição é variável e portanto, algumas populações podem estar mais ou menos suscetível ao risco de câncer. Assim, o objetivo desse trabalho foi analisar genes associados à suscetibilidade genética à diferentes tipos de câncer em uma população miscigenada no nordeste do Brasil. Participaram da pesquisa 103 indivíduos diagnosticados com câncer e 286 controles. Foram avaliadas 20 SNPs em 19 genes de suscetibilidade a câncer e 61 marcadores informativos de ancestralidade. Considerando as populações parentais europeu, africano e ameríndios, foi encontrada maior contribuição ancestral europeia (66,7%), seguida de contribuição africana (21,2%) e ameríndia (12,1%). Os marcadores de suscetibilidade associados ao risco para a doença foram aqueles nos genes: *TP53* (16 pb), genótipo Ins/Ins (OR=2,05; IC 95%= 1,1-4,0 e p= 0,027); *HLA-G*, genótipo Del/Ins ou Ins/Ins (OR=2,9; IC 95%= 1,35 - 6,61 e p= 0,0078) e efeito protetor foi observado para aqueles com genótipo Ins/Ins no gene *PARI* (OR=0,39; IC 95%= 0,23 - 0,66 e p= 0,000587).

INTRODUÇÃO

A ocorrência de câncer tem aumentado ao longo dos anos, especialmente nos países da América latina, que representam cerca de 57% de casos e 65% das mortes

por câncer em todo o mundo (TORRE et al., 2015). No Brasil, são esperados cerca de 600 mil novos casos de câncer para 2019, compatível com o esperado para os países em desenvolvimento. Entre os mais frequentes estão os cânceres de próstata (68 mil) em homens e mama (60 mil) em mulheres excluindo-se o câncer de pele não melanoma, além de elevadas taxas para o câncer de pulmão, intestino, estômago, esôfago e colo do útero (INCA, 2017).

A elevação das taxas epidemiológicas para o câncer em países como o Brasil é explicado pelo crescimento e envelhecimento da população e aumento da prevalência de fatores de risco conhecidos, especialmente o uso de tabaco e as infecções virais (FERLAY et al., 2015). Além disso, foi demonstrado que, para os cânceres mais comuns, além dos os fatores externos, alterações genéticas, podem contribuir entre ~10 a 30% para o desenvolvimento da doença (WU et al. 2015). Nesse caso, a predisposição genética ao câncer pode ser explicada por alterações em genes de baixa penetrância, que apesar do baixo risco quando considerados isoladamente podem aumentar a suscetibilidade ao câncer quando somados à outros genes e fatores ambientais (ANKATHIL, 2011). Esses genes estão envolvidos em uma variedade de rotas metabólicas associadas à carcinogênese, como o metabolismo e desintoxicação de carcinógenos ambientais ou o reparo de danos ao DNA, e portanto, podem implicar no aumento do risco de diferentes tipos de câncer (FERNÁNDEZ-PIQUERAS; HERNÁNDEZ, 2002; SHIELDS; HARRIS, 2000).

A frequência populacional de mutações em genes de baixa penetrância é elevada (DRAGANI, 1996), mas pode variar conforme a população (SHIELDS; HARRIS, 2000). Sendo assim, a ancestralidade genética deve ser considerada em estudos de associação, especialmente em populações miscigenadas, as quais são ainda pouco avaliadas (SANTOS et al., 2010). Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a associação de polimorfismos em genes de suscetibilidade à diversos tipos de câncer em uma população miscigenada na região nordeste do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

A amostra foi coletada no município de Monte Santo-BA, localizado a 320 km da capital, Salvador, com população de aproximadamente 53.000 hab (IBGE, 2010), dentre os quais 80% vivem na zona rural e estão distribuídos em cerca de 420 povoados

e fazendas. Neste município, o programa de Saúde da Família está organizado em 18 equipes de saúde, através das quais os pacientes foram convocados a participar da pesquisa por busca ativa durante o período de outubro 2014 a abril 2017.

Foram coletados todos pacientes diagnosticados com câncer que residiam no município, no período descrito. No total foram incluídos 103 amostras, independentemente do tipo de neoplasia, tempo de diagnóstico e idade. Além disso, 286 indivíduos sem diagnóstico da doença até o momento da convocação foram selecionados. Estes indivíduos foram escolhidos de maneira randomizada a partir do sorteio de 2,5% das 13.000 famílias, seguido do sorteio de um membro desta família.

Os indivíduos que aceitaram participar da pesquisa, assinaram o TCLE e responderam a um questionário para coleta de informações sobre ancestralidade, história pessoal e familiar de câncer e hábito de fumar e beber e foi realizado a coleta de 4,0 mL de sangue periférico.

Extração de DNA

O DNA das amostras foi obtido a partir de 200 μ L de sangue periférico pelo Kit de Extração Mini Spin Plus (Biometrix, BioPur, Curitiba, Paraná, BR) de acordo com as instruções do fabricante. Todas as amostras de DNA foram quantificadas por espectrofotometria em aparelho NanoDrop 2000c® Spectrophotometer (ThermoScientific, Wilmington, Delaware, USA) nos comprimentos de onda 260/280nm e verificadas a integridade do material em gel de agarose 2,5%.

Análise da ancestralidade

A ancestralidade genética foi estimada a partir de 64 marcadores informativos de ancestralidade (AIM) selecionados pelo diferencial de frequência $\geq 30\%$ em populações parentais (europeia, africana, e ameríndia), de acordo com metodologia descrita por Santos et al. (2010). A frequência alélica dos AIM por grupo parental está na Tabela Suplementar 1. A genotipagem dos AIM foi realizado PCR multiplex seguida de análise dos fragmentos através de eletroforese usando ABI Prism 3130 sequencer e o software GeneMapper ID v.3.2. A estimativa de mistura foi realizada no software STRUCTURE v.2.3.3.

Além da ancestralidade genética, os pacientes foram classificados de acordo com critérios fenotípicos estabelecidos por Krieger (1965) e Parra, F. et al (2003) que se

baseia na observação das seguintes características: cor da pele, textura do cabelo, formato do nariz e dos lábios. Os indivíduos foram então classificados como: branco, intermediários, negro ou outro.

Análise de polimorfismos de suscetibilidade ao câncer

Foram selecionados 20 SNPs do tipo INDEL de acordo com metodologia descrita por Marques et al. (2017). Todos os marcadores foram selecionados por apresentar plausibilidade biológica em vias que podem contribuir para a carcinogênese e apresentam frequências distintas nas populações parentais (Tabela 1). As informações sobre o tamanho do fragmento e os *primers* utilizados estão na Tabela Suplementar 2.

Tabela 1 - Informações sobre os polimorfismos avaliados, seu potencial biológico para a carcinogênese e a frequência do alelo 1 em diferentes populações parentais.

Gene	dbSNP	IN DEL	Região	Potencial impacto biológico na carcinogênese	Ancestralidade (Alelo 1- Del)		
		Tam			EUR	AFR	AME
<i>ACE</i>	rs4646994	289	Intron	Angiogênese, pró-proliferação, progressão e metástase	-	-	-
<i>CASP8</i>	rs3834129	6	Promotora	Apoptose	0,468	0,500	0,227
<i>CYP2E1</i>	-	96	5'-Flanking	Metabolismo de endo e exógeno	0,949	0,839	0,948
<i>CYP19A1</i>	rs11575899	3	Intron	Metabolismo de endo e exógeno	0,417	0,320	0,365
<i>HLA-G</i>	rs37119462 9	14	3'-UTR	Vigilância imunológica	0,634	0,617	0,615
<i>IL1A</i>	rs3783553	4	3'-UTR	Induzir inflamação crônica e proliferação	0,275	0,585	0,782
<i>IL4</i>	rs79071878	70	Intron	Induzir inflamação crônica e proliferação	0,300	0,220	0,818
<i>MDM2</i>	rs3730485	40	Promotora	Proliferação e apoptose	0,383	0,332	0,036
<i>FKBI</i>	rs28362491	4	Promotora	Diferenciação, proliferação e apoptose	0,381	0,519	0,637

(continua)

Tabela 1 - Informações sobre os polimorfismos avaliados, seu potencial biológico para a carcinogênese e a frequência do alelo 1 em diferentes populações parentais. (continuação)

Gene	dbSNP	IN DEL Tam	Região	Potencial impacto biológico na carcinogênese	Ancestralidade (Alelo 1- Del)		
					EUR	AFR	AME
<i>NFKB1</i>	rs28362491	4	Promotora	Diferenciação, proliferação e apoptose	0,381	0,519	0,637
<i>TP53</i>	rs17878362	16	Intron	Proliferação, apoptose, reparo, diferenciação	0,819	0,621	0,982
<i>TP53</i>	rs17880560	6	3'-Flanking	Proliferação, apoptose, reparo, diferenciação	0,663	0,748	0,783
<i>TYMS</i>	rs151264360	6	3'-UTR	Diferenciação, replicação e reparo	0,358	0,585	0,212
<i>UCP2</i>	-	45	3'-UTR	Agressividade tumoral e metastase			
<i>UGT1A 1</i>	rs8175347	2	3'-UTR	Metabolismo de endo e exógeno	0,683	0,557	0,725
<i>XRCC1</i>	rs3213239	4	5'- Flanking	Mecanismo de Reparo	0,33	0,372	0,020
<i>ADR2B</i>	rs29000568	9	Intron	Proteína de sinalização	0,261	0,168	0,574
<i>PARI</i>	rs11267092	13	Promotora	Sinalização, coagulação e homeostasia	0,772	0,505	0,953
<i>CCR5</i>	rs333	32	Intron	Proliferação e diferenciação celular	0,110	0,003	0,031

Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o Software R pacote v.3.1.2. As variáveis categóricas nos casos e controles foram testados pelo teste qui-quadrado. Para o índice de ancestralidade e idade ao diagnóstico, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Análises de regressão logística entre o modelo genotípico e o risco de câncer foram realizadas pelo pacote SNPAssoc v.1.9-2. Diferenças entre os grupos foram considerado significativo quando $p < 0,05$, calculado pelo teste qui-quadrado para variáveis dicotômicas ou o teste de Mann-Whitney para aquelas variáveis não dicotômicas.

RESULTADOS

As características demográficas dos participantes (casos e controles) estão apresentadas na Tabela 2. Os casos e controles diferem com relação à idade, hábito de fumar e história familiar. Os indivíduos do grupo caso tiveram média idade ao diagnóstico maior, fumam mais, tem história familiar para a doença que os controles. Os tipos de câncer mais frequentes entre os casos foram: próstata (35,02%), mama (23,69%), pele (11,33%) e útero (13,39%). O grupo controle apresenta idade média menor do que os casos. Porém, quando foram realizadas as mesmas análises considerando os a amostra pareada por idade, os resultados foram equivalentes (Dados não apresentados).

Com relação à ancestralidade, é possível verificar que a maioria da população apresenta elevada contribuição europeia, seguida de africana e ameríndia (66,7%, 21,2% e 12,1%, respectivamente). A contribuição dos parentais foi semelhante quando comparados os casos os controles ($p=0,8138$, $p=0,5435$ e $p=0,6126$, respectivamente). A maioria dos casos e controles apresentam mais de 50% da contribuição europeia (83 casos, 237 controles) (Figura 1).

As frequências alélicas (Ins – inserção e Del - deleção) e genótípicas estão descritas na Tabela 3. As frequências alélicas e genótípicas de todos AIMs e dos marcadores de suscetibilidade nos casos e nos controles estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os polimorfismos no gene *TP53* (16pb) e no gene *PARI* tiveram frequência alélica diferente entre casos e controles ($p = 0,014$ e $p = 0,024$, respectivamente).

Para análise de associação polimórfica foi realizada regressão logística considerando os modelos genéticos dominante e recessivo. Como o gene *PIM2* não foi polimórfico, o mesmo não foi avaliado na regressão logística. Os modelos foram ajustados para considerar como variantes confundidoras: idade, hábito de fumar e história familiar. Dos 20 marcadores de suscetibilidade foram encontrados associação com três: *TP53* (16pb), *PARI* e *HLA-G*. Os dois primeiros se adequaram ao modelo recessivo e o último, ao modelo dominante como apresentado na Tabela 4. Assim, para o *TP53* a duplicação de 16 pb (considerada no presente estudo como alelo Ins) em homozigose, ou seja, o genótipo Ins/Ins, confere risco à doença (OR=2,05; IC 95%= 1,1-4,0 e $p=0,027$). O SNP no gene *HLA-G*, os genótipo Del/Ins ou Ins/Ins também confere risco ao câncer (OR=2,9; IC 95%= 1,35 - 6,61 e $p=0,0078$). E o SNP no gene *PARI*, o

genótipo Ins/Ins teve efeito de proteção contra a doença (OR=0,39; IC 95%= 10,23 - 0,66 e p= 0,000587).

Tabela 2 - Características clínicas e demográficas dos pacientes com e sem câncer no município de Monte Santo - BA

Características	Casos		Controles		Total		Valor p
	N	%	N	%	N	%	
N	103		286		389		
Idade (Média)	57,2	17,6	40,5	19,7	44,9	20,5	< 2,2e-16^a
Sexo							
Masculino	56	54,4	121	42,3	177	45,5	0,05054 ^b
Feminino	47	45,6	167	58,4	214	55,0	
Uso de álcool							
Não	70	68,0	220	76,9	290	74,6	3,46e-05 ^b
Sim	33	32,0	66	23,1	99	25,4	
Hábito de fumar							
Não	59	57,3	243	85,0	302	77,6	0,05054^b
Sim	44	42,7	43	15,0	87	22,4	
História Familiar							
Não	32	31,1	124	43,4	156	40,1	0,03467^b
Sim	71	68,9	162	56,6	233	59,9	
Tipos de câncer							
Próstata	34	35,02					
Mama	23	23,69					
Pele	11	11,33					
Útero	8	8,24					
Outros ^d	27	27,28					
Ancestralidade Genética							
Européia		65,5		67,1		66,7	0,8138 ^c
Africana		22,5		20,7		21,2	0,5435 ^c
Ameríndia		12,0		12,2		12,1	0,6126 ^c

^a T test; ^b Fisher test; ^c Wilcox.test; ^d Outros cânceres (N): Intestino (4), Leucemia (4), Boca (3), Estômago (3), Laringe (2), Linfoma(2), Rins (2), Tireóide (2), Bexiga (1), Cabeça (1), Coluna, Ovário, Retroperitônio (1).

Figura 1 - Bloxplot da contribuição genética de populações parentais (europeia, africana e ameríndia), estratificada entre casos e controles.

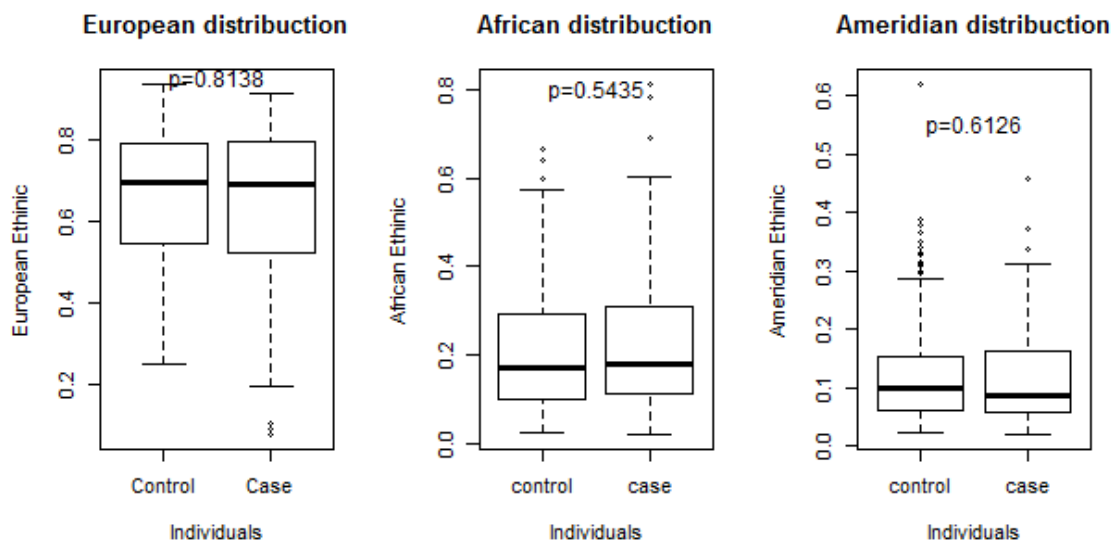
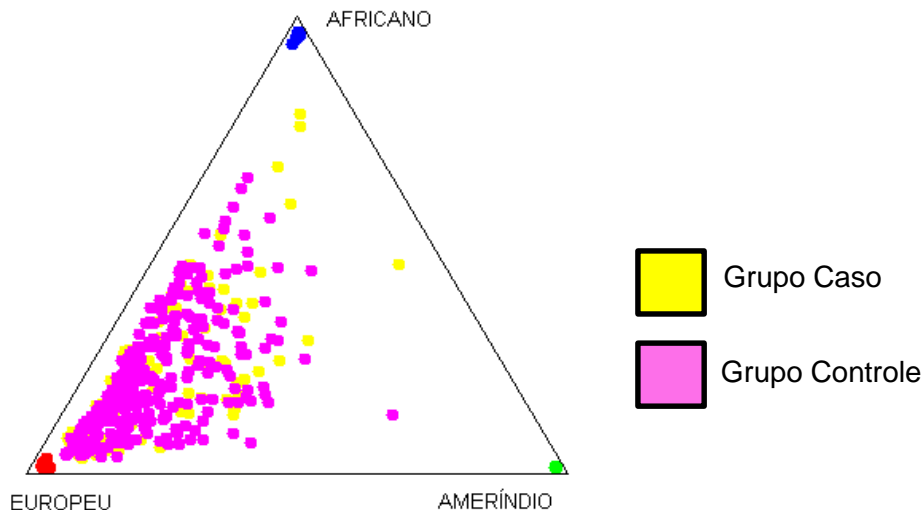


Gráfico gerado utilizando a função `qplot` do pacote `ggplot2` no software.

Figura 2 – Distribuição dos indivíduos casos de câncer e controles coletados no município de Monte Santo- BA.



A imagem foi gerada no software `STRUCTURE`. Nas extremidades do triângulo estão os indivíduos utilizados como referência, assumindo que a população é formada por três grupos parentais: europeu (vermelho), africano (azul) e ameríndio (verde). No centro do triângulo estão distribuídos os indivíduos do grupo caso (amarelo) e do grupo controle (rosa) de acordo com a proporção de contribuição genética que cada indivíduo tem com relação ao grupo parental, a partir da proximidade com o vértice.

Tabela 3 – Frequências alélicas e genotípicas na amostra caso de câncer e controle no município de Monte Santo-BA, 2017.

SNP	Frequência Alélica					Frequência Genotípica						
	Caso		Controle		p	Caso			Controle			p
	I	D	I	D		II	ID	DD	II	ID	DD	
<i>CYP19A1</i>	62,3	37,7	63,4	36,6	0,798	38,8	47,0	14,2	40,2	46,4	13,4	0,9635
<i>TP5306</i>	18,9	81,1	18,9	81,1	1,000	3,6	30,6	65,8	3,6	30,6	65,8	1
<i>NFKB1</i>	65,6	34,4	60,8	39,2	0,282	43,0	45,2	11,9	37,0	47,7	15,4	0,6288
<i>ADR2B</i>	79,2	20,8	73,0	27,0	0,091	62,8	32,9	4,3	53,2	39,5	7,3	0,3102
<i>TYMS</i>	52,4	47,6	58,5	41,5	0,109	27,4	49,9	22,7	34,3	48,5	17,2	0,4526
<i>IL1A</i>	66,0	34,0	62,3	37,7	0,370	43,6	44,9	11,5	38,8	47,0	14,2	0,7364
<i>CASP8</i>	47,2	52,8	51,6	48,4	0,251	22,2	49,8	27,9	26,7	49,9	23,4	0,7038
<i>CGM03</i>	19,8	80,2	26,9	73,1	0,056	3,9	31,8	64,3	7,2	39,3	53,5	0,2311
<i>UGTA1</i>	37,7	62,3	31,0	69,0	0,094	14,2	47,0	38,8	9,6	42,8	47,6	0,3663
<i>TP53</i>	9,0	91,0	15,9	84,1	0,014	0,8	16,3	82,9	2,5	26,7	70,7	0,0969
<i>MDM2</i>	62,7	37,3	61,5	38,5	0,825	39,4	46,8	13,9	37,8	47,4	14,8	0,9644
<i>IL4IN3</i>	75,9	24,1	69,7	30,3	0,112	57,7	36,5	5,8	48,5	42,3	9,2	0,345
<i>PARI</i>	29,2	70,8	21,1	78,2	0,024	8,6	41,4	50,1	4,5	33,1	61,1	0,1825
<i>ACE2</i>	34,0	65,1	34,4	65,6	1,000	11,5	44,2	42,4	11,9	45,1	43,0	0,991
<i>CCR5</i>	92,9	7,1	93,8	6,2	0,723	86,3	13,1	0,5	87,9	11,7	0,4	0,8348
<i>PIM2</i>	Não foi polimórfico											
<i>UCP2</i>	30,7	69,3	30,5	69,5	1,000	9,4	42,5	48,1	9,3	42,4	48,3	1
<i>HLAG</i>	38,7	61,3	40,5	59,5	0,686	15,0	47,4	37,6	16,4	48,2	35,4	0,9648
<i>XRCC1</i>	67,9	31,1	66,4	33,6	0,623	46,1	42,3	9,7	44,1	44,6	11,3	0,9027
<i>CYP2E1</i>	9,0	89,2	7,7	92,0	0,590	0,8	16,0	79,5	0,6	14,2	84,6	0,8501

I – Inserção; D – Deleção; II – Ins/Ins; DD – Del/Del; ID – Ins/Del

As covariáveis incluídas no modelo de regressão foram: idade, hábito de fumar e história familiar.

A análise completa está inclusa na Tabela Suplementar 3

Tabela 4 - Análise da regressão logística comparando genótipos entre casos e controles

Gene	Indel	Genótipo	OR	IC 95%	<i>p value</i>
<i>HLA-G</i>	rs371194629	DD			
		DI ou II	2,9	[1,35 – 6,61]	0,0078
<i>TP53</i>	rs17878362	DD ou DI			
		II	2,05	[1,1-4,0]	0,027
<i>PAR-1</i>	rs11267092	DD ou DI			
		II	0,39	[0,23 - 0,66]	<0,005

As covariáveis incluídas no modelo de regressão foram: idade, hábito de fumar e história familiar.

A análise completa está descrita na Tabela Suplementar 3

DISCUSSÃO

Este trabalho avaliou a associação entre 20 polimorfismos de suscetibilidade ao câncer e o risco para a doença em uma população do nordeste brasileiro. Este trabalho faz parte de um projeto que estuda doenças genética no município de Monte Santo devido às características específicas apresentadas pela população como elevada consanguinidade e endogamia populacional que favorecem o aumento da frequência de homozigotos, e que podem estar associados ao risco para doenças genéticas (MACHADO et al. 2012). Estes fatores são resultado de uma organização estrutural específica em pequenos povoados, semiisolados e de tamanho reduzido, onde a ocorrência de doenças raras já foi descrita anteriormente (MOURA-COSTA et al, 2011, 2014, MANZOLI et al., 2013; ACOSTA et al., 2013). Assim, a coleta da amostra controle considerou a distribuição espacial da população utilizando como referência os PSFs para facilitar a abordagem. Os resultados apresentados indicaram que apesar da idade ter sido um fator confundidor para a análise de regressão logística, a subseleção de uma amostra controle e pareada por categorias de idade (n= 149 ou n=132), não difere dos resultados encontrados ao considerar a amostra global (n=286). Com relação aos tipos de câncer mais frequentes na população, os resultados foram semelhantes ao esperado para a população brasileira (INCA, 2018).

No presente estudo, foi encontrada elevada contribuição européia entre casos (65,5%) e controles (67,1%). A ancestralidade foi avaliada no presente estudo entre casos e controles para evitar associações espúrias entre a doença e os marcadores de

sucetibilidade, visto que a frequência destes marcadores podem variar conforme as populações parentais (Tabela 1) (SANTOS et al., 2010). A grande contribuição europeia encontrada na amostra está de acordo com estudos anteriores neste município que avaliaram marcadores de ancestralidade em pacientes com diferentes doenças genéticas variando de 61 a 80% e em amostra controle (65%) (MACHADO, 2012). Os resultados diferem dos trabalhos realizados com população na Bahia que encontraram maior contribuição africana, especialmente quando a amostra é proveniente da capital do estado, Salvador (FELIX, 2010; MACHADO, 2008; BOMFIM, 2008; OLIVEIRA, 2013).

Com relação aos polimorfismos associados ao câncer, TP53 (16pb) e HLA-G aumentaram o risco de desenvolver a doença e PAR1 esteve associado à proteção. A frequência alélica desses polimorfismos estão de acordo com o esperado para uma população com elevada contribuição europeia, considerando as frequências alélicas nas populações parentais (Tabela 1). Para o *TP53* (16pb) a frequência alélica da Ins na população europeia é pequena (0,181), semelhante ao encontrado entre casos (0,090) e controles (0,159) na amostra estudada. Para o gene *HLA-G*, a frequência alélica da Ins para casos (0,387) e controles (0,405) também é semelhante ao encontrado em população parental europeia (0,365). E o mesmo comportamento ocorre no polimorfismo do gene *PAR-1*, para o qual a frequência alélica da Ins na amostra de casos (0,292) e controles (0,211) está semelhante ao encontrado em população parental europeia (0,250). Os dados sugerem então que não houve associação espúria em consequência da ancestralidade.

Para o polimorfismo *TP53* (16pb) a presença da Ins em homozigose (genótipo Ins/Ins) aumenta mais do que 2 vezes o risco para a doença. Esse resultado está de acordo com a plausibilidade biológica visto que esta inserção pode reduzir a expressão da proteína TP53 (GEMIGNANI et al., 2004). Porém, estudos mais recentes apontam que este *INDEL* pode modular a função de p53, aumentando a sua estabilidade.

É importante lembrar que p53, que colabora com a manutenção da integridade genômica em resposta à danos ocorridos no DNA, sendo conhecido como “guardião do genoma” (LANE, 1992). Em situações de stress celular, a proteína estimula uma cascata de eventos celulares, como a parada do ciclo celular e a apoptose, prevenindo o desenvolvimento do câncer (VOUSDEN; PRIVES, 2009; WANG; SIMPSON; BROWN, 2015).

A inserção de 16bp ocorre no íntron 3 do gene *TP53*, pode aumentar a expressão da isoforma $\Delta 40p53$ a qual é tecido específica e pode ser co-expressa no mesmo tecido com outras isoformas ou de modo exclusivo, e suas funções ainda não estão completamente elucidadas (GHOSH; STEWART; MATLASHEWSKI, 2004; ZANG et al., 2017). A $\Delta 40p53$ é uma das 12 isoforma possíveis que ocorrem devido ao *splicing* alternativo do gene *TP53*. Nesta proteína ocorreu a perda de 39 resíduos de aminoácidos (aa 1-40) na região N-terminal, correspondente ao domínio de transativação I que contém o sítio de ligação à MDM2 (aa17-23), o qual, por sua vez, regula a degradação proteossômica de p53 (MARCEL et al. 2011a; MARCEL et al., 2011b; JORUIZ; BOURDON 2016). A perda de 39 aminoácidos ocorre devido à retenção do íntron-2 no RNAm de p53, o qual contém um stop códon, levando o ribossomo à reiniciar a tradução no segundo AUG (aa 40), através do escaneamento de um novo sítio de entrada do ribossomo (IRES) (BŁASZCZYK; CIESIOŁKA, 2011; RAY; GROVER; DAS, 2006). A retenção do íntron-2 é regulada por uma estrutura G-quadruplex que ocorre no íntron-3 do transcrito de RNAm e corresponde ao IRES (MARCEL et al. 2011b; BŁASZCZYK; CIESIOŁKA 2011). Mais recentemente, foi sugerido que essa isoforma também pode ser regulada por mecanismo pós-traducional que envolve a clivagem de p53 mediado pelo sistema proteossoma-ubiquitina (SOLOMON et al., 2017).

A princípio essa isoforma regula negativamente a função de p53, suprimindo sua atividade transcricional através da monoubiquitinação de p53 o que sinaliza sua exportação para o citosol e degradação proteossômica (GHOSH; STEWART; MATLASHEWSKI, 2004). Além disso, $\Delta 40p53$ parece inibir a morte celular através da inativação da autofagia, que pode causar maior predisposição celular à tumorigênese (WHITE; MEHNERT; CHAN, 2015; ZANG et al., 2017). Ao contrário, outros trabalhos tem mostrado que a expressão do heterodímero $\Delta 40p53/p53$ é mais estável e funcional e pode ocorrer, por exemplo, em resposta ao estresse causado no retículo endoplasmático, estimulando a via pró-apoptótica (BOUROUGAA et al., 2010).

Evidências epidemiológicas sugerem que o alelo Ins está associada ao risco aumentado para câncer, assim como no presente estudo. Por exemplo, ao câncer de pele esporádico na população da Rússia, câncer de mama e colo retal em população da Índia, Mediterrâneo e Norte da Europa, porém não foi observado associação ao câncer

de pulmão em caucasianos americanos, sugerindo que esta mutação pode ter efeito específico por tumor e populações (SAGNE et al., 2013; MUKHAMMADIYEVA et al., 2017). Outros estudos também não encontraram associação entre o alelo Ins e câncer de mama em população do Marrocos, Índia, Iran (MAROUF et al., 2014; SHARMA et al.2014; GOHARI-LASAKI et al., 2015) e câncer esofágico em população indiana (KAUR et al., 2014); no câncer de próstata em população iraniana (HASHEMI et al., 2017) e no tumor de Wilms (ANDRADE et al., 2014) e câncer colon-retal (MARQUES et al., 2017) em população brasileira. Os indivíduos que apresentaram a Ins desse polimorfismo em homozigose no presente estudo foram casos de câncer de mama e boca porém, a amostra é ainda muito pequena para uma análise mais estratificada por tipo de tumor.

Para o polimorfismo do gene *HLA-G* a presença da Ins em homozigose ou heterozigose (genótipos Ins/Ins ou Ins/Del) aumenta quase 3 vezes o risco para a doença. Esses resultados podem estar em conformidade com seu efeito biológico, uma vez que esta inserção origina um mRNAs mais curtos com maior estabilidade, o que pode aumentar ou diminuir a expressão do HLA-G, consequentemente afetando o sistema imunológico contra o câncer nos indivíduos que exibem este alelo (HVIID et al., 2003). A inserção de 14 pb na região 3'-UTR do gene *HLA-G* origina o *splicing* alternativa que remove 92 pb do início do éxon 8 (ROUSSEAU et al., 2003).

O antígeno leucocitário humano-G (HLA-G) é um gene da classe do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) não clássica gene I, que exibe efeitos imunoinibitórios bem reconhecidos em ambos os sistemas imune inato e adaptativo (KLEIN; SATO, 2000). Esse gene é altamente polimórfico e a associação com o câncer foi amplamente estudada, visto que ele é super expresso em células tumorais e portanto escapa ao reconhecimento imunológico (CAROSELLA et al., 2015). De fato, diversos estudos mostram que a presença desse antígeno em células tumorais está relacionado com um pior prognóstico e agressividade da doença, redução da sobrevivência e recorrência do tumor (DE KRUIJF et al., 2010; YIE et al., 2007a, 2007b).

Na amostra estudada os casos de câncer que apresentaram o alelo Ins para o gene *HLA-G* foram variados: mama, próstata, cérebro, coluna, útero, pele, rim, linfoma, reto, tireoide e estômago. De fato, maior associação entre o alelo Ins foi encontrado entre diferentes tipos de câncer em populações de elevada contribuição europeia. Por exemplo, associação com câncer de próstata em população do sul do

Brasil (ZAMBRA et al., 2016), com câncer colorretal na Itália (GARZIERA et al., 2016), além de outras populações, como o câncer de cabeça e pescoço em população indiana (AGNIHOTRI et al., 2017). Porém, outros trabalhos mostram associação entre alelo Del e carcinoma hepatocelular em população do sudeste do Brasil (TEIXEIRA et al., 2013) e em chineses (JIANG et al., 2011). Numa metanálise, podem sugerir que ainda é incerto o efeito biológico deste polimorfismo para a predisposição ao câncer e essas diferenças podem variar conforme ancestralidade da população (COELHO et al., 2016).

Ao contrário do que encontrado para os outros genes, o alelo Ins em homozigose (genótipo Ins/Ins) no gene *PAR-1* esteve associado com efeito protetor para a doença. O gene *PAR-1* codifica proteínas receptoras ativas por proteases serina (trombina) que clivam seus domínios N-terminais e são acoplados à proteínas G. Esses receptores são altamente expressos em plaquetas, fibroblastos, células endoteliais, células renais, células T e células de o sistema nervoso e musculoesquelético. O *PAR-1* é envolvidos em vários processos, incluindo a proliferação, mitogênese, ativação plaquetária, inflamação e angiogênese (MACFARLANE et al., 2001). Variações neste gene podem modular o seu efeito, entre eles, a inserção/deleção de 13 pb (rs11267092) na posição -506 da região promotora (LI et al., 1996). Esse polimorfismo já foi associado ao melhor prognóstico do câncer de esôfago e gástrico (LURJE et al., 2009, 2010).

Poucos estudos avaliaram a associação desse polimorfismo com a suscetibilidade ao câncer. Alguns trabalhos mostraram associação com o câncer de mama e o genótipo Ins/Ins, diferentemente do presente estudo (EROĞLU; KARABIYIK; AKAR, 2012). Ao contrário, nenhuma associação foi encontrada com a variante e o câncer renal em população europeia (DE MARTINO et al., 2013). Em população brasileira, alguns estudos não encontraram associação entre o polimorfismo e o câncer de pulmão na região norte (SILVA, 2015) e o câncer colorretal no nordeste do Brasil (MARQUES et al., 2017;). Vale ressaltar que no Brasil, (AMADOR et al., 2016) as distribuições alélicas desse polimorfismo são homogêneas entre as regiões brasileiras, com exceção da região norte que apresenta maior frequência da deleção.

CONCLUSÃO

Os resultados desse trabalho sugerem que a população de Monte Santo apresenta elevada contribuição ancestral europeia (65,5%) e não houve diferenças entre casos e controles. As frequências alélicas dos marcadores de suscetibilidade estão de acordo com o que foi esperado para uma população miscigenada, com importante contribuição das populações parentais africana, ameríndia e principalmente, europeia. Foi observado aumento do risco entre os indivíduos com genótipo Ins/Ins no polimorfismo *TP53* (16 pb) com risco para a doença (OR=2,05; IC 95%= 1,1-4,0 e $p=0,027$), bem como para aqueles com genótipo Del/Ins ou Ins/Ins no polimorfismo do gene *HLA-G* (OR=2,9; IC 95%= 1,35 - 6,61 e $p=0,0078$) e efeito protetor para os indivíduos com genótipo Ins/Ins no gene *PAR1* (OR=0,39; IC 95%= 10,23 - 0,66 e $p=0,000587$). Estes resultados podem ajudar a compreender a suscetibilidade genética ao câncer na população estudada.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, A. X. *et al.* Delivering Genetic Education and Genetic Counseling for Rare Diseases in Rural Brazil. **Journal of Genetic Counseling**, v. 20, p. 830-834, 2013.
- ANDRADE, R. C. *et al.* Association of TP53 polymorphisms on the risk of Wilms tumor. **Pediatric blood & cancer**, v. 61, n. 3, p. 436–41, 2014.
- AGNIHOTRI, V. *et al.* Promising link of HLA-G polymorphism, tobacco consumption and risk of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC) in North Indian population. **Human Immunology**, v. 78, n. 2, p. 172–178, 2017.
- AMADOR, M. A. T. *et al.* Distribution of allelic and genotypic frequencies of IL1A, IL4, NFKB1 and PAR1 variants in Native American, African, European and Brazilian populations. **BMC Research Notes**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2016.
- ANKATHIL, R. Low Penetrance Genetic Variations in DNA Repair Genes and Cancer Susceptibility. **DNA Repair**, p.636, 2011.
- BŁASZCZYK, L.; CIESIOŁKA, J. Secondary structure and the role in translation initiation of the 5'-terminal region of p53 mRNA. **Biochemistry**, v. 50, n. 33, p. 7080–7092, 2011.
- BOMFIM, T.F. **Ancestralidade Genômica em portadores do HIV-1 da Bahia**. 2008. Dissertação de Mestrado. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz/FIOCRUZ. Salvador-BA.
- BOUROUGAA, K. *et al.* Endoplasmic reticulum stress induces G2 cell-cycle arrest via mRNA translation of the p53 isoform p53/47. **Molecular cell**, v. 38, n. 1, p. 78–

88, 2010.

CAROSELLA, Edgardo D. *et al.* **HLA-G. An Immune Checkpoint Molecule**. 1. ed. [s.l.] : Elsevier Inc., 2015. v. 127

COELHO, A. V. C. *et al.* HLA-G genetic variants and hepatocellular carcinoma : a meta-analysis. **Genet. Mol. Res**, v. 15, n. 3, p. 1–9, 2016.

COSTA-MOTTA, F. M. *et al.* Genetic studies in a cluster of Mucopolysaccharidosis Type VI patients in Northeast Brazil. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 104, n. 4, p. 603–607, 2011.

DE KRUIJF, E. M. *et al.* HLA-E and HLA-G expression in classical HLA class I-negative tumors is of prognostic value for clinical outcome of early breast cancer patients. **Journal of immunology**, v. 185, n. 12, p. 7452–9, 2010.

DE MARTINO, M. *et al.* The protease activated receptor 1 gene variation IVSn -14 A>T is associated with distant metastasis and cancer specific survival in renal cell carcinoma. **Journal of Urology**, v. 190, n. 4, p. 1392–1397, 2013.

DE RAMOS, B. R. A. *et al.* Neither self-reported ethnicity nor declared family origin are reliable indicators of genomic ancestry. **Genetica**, v. 144, n. 3, p. 259–265, 2016.

DRAGANI, A. A polygenic model of inherited predisposition to cancer. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 10, n. 8, p. 865–870, 1996.

EROĞLU, A.; KARABIYIK, A; AKAR, N. The Association of Protease Activated Receptor 1 gene –506 I/D Polymorphism with Disease-Free Survival in Breast Cancer Patients. **Annals of Surgical Oncology**, v. 19, n. 4, p. 1365–1369, 2012.

FELIX, G. E. S. **Estudo de mutações pontuais de BRCA1, BRCA2, CHEK2 e TP53 em pacientes com alto risco para câncer de mama e ovário hereditário**. 2014. 88 f. il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2014.

FERLAY, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**, v. 136, n. 5, p. E359–E386, 2015.

FERNÁNDEZ-PIQUERAS, J; HERNÁNDEZ, J. S.. Tumor modifier genes. **Revista de Oncología**, v. 4, n. April, p. 349–357, 2002.

GARZIERA, M. *et al.* Association of the HLA-G 3'UTR polymorphisms with colorectal cancer in Italy: A first insight. **International Journal of Immunogenetics**, v. 43, n. 1, p. 32–39, 2016.

GEMIGNANI, F. *et al.* A TP53 polymorphism is associated with increased risk of colorectal cancer and with reduced levels of TP53 mRNA. **Oncogene**, v. 23, n. 10, p. 1954–6, 2004.

GHOSH, A; STEWART, D; MATLASHEWSKI, G. Regulation of Human p53 Activity and Cell Localization by Alternative Splicing. **Society**, v. 24, n. 18, p. 7987–

7997, 2004.

GOHARI-LASAKI, S. *et al.* Lack of influence of TP53 Arg72Pro and 16bp duplication polymorphisms on risk of breast cancer in Iran. **Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP**, v. 16, n. 7, p. 2971–4, 2015.

HVIID, T. V. F. *et al.* HLA-G allelic variants are associated with differences in the HLA-G mRNA isoform profile and HLA-G mRNA levels. **Immunogenetics**, v. 55, n. 2, p. 63–79, 2003.

HASHEMI, M. *et al.* Association between polymorphisms in TP53 and MDM2 genes and susceptibility to prostate cancer. **Oncology letters**, v. 13, n. 4, p. 2483–2489, 2017.

INCA. **Estimativa 2018-Incidência de câncer no Brasil** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2017.

JIANG, Y. *et al.* Association of *HLA-G* 3' UTR 14-bp Insertion/Deletion Polymorphism with Hepatocellular Carcinoma Susceptibility in a Chinese Population. **DNA and Cell Biology**, v. 30, n. 12, p. 1027–1032, 2011.

JORUIZ, S. M.; BOURDON, J-C. p53 Isoforms: Key Regulators of the Cell Fate Decision. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, n. 8, p. a026039, 2016.

KAUR, S. *et al.* Analysis of TP53 polymorphisms in North Indian sporadic esophageal cancer patients. **Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP**, v. 15, n. 19, p. 8413–22, 2014.

KLEIN, J.; SATO, A.. The HLA System. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 10, p. 702–709, 2000.

KRIEGER H., *et al.* Racial admixture in north-eastern Brazil. **Ann. Hum. Genet.**, v. 29, p.113, 1965

LANE, D. P. Cancer. p53, guardian of the genome. **Nature**, 1992.

LURJE, G. *et al.* Genetic variations in angiogenesis pathway genes associated with clinical outcome in localized gastric adenocarcinoma. **Annals of Oncology**, v. 21, n. 1, p. 78–86, 2009.

LURJE, G. *et al.* Genetic variations in angiogenesis pathway genes predict tumor recurrence in localized adenocarcinoma of the esophagus. **Annals of Surgery**, v. 251, n. 5, p. 857–864, 2010.

MACFARLANE, S. R. *et al.* Proteinase-activated receptors. **Pharmacological reviews**, v. 53, n. 2, p. 245–82, 2001.

MACHADO, T. M. B. *et al.* Types of marriages, population structure and genetic disease. **Journal of Biosocial Science**, v. 45, n. 4, p. 575, 2012.

MANZOLI, G.N. *et al.* Non-syndromic hearing impairment in a multi-ethnic population of Northeastern Brazil. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 77, n.7, p.1077-1082, 2013.

MARCEL, V. *et al.* Biological functions of p53 isoforms through evolution: lessons from animal and cellular models. **Cell Death and Differentiation**, v. 18, n. 12, p. 1815–1824, 2011a.

MARCEL, V. *et al.* G-quadruplex structures in TP53 intron 3: Role in alternative splicing and in production of p53 mRNA isoforms. **Carcinogenesis**, v. 32, n. 3, p. 271–278, 2011b.

MAROUF, C. *et al.* Association of TP53 PIN3 polymorphism with breast cancer in Moroccan population. **Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine**, v. 35, n. 12, p. 12403–8, 2014.

MARQUES, D. *et al.* Association of insertion-deletions polymorphisms with colorectal cancer risk and clinical features. **World J Gastroenterol**, v. 23, n. 37, p. 6854–6867, 2017.

MUKHAMMADIYEVA, G. F. *et al.* TP53 Gene Polymorphisms and Occupational Skin Cancer Risks for Workers of Glass Fiber Manufacture. **Iranian journal of public health**, [s. l.], v. 46, n. 11, p. 1495–1501, 2017.

OLIVEIRA, P. C. de. Ancestralidade genética e genes de susceptibilidade em portadores de câncer de próstata do estado da Bahia. 82 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2013.

PARRA, F.C. *et al.* Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.100, p.177-82, 2003.

RAY, P. S.; GROVER, R.; Saumitra, D.A.S. Two internal ribosome entry sites mediate the translation of p53 isoforms. **EMBO reports**, v. 7, p. 404–410, 2006.

ROUSSEAU, P. *et al.* The 14 bp Deletion-Insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability. **Human Immunology**, v. 64, n. 11, p. 1005–1010, 2003.

SAGNE, C. *et al.* A meta-analysis of cancer risk associated with the TP53 intron 3 duplication polymorphism (rs17878362): geographic and tumor-specific effects. **Cell Death and Disease**, v. 4, 2013.

SANTOS, N. P. C. *et al.* Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. **Human mutation**, v. 31, n. 2, p. 184–90, 2010.

SHIELDS, P. G.; HARRIS, C. C. Cancer risk and low-penetrance susceptibility genes in gene- environment interactions. **Journal of Clinical Oncology**, v. 18, n. 11, p. 2309–2315, 2000.

SILVA, F. A. Estudo de potenciais marcadores moleculares de suscetibilidade ao

cáncer de pulmão. 57f. Dissertação (Mestrado) - Programa de pós-graduação em oncologia e ciências médicas, Belém, 2015.

SOLOMON, H. *et al.* Post-translational regulation of p53 function through 20S proteasome-mediated cleavage. **Cell Death and Differentiation**, v. 24, n. 12, p. 2187–2198, 2017.

TEIXEIRA, A. C. *et al.* The 14bp-deletion allele in the HLA-G gene confers susceptibility to the development of hepatocellular carcinoma in the Brazilian population. **Tissue Antigens**, v. 81, n. 6, p. 408–413, 2013.

TORRE, L. A. *et al.* Global Cancer Statistics, 2012. **CA: a cancer journal of clinicians.**, v. 65, n. 2, p. 87–108, 2015.

VOUSDEN, K. H.; PRIVES, C. Blinded by the Light: The Growing Complexity of p53. **Cell**, v. 137, n. 3, p. 413–431, 2009.

WANG, X; SIMPSON, E. R.; BROWN, K. A. p53: Protection against tumor growth beyond effects on cell cycle and apoptosis. **Cancer Research**, v. 75, n. 23, p. 5001–5007, 2015.

WHITE, E; MEHNERT, J. M.; CHAN, C. S. Autophagy, Metabolism, and Cancer. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research**, v. 21, n. 22, p. 5037–46, 2015.

WU, S. *et al.* Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. **Nature**, v. 529, n. 7584, p. 43–47, 2015.

YIE, S. *et al.* Expression of Human Leukocyte Antigen G (HLA-G) Correlates with Poor Prognosis in Gastric Carcinoma. **Annals of Surgical Oncology**, v. 14, n. 10, p. 2721–2729, 2007a.

YIE, S. *et al.* Expression of human leucocyte antigen G (HLA-G) is associated with prognosis in non-small cell lung cancer. **Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)**, v. 58, n. 2, p. 267–74, 2007b.

ZAMBRA, F. M. B. *et al.* Immunogenetics of prostate cancer and benign hyperplasia—the potential use of an HLA-G variant as a tag SNP for prostate cancer risk. **Hla**, v. 87, n.2, p. 79–88, 2016.

ZANG, Y. *et al.* Delta-40p53 is involved in the inactivation of autophagy and contributes to inhibition of cell death in HCT116-Delta40p53 cells. **Oncotarget**, v. 8, n. 8, p. 12754–12763, 2017.

Tabela Suplementar 1: Lista dos polimorfismos analisados no estudo, primers e tamanho do fragmento

Gene [Indel pb]	bdSNP	Primers	Frag- mento
<i>ACE</i> [288 bp]	rs4646994	F – ATCCTGTAAGCCACTGCTGGA R – GGCGAAACCACATAAAAAGTGA	94–382
<i>CASP8</i> [6 bp]	rs3834129	F – CTCTTCAATGCTTCCTTGAGGT R– TGCATGCCAGGAGCTAAGTAT	249–255
<i>SGSM3</i> [4 bp]	rs56228771	F – CTAGTAGGCTCCTGGCCTCTTT R– CAGAACCTTGGACCTGAATAC	117–121
<i>CYP2E1</i> [96 bp]	-	F– GTCCCAATACAGTCACCTCTTT R– GGCTTTTATTTGTTTTGCATCTG	397–493
<i>CYP19A1</i> [3 bp]	rs28892005	F– TGCATGAGAAAGGCATCATATT R– AGGCACATTCATAGACAAAAA	122–125
<i>HLAG</i> [14 p]	rs371194629	F– TGTTTAAAGTGCACCCCTCAC R – CAGTTCAGCATGAGGAAGAGG	192–206
<i>IL1A</i> [4 bp]	rs3783553	F – TGGTCCAAGTTGTGCTTATCC R – ACAGTGGTCTCATGGTTGTCA	230–234
<i>IL4</i> [70 bp]	rs79071878	F – GGGTCAGTCTGGCTACTGTGT R – AAATCTGTTACCTCAACTGC	217–287
<i>MDM2</i> [40 bp]	rs3730485	F – GGAAGTTTCCTTTCTGGTAGGC R – TTTGATGCGGTCTCATAAATTG	192–232
<i>NFKB1</i> [4 bp]	rs28362491	F – ATGGACCGCATGACTCTATCA R – GGCTCTGGCATCCTAGCAG	366–370
<i>TP53</i> [16 bp]	rs17878362	F – GGGACTGACTTTCTGCTCTTGT R– GGACTGTAGATGGGTGAAAAG	148–164
<i>TP53</i> [6 bp]	rs17880560	F – TCCATTCATAACTCAGGAACCA R – TTAAATCCCGTAATCCTTGGTG	135–141
<i>TYMS</i> [6 bp]	rs151264360	F– TCCAAACCAGAATACAGCACA R– TCAAATCTGAGGGAGCTGAGT	213–219
<i>UCP2</i> [45 bp]	-	F – CCCACACTGTCAAATGTCAACT R – CCATGCTTTTCCTTTTCTTCCT	119–164
<i>UGT1A1</i> [2 bp]	rs8175347	F – CTCTGAAAGTGAACTCCCTGCT R – AGAGGTTCCGCCCTCTCCTAT	135–137
<i>XRCC1</i> [4 bp]	rs3213239	F– AACCAGAATCCAAAAGTGACC R– GGGAAGAGAGAGAAGGAGAG	243–247

Tabela Suplementar 2 - Frequência alélica dos AIM em populações parentais europeu, africano e ameríndio.

INDEL	Frequência (Deleção)		
	Europeu (n=290)	Africano (n=201)	Ameríndio (n=246)
rs1611095	0,793	0,305	0,272
rs1611106	0,837	0,384	0,701
rs151001596	0,476	0,146	0,236
rs2067141	0,716	0,195	0,561
rs2067186	0,456	0,296	0,262
rs2067259	0,24	0,515	0
rs34444988	0,333	0,893	0,203
rs2067270	0,253	0,148	0,833
rs2067353	0,866	0,103	0,305
rs16416	0,612	0,205	0,587
rs2307553	0,704	0,123	1,000
rs2307554	0,871	0,412	0,853
rs71798723	0,137	0,178	0,715
rs2307587	0,987	0,659	0,807
rs148591331	0,529	0,075	0,014
rs2307659	0,178	0,798	0,352
rs144826367	0,638	0,14	0,002
rs16432	0,203	0,226	0,941
rs139049210	0,585	0,093	0,404
rs2307799	0,398	0,071	0,921
rs2307828	0,219	0,932	0,659
rs67323572	0,391	0,482	0,175
rs4183	0,307	0,735	0,417
rs2307912	0,871	0,347	0,688
rs2307922	0,659	0,216	0,639
rs2307976	0,727	0,325	0,443
rs2307981	0,231	0,631	0,024
rs2067271	0,421	0,28	0,783
rs2308115	0,224	0,52	0,526
rs371068283	0,302	0,18	0,913
rs16635	0,56	0,533	0,041
rs2308203	0,745	0,18	0,816
rs2308205	0,194	0,022	0,9
rs2308261	0,395	0,346	0,689
rs16653	0,867	0,708	0,337
rs5888209	0,509	0,04	0,12
rs16710	0,672	0,158	1,000
rs16712	0,69	0,635	0,429
rs25546	0,276	0,885	0,571
rs25549	0,476	0,937	0,445
rs25574	0,048	0,08	0,455
rs140762	0,402	0,958	0,002
rs36032195	0,31	0	0,855
rs140770	0,322	0,127	0,002

(continua)

Tabela Suplementar 2 - Frequência alélica dos AIM em populações parentais europeu, africano e ameríndio.

(continuação)

rs140783	0,774	0,265	0,629
rs16343	0,587	0,078	0,73
rs140847	0,178	0,23	0,514
rs140857	0,452	0,103	0,065
rs140864	0	0,105	0,707
rs367799178	0,7	0,645	0,4
rs1160871	0,23	0,618	0,827
rs1160876	0,679	0,28	0,857
rs1160894	0,613	0,596	0,878
rs1610864	0,791	0,747	0,301
rs1610875	0,869	0,255	0,939
rs1610902	0,236	0,744	0,012
rs1610941	0,841	0,429	0,274
rs200733346	0	0,008	0,132
rs16383	0,807	0,168	0,01
rs67564083	0,31	0,113	0,722
rs16388	0,472	0,798	0,99

**Tabela Suplementar 3 - Análise de Regressão Logística dos polimorfismos estudados entre casos e controles no município de Monte Santo-BA.
(continua)**

Gene	Modelos/ Genótipos	OR [95%CI]	Valor de p
<i>ACE2</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,2264
	Ins/Ins	0,729(0,43 - 1,21)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,4756
	Del/Ins + Ins/Ins	1,33 (0,61 - 3,06)	
<i>CASP8</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,534
	Ins/Ins	1,19 (0,67 - 2,09)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,4907
	Del/Ins + Ins/Ins	1,24 (0,67 - 2,36)	
<i>CYP2E1</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,273
	Ins/Ins	0,68 (0,35 - 1,36)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,666
	Del/Ins + Ins/Ins	0,40 (0,26 - 11,86)	
<i>CYP19A1</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,9
	Ins/Ins	0,77 (0,44 - 1,34)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,7517
	Del/Ins + Ins/Ins	1,11 (0,55 - 2,17)	
<i>HLAG</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,4063
	Ins/Ins	1,24 (0,739 - 2,10)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,0078
	Del/Ins + Ins/Ins	2,90 (1,35 - 6,61)	

Tabela Suplementar 3 - Análise de Regressão Logística dos polimorfismos estudados entre casos e controles no município de Monte Santo-BA.

(continuação)

<i>IL1A</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,613
	Ins/Ins	1,20 (0,57 - 2,40)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,0785
<i>IL4</i>	Del/Ins + Ins/Ins	0,61 (0,35 - 1,05)	
	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,2021
	Ins/Ins	0,56 (0,22 - 1,30)	
	Dominant		
<i>MDM2</i>	Del/Del	1	0,2818
	Del/Ins + Ins/Ins	0,74 (0,42 - 1,27)	
	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,8348
	Ins/Ins	0,93 (0,47 - 1,78)	
<i>NFKB1</i>	Dominant		
	Del/Del	1	0,8711
	Del/Ins + Ins/Ins	1,04 (0,60 - 1,81)	
	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,466133
<i>TP53</i>	Ins/Ins	0,76 (0,35 - 1,54)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,94
	Del/Ins + Ins/Ins	0,98 (0,57 - 1,68)	
	Recessive		
<i>TP53</i>	Del/Del + Del/Ins	1	0,178
	Ins/Ins	1,26 (0,048-2,25)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,027
	Del/Ins + Ins/Ins	2,05 (1,1-4,0)	

Tabela Suplementar 3 - Análise de Regressão Logística dos polimorfismos estudados entre casos e controles no município de Monte Santo-BA.

(continuação)

<i>TP5306</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,4540
	Ins/Ins	0,81 (0,47 - 1,39)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,62137
	Del/Ins + Ins/Ins	1,52 (0,32 - 11,10)	
<i>TYMS</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,398418
	Ins/Ins	1,31 (0,69 - 2,44)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,406177
	Del/Ins + Ins/Ins	1,28 (0,71 - 2,34)	
<i>UCP2</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins		0,5630
	Ins/Ins	1,16 (0,70 - 1,92)	
	Dominant		
	Del/Del		0,772826
	Del/Ins + Ins/Ins	0,87 (0,36 - 2,17)	
<i>UGT1A1</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,1642
	Ins/Ins	0,69 (0,41 - 1,15)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,2501
	Del/Ins + Ins/Ins	1,62 (0,72 - 3,81)	
<i>XRCC1</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,1510
	Ins/Ins	0,55 (0,23 - 1,20)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,7260
	Del/Ins + Ins/Ins	0,90 (0,53 - 1,54)	

Tabela Suplementar 3 - Análise de Regressão Logística dos polimorfismos estudados entre casos e controles no município de Monte Santo-BA.

(continuação)

<i>ADR2B</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,4668
	Ins/Ins	0,71 (0,27 - 1,70)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,0645
	Del/Ins + Ins/Ins	0,58 (0,32 - 1,02)	
<i>CGM03</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,1424
	Ins/Ins	1,47 (0,88 - 2,49)	
	Dominant		
	Del/Del	1	0,3952
	Del/Ins + Ins/Ins	1,64 (0,55 - 5,71)	
<i>PARI</i>	Recesivo		
	Del/Del + Del/Ins	1	0,000587
	Ins/Ins	0,39 (0,23 - 0,66)	
	Dominante		
	Del/Del		0,332697
	Del/Ins + Ins/Ins	1,72 (0,59 - 5,49)	
<i>CCR5</i>	Recessive		
	Del/Del + Del/Ins		
	Ins/Ins		
	Dominant		
	Del/Del	1	0,8876
	Del/Ins + Ins/Ins	0,94 (0,44 - 1,93)	

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo foi o primeiro a avaliar o perfil genético do câncer esporádico e hereditário em Monte Santo-BA, tendo em vista que esta população apresenta estruturação populacional e elevada consanguinidade e endogamia, fatores que justificariam a suscetibilidade genética da população à doença.

De fato, foi possível identificar dois diferentes grupos de indivíduos com câncer (esporádico e hereditário) na população através de critérios como a idade do diagnóstico e história familiar. E assim, foi possível utilizar um grupo de marcadores de suscetibilidade genética específico para cada um dos perfis.

Para os pacientes com câncer de perfil hereditário foram encontradas mutações de significado incerto, de importância farmacológica e uma mutação patogênica. A mutação patogênica *MUTYH* p.(Gly396Asp) foi encontrada em um paciente com melanoma com história familiar para a doença. Apesar dos dados da literatura serem restritos sobre a associação da mutação com esta neoplasia, existe plausibilidade biológica para justificar a associação dos casos familiares de melanoma com esta mutação. Porém, estudos adicionais seriam necessários.

Sobre os indivíduos com perfil de câncer esporádico foi possível encontrar associação entre o risco aumentado para a doença naqueles indivíduos com genótipos: Ins/Ins no polimorfismo *TP53* (rs17878362) ($p=0,027$, OR=2,05 e IC=1,1-4,0), e ao genótipo Del/Ins + Ins/Ins no polimorfismo *HLA-G* (rs371194629) ($p=0,0078$, OR=2,9 e IC=1.35 – 6,61) e efeito protetor para aqueles com genótipo Ins/Ins no polimorfismo *PAR1* (rs11267092) ($p=0,000587$ OR=0,39 e IC= 0,23 – 0,66).

Foi possível estimar a ancestralidade da população estudada, a qual apresenta elevada contribuição europeia, seguida de africana e ameríndia (66,7%, 21,2% e 12,1%, respectivamente) sem diferença estatística entre casos e controles. Esses dados estão consistentes com estudos anteriores na mesma população. Além disso, a frequência dos marcadores de suscetibilidade encontrados na amostra foram equivalentes à uma população com elevada contribuição parental europeia.

REFERÊNCIAS

- ABE-SANDES, K; SILVA, W.A.J.R.; ZAGO, M.A. Heterogeneity of the Y chromosome in Afro Brazilian populations. **Human Biology**, v.76, n.1, p.77-86, 2004.
- ACHATZ MI, *et al.* The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. **Cancer Letters**, v. 245, p. 96–102, 2007.
- ACOSTA, A. X. *et al.* Delivering Genetic Education and Genetic Counseling for Rare Diseases in Rural Brazil. **Journal of Genetic Counseling**, v. 20, p. 830-834, 2013.
- ALBERT, B. *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 5^a ed., Porto Alegre: Artmed, 2010. 1396p.
- AMADOR, M. A. T. *et al.* Distribution of allelic and genotypic frequencies of IL1A, IL4, NFKB1 and PAR1 variants in Native American, African, European and Brazilian populations. **BMC Research Notes**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2016.
- ANKATHIL, R. **Low Penetrance Genetic Variations in DNA Repair Genes and Cancer Susceptibility**. Rijeka, Croatia, 2011.
- AZEVEDO, E.S. *et al.* Mating types in a mixed and multicultural population of Salvador, Brazil. **Revista Brasileira de Genética**, v.9, n.3, p.487-496, Sept. 1986.
- BARBOSA, A.A.L. *et al.* Microsatellite studies on an isolated population of African descent in the Brazilian state of Bahia. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.1, p. 23-30, 2006.
- BOMFIM, T.F. **Ancestralidade Genômica em portadores do HIV-1 da Bahia**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2008.
- BERLINER, J. L.; FAY, A. M. Risk Assessment and Genetic Counseling for Hereditary Breast and Ovarian Cancer: Recommendations of the National Society of Genetic Counselors. **Journal of Genetic Counseling**, v. 16, n. 3, p. 241–260, 2007.
- CALLEGARI-JACQUES, S.M.; SALZANO, FM. Brazilian Indian/non-Indian interactions and their effects. **Ciência e Cultura**, v.51, p. 166-174, 1999.
- COSTA-MOTTA, F. M. *et al.* Genetic studies in a cluster of Mucopolysaccharidosis Type VI patients in Northeast Brazil. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 104, n. 4, p. 603–607, 2011.
- COSTA-MOTTA, F. M. *et al.* A community-based study of mucopolysaccharidosis type VI in Brazil: The influence of founder effect, endogamy and consanguinity. **Human Heredity**, v. 77, n. 1–4, p. 189–196, 2014.
- DANAEI, G. *et al.* Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of mine behavioral and environmental risk factor. **The Lancet**. v. n. 366, p.1784-1793, 2005.

DATASUS. [homepage na Internet]. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde. Disponível em: www.datasus.gov.br.

DOMCHEK, S. M. *et al.* Multiplex genetic testing for cancer susceptibility : out on the high wire without a net ? **J Clin Oncol.**, v. 31, n. 10, p. 2013–2016, 2013.

FELIX, G. E. S. **Estudo de mutações pontuais de BRCA1, BRCA2, CHEK2 e TP53 em pacientes com alto risco para câncer de mama e ovário hereditário.** 2014. 88 f. il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) - Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2014.

FORBES S.A. *et al.* 2010. COSMIC (the catalogue of somatic mutations in cancer): a resource to investigate acquired mutations in human cancer. *NucleicAcids Res.* 38 (DatabaseIssue): D652–57. Disponível em: <https://cancer.sanger.ac.uk/census>. Acesso em: 10 set. 2016.

FUJIMOTO, A. *et al.* Systematic analysis of mutation distribution in three dimensional protein structures identifies cancer driver genes. **Scientific Reports**, v. 6, p. 26483, 2016.

GIBBON, S. Translating population difference: the use and re-use of genetic ancestry in brazilian cancer genetics. **Medical anthropology**, v. 35, n. 1, p. 58–72, 2016.

GIOLO S.R. *et al.* Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. **European Journal of Human Genetics**, v. 20, p. 111–116, 2012.

GREEN, R. F. *et al.* Evaluating the role of public health in implementation of genomics-related recommendations: a case study of hereditary cancers using the CDC Science Impact Framework. **Genetics in Medicine**, 2018. Springer US.

HAMPEL, H. *et al.* 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. **Genetics in Medicine**, v. 17, n. 1, p. 70–87, 2015.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011

HONG, W. K.; HOLLAND, J.F. **Holland Frei cancer medicine eight.** 8 ed. Shelton: PMPH-USA, 2010, 2023 p.

INCA. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Rede nacional de câncer familiar: manual operacional.** Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2009.

INCA. **Estimativa 2018-Incidência de câncer no Brasil.** Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2017.

INCA. **Estimativa 2013-Incidência de câncer no Brasil.** Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. IBGE. Censo demográfico do Brasil de 2010. Rio de Janeiro. 2010. Disponível em: <https://censo2010.ibge.gov.br>. Acesso em: 10 abr. 2018.

KANDOTH, C. *et al.* Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. **Nature**, v 502, p 333–339, 2013.

KATABATHINA V.S.; MENIAS C.O.; PRASAD S.R. Imaging and Screening of Hereditary Cancer Syndromes. **Radiologic Clinics of North America**, v. 55, n. 6, p. 1293-1309, 2017

KEHDY, F. S. G. *et al.* Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 28, p. 8696–8701, 2015.

KUMAR, V; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins Patologia Básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 928 p.

MACHADO, T. M. B. *et al.* Types of marriages, population structure and genetic disease. **Journal of Biosocial Science**, v. 1, n.1, p.10, 2012.

MANZOLI, G.N. *et al.* Non-syndromic hearing impairment in a multi-ethnic population of Northeastern Brazil. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 77, n.7, p.1077-1082, 2013.

MANZOLI, G. N. *et al.* Targeted resequencing of deafness genes reveals a founder MYO15A variant in northeastern Brazil. **Annals of Human Genetics**, v. 80, n. 6, p. 327–331, 2016.

MARQUES, D. *et al.* Association of insertion-deletions polymorphisms with colorectal cancer risk and clinical features. **World Journal Gastroenterology**, v. 23, n. 37, p. 6854–6867, 2017.

NUSSBAUM, R.L.; MCLNNES, R.R.; WILLARD. H.F. **Thompson & Thompson Genética Médica**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008, 640p.

OLIVEIRA, Polyanna Carôzo de. **Ancestralidade genética e genes de susceptibilidade em portadores de câncer de próstata do estado da Bahia**. 82 f. il. Dissertação (Mestrado) – Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2013.

PARRA, E. J. *et al.* Estimating African American admixture proportions by use of population specific alleles. **American Journal of Human Genetics**, v.63, n.6, p.1839-51, 1998.

PARRA, E. J. *et al.* Ancestral proportions and admixture dynamics in geographically defined African Americans living in South Carolina. **American Association of Physical Anthropologists**, v.114, n.1, p.18-29, 2001.

PASKULIN, D.D. *et al.* Ancestry of the Brazilian TP53 c.1010G>A (p.Arg337His, R337H) Founder Mutation: clues from haplotyping of short tandem repeats on chromosome. **PLoS One**, v.10, n. 11, e0143262, 2015.

PON, J. R.; MARRA, M. A. Driver and Passenger Mutations in Cancer. **Annual Review of Pathology**, v. 10, n. 0, p. 25–50, 2015.

RAMAMURTHY, M. D. C. *et al.* Randomized Controlled Trials in Hereditary Cancer Syndromes. **Surgical Oncology Clinic**, v. 26, n. 4, p. 729–750, 2017

RIBEIRO, R. C. *et al.* An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. **Proceedings of the National Academy of Science, USA**, v. 98, p. 9330–9335, 2001.

SALZANO, F.M; FREIRE-MAIA, N. **Populações brasileiras: aspectos demográficos, genéticos e antropológicos**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1967.

SALZANO, F.M.; FREIRE-MAIA, N.F. **Problems in human biology: a study of Brazilian populations**. Detroit: Wayne State University Press. 1970.

SANTOS, H. C. *et al.* A minimum set of ancestry informative markers for determining admixture proportions in a mixed American population: The Brazilian set. **European Journal of Human Genetics**, v. 24, n. 5, p. 725–731, 2016.

SHIELDS, P. G.; HARRIS, C. C. Cancer risk and low-penetrance susceptibility genes in gene- environment interactions. **Journal of Clinical Oncology**, v. 18, n. 11, p. 2309–2315, 2000.

SHRIVER, M.D. *et al.* Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. **Hum Genet**, v. 112, n. 4, p.387-399, 2003.

SHRIVER, M.D. *et al.* Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. **American Journal Human Genetics**, v. 60, n. 4, p. 957-964, 1997.

STRATTON M.R.; CAMPBELL, P.J.; FUTREAL, P.A. The cancergenome. **Nature**, v. 458, n. 7239, p. 719–24, 2009.

STRATTON MR, RAHMAN N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. **Nature Genetic**, v. 40, p. 17–22, 2008.

TAMBORERO, D. *et al.* Comprehensive identification of mutational cancer driver genes across 12 tumor types. **Scientific reports**, v. 3, p. 2650, 2013.

TSAI HJ, *et al.* Admixture-matched case-control study: a practical approach for genetic association studies in admixed populations. **Human Genetic**, v. 118, p. 626–639, 2006

VOGELSTEIN, B. *et al.* Cancer Genome Landscapes. **Science**, v. 339, n. 6127, p. 1546–1558, 2013.

APÊNDICE A - Questionário de entrevista dos pacientes

QUESTIONÁRIO – SUBPROJETO CÂNCER

1	Data da entrevista:	Entrevistador:	
2	Nome do entrevistado:		
3	Nome do pai:		
4	Nome da mãe:		
5	Filiação biológica: ()1, Sim ()2, Não ()3, Não sabe informar		
6	Data de nascimento:	Idade:	
7	Cidade de nascimento:	Cidade de residência:	
8	Endereço:	CEP:	
		PSF:	
9	Telefone:		
10	RG:	CPF:	SUS:
CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA			
11	Raça/Cor () 1, Negro () 2, Pardo () 3, Branco () 4, Indígena (Auto-denominação): () 5, Outro _____		
12	Cabelo (Textura): () 1, Crespo () 2, Ondulado () 3, Liso		
13	Nariz: () 1, Achatado () 2, Médio () 3, Fino		
14	Lábios (Forma): () 1, Grossa () 2, Média () 3, Fina		
15	Pele (Cor): () 1, Preta () 2, Marrom () 3, Branca		
16	Raça/Cor () 1, Negro () 2, Mulato Escuro () 3, Mulato Médio () 4, Mulato Claro (Análise fenotípica): () 5, Branco () 6, Outros _____		
ANCESTRALIDADE REFERIDA DOS PAIS E AVÓS DO PACIENTE			
(1) Negro (2) Mulato (3) Branco (4) Índio (5) Não sabe informar (6) Outro			
17	Pai : ()	Local de nascimento:	
18	Avó Paterna: ()	Local de nascimento:	
19	Avô Paterno: ()	Local de nascimento:	
20	Mãe: ()	Local de nascimento:	
21	Avó Materna: ()	Local de nascimento:	
22	Avô Materno: ()	Local de nascimento:	

DADOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS			
23	Tipo de câncer:		
24	Diagnóstico histopatológico:		
	Data:	Onde foi realizado:	
	Peso na data de diagnóstico:	Atura:	IMC:
25	Estadiamento: () 1,I () 2,II () 3,III () 4,IV T: N: M: () () 0, Não tem dados		
25	Grau histológico: () 1, Bem diferenciado () 2, Moderadamente diferenciado () 3, Pouco diferenciado () 4, Indiferenciado () 5, Não avaliado		
26	Tratamento:		
	1, Cirurgia:	() 1, Sim	() 2, Não
	2, Radioterapia :	() 1, Sim	() 2, Não
	Associado a hormonioterapia	() 1, Sim	() 2, Não
	3, Hormonioterapia:	() 1, Sim	() 2, Não
	4, Observação :		
27	Recidiva: () 1, Sim () 2, Não	Data:	
	Tipo:		
28	Metástase: () 1, Sim () 2, Não		
	Local:		
HISTÓRICO DE CÂNCER E HÁBITOS			
29	Histórico familiar de câncer: () 1, Sim () 2, Não		
	Parentesco:	Tipo:	Parentesco: Tipo:
30	Hábito de fumar: () 1, Sim () 2, Não		
	Tipo de fumo:		
	Frequência:		
31	Hábito de ingerir bebida alcoólica: () 1, Sim () 2, Não		
	Tipo de bebida:		
	Frequência:		

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Nome do projeto: CENSO "GENÉTICA NO SERTÃO":
EPIDEMIOLOGIA**

**CLÁSSICA E MOLECULAR DE DOENÇAS GENÉTICAS NO MUNICÍPIO
DE MONTE SANTO-BA,**

Pesquisador Responsável: Dra Angelina Xavier Acosta Professora Adjunta da FMB/UFBA Chefe do Serviço de Genética Médica do HUPES/UFBA	Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais – APAE/Salvador
Instituições Envolvidas: Laboratório de Genética Médica HUPES/UFBA Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular- LABIMUNO/ICS/UFBA Departamento de Ciências da Vida – DCV/UNEB	Dúvidas: E-mail: axacosta@hotmail.com Telefones: (71) 3283 8109/ (71) 3176 2246
	Comitê de Ética em Pesquisa: <u>CEP HUPES</u> Hospital Universitário Prof, Edgar Santos Av Augusto Viana, s/n, Canela Telefone: (71) 3283 8043

Você está sendo convidado a participar como voluntário de um projeto de pesquisa que irá estudar – analisar, pesquisar – doenças genéticas no município de Monte Santo, Este município está localizado no chamado polígono da seca (IBGE-2003) e possui uma população de aproximadamente 53,429 habitantes, Desde o ano de 2006, inúmeros estudos têm sido realizados no município, evidenciando a presença de variadas condições clínicas de etiologia genética que incluem surdez congênita, câncer, deficiência mental, distúrbios metabólicos, anomalias congênitas e outras síndromes genéticas, Neste estudo, pretende-se através da estratégia de saúde da família, realizar um censo com todas as famílias cadastradas no município, objetivando identificar doenças genéticas, como se distribuem e quais os elementos determinantes, ambientais ou moleculares, utilizando-se para isso de ferramentas de epidemiologia molecular para a elaboração de políticas de saúde pública no município,

Além disso, será analisado o material genético das pessoas afetadas por alguma dessas doenças citadas acima, com a finalidade de diagnóstico, bem como daquelas que não tiverem doença genética, para a comparação entre elas, O material genético é composto pelo DNA, que é responsável por determinar a vida e funcionamento das células (menor unidade do corpo humano) e é passado de pais para filhos, Algumas alterações no DNA podem ocasionar atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, deficiência mental, malformações ao nascimento, surdez, retardo de crescimento, regressão neurológica, convulsões, hipotonia, dismorfias, câncer, dentre outros, O estudo do DNA também pode informar qual a ancestralidade da pessoa (origem da pessoa), Isso também será feito neste estudo para sabermos se a ancestralidade pode ser considerada um outro fator de risco para doenças genéticas em Monte Santo,

A participação nesta pesquisa não traz complicações legais, Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resoluções no, 196/96, 340/04 e 347/05 do Conselho Nacional de Saúde,

Você irá compor um grupo de pessoas que, provavelmente, possui alguma doença genética (casos) ou o grupo de pessoas consideradas sem doença genética (controle), Caso você concorde em participar desta pesquisa irá responder um questionário para coleta de dados pessoais e informações sobre o histórico pessoal e familiar e, além disto, será realizada a coleta de sangue e/ou urina em quantidade variável, a depender da necessidade do exame que seja solicitado, utilizando material apropriado (tubos e agulhas estéreis e descartáveis), Essa coleta poderá provocar desconforto temporário causado pela picada de agulha, queimor, e, muito raramente, hematoma (roxidão) e infecção, A participação no estudo também autoriza que as amostras coletadas sejam armazenadas, Entretanto, para o caso de ser necessária a utilização da amostra em novos estudos, você será comunicado e será solicitada uma nova autorização, desde que os estudos adicionais sejam também analisados pelo CEP,

Você pode auxiliar neste estudo autorizando a realização de exames médicos, exame físico, exames bioquímicos, citogenéticos e de biologia molecular, permitindo o uso de fotografias quando a equipe médica julgar alguma característica relevante e por fim, autorizando a publicação desses dados,

O material coletado e o questionário respondido serão processados, analisados e estocados no Laboratório de Genética Médica do HUPES/UFBA, Você terá acesso ao mesmo e também poderá solicitar sua retirada a qualquer tempo, basta que entre em contato com o pesquisador responsável e faça a solicitação,

Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais, Somente o(a) pesquisador(a) e o(a) orientador(a) terão conhecimento dos dados, que serão tabulados sem a identificação do nome, Os dados, quando publicados em meios científicos não mencionarão a identidade dos participantes da pesquisa,

O estudo não desempenhará quaisquer riscos a saúde dos mesmos, todavia a coleta do material biológico, como mencionado, poderá causar leve desconforto, Você será beneficiado participando desta pesquisa, pois esta irá gerar informações sobre doenças genéticas no município de Monte Santo, além de desenvolver e validar um questionário capaz de identificar estas doenças no contexto da Estratégia de Saúde da Família e realizar a busca ativa de casos suspeitos, determinando, assim, a prevalência de surdez congênita, deficiência mental, câncer e outras doenças de provável etiologia genética, Além disso, caso seja diagnosticado alguma das doenças genéticas citadas acima, o paciente será encaminhado para acompanhamento em serviços especializados e a família realizará o aconselhamento genético apropriado com especialistas na área,

Esperamos que este estudo possa contribuir com informações que auxiliem nas medidas de saúde para a diminuição da incidência dessas doenças, através do aconselhamento genético, Você terá a opção de escolher conhecer ou não os resultados dos seus exames e neste caso, a informação será passada em reunião, em data e local combinados após contato telefônico,

Você não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação, Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa, Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

Programa de Orientação de Conduta e Encaminhamento para Câncer

Caso esta pesquisa verifique a existência de marcadores genéticos que estejam desempenhando aumento no risco de desenvolvimento de câncer na população de Monte Santo, o (a) senhor (a), sendo identificado como portador de algum desses marcadores genéticos, será considerado como integrante de grupo de risco, Desta forma, será contatado e convidado (a) a participar de uma reunião na qual será informado (a) sobre os resultados da pesquisa, os índices de risco mensurados sob o ponto de vista populacional, e receberá orientações, em conjunto ou individualmente, sobre as formas de prevenção ou de redução de danos, disponíveis, Ressalta-se que ser considerado integrante de grupo de risco não significa que irá desenvolver ou que seus descendentes irão desenvolver o câncer, apenas identifica a presença do risco, podendo ou não resultar na doença, que por sua vez dependerá das condições e estilo de vida de cada indivíduo,

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu recebi uma cópia deste documento, e tenho o direito de negar ou desistir de participar deste estudo em qualquer momento, A PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA É VOLUNTÁRIA,

Eu _____, R,G _____,
refirmando que tenho ciência do acima exposto, concordo em participar desse estudo, e estou ciente que tenho:

1, A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa a que serei submetido;

2, A liberdade de não querer saber os resultados dos meus exames;

3, A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo sem que isso traga prejuízo à continuação dos meus cuidados;

4, A segurança de que, em caso de serem realizados novos estudos, nos quais os dados fornecidos, coletados e obtidos poderão ser utilizados, serei consultado para autorização da utilização do meu material nestes estudos, e somente quando isso não for possível, o Comitê de Ética em Pesquisa poderá ser contatado para que seja justificada impossibilidade de nova autorização, Contudo, opto pela:

() 1, Necessidade de novo consentimento a cada pesquisa;

() 2, Dispensa de novo consentimento a cada pesquisa,

5, A garantia de livre acesso aos meus exames genéticos e a liberdade de solicitar retirada do meu material do banco de armazenamento a qualquer momento;

6, A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com minha privacidade, bem como as informações coletadas somente serão acessíveis aos pesquisadores, não sendo permitido acesso à terceiros,

7, O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando;

8, A disponibilidade de tratamento médico e indenização que legalmente teria direito, em caso de danos diretamente causados pela pesquisa que os justifique, serão custeados pelos pesquisadores;

9, O conhecimento de que se existirem gastos adicionais estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa,

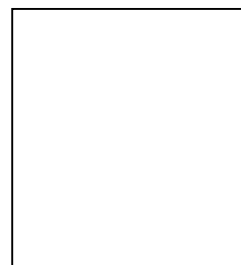
Monte Santo, _____ de _____ de _____

Participante ou Responsável Legal

Pesquisador Responsável

Testemunha 1: _____

Testemunha 2: _____



Polegar

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
 PROF. EDGARD SANTOS-
 UFBA - HUPES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CENSO "GENÉTICA NO SERTÃO": EPIDEMIOLOGIA CLÁSSICA E MOLECULAR DE DOENÇAS GENÉTICAS NO MUNICÍPIO DE MONTE SANTO-BA.

Pesquisador: Angelina Xavier Acosta

Área Temática: Área 1. Genética Humana.
 (Trata-se de pesquisa envolvendo genética humana não contemplada acima.);

Versão: 2

CAAE: 17885313.1.1001.0049

Instituição Proponente: Hospital Universitário Prof. Edgard Santos-UFBA

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 379.010

Data da Relatoria: 09/09/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo observacional descritivo e analítico, realizado em corte transversal, que será constituído em duas etapas: primeiro será elaborado um censo populacional para a determinação da prevalência de patologia genéticas, e numa segunda etapa, será realizada um amostragem randomizada desta população, para elaboração de estudos de caso-controle para validação do questionário aplicado e análise dos fatores de risco genéticos e ambientais envolvidos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Desenvolver e validar um questionário capaz de identificar doenças genéticas no contexto da Estratégia de Saúde da Família.

Objetivo Secundário:

Realizar a busca ativa de casos suspeitos, determinar a prevalência de surdez congênita, deficiência mental, câncer e outras doenças de provável etiologia genética, e sua distribuição geográfica em Monte Santo-BA.

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar

Bairro: Canela

CEP: 40.110-060

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-8043

Fax: (71)3283-8140

E-mail: cep.hupes@gmail.com

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
 PROF. EDGARD SANTOS-
 UFBA - HUPES



Continuação do Parecer: 379.010

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não haverá riscos aos sujeitos da pesquisa.

Um completo programa de genética médica foi estabelecido em Monte Santo, um município do interior do estado da Bahia, que apresenta alta prevalência de diversas doenças genéticas autossômicas recessivas, incluindo a surdez hereditária não sindrômica (SHNS), fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito e mucopolissacaridose tipo VI (síndrome de Maroteaux-Lamy). Educação em saúde, aconselhamento genético e tratamento são fornecidos localmente ou na capital do Estado, em colaboração com o Hospital Universitário

da Universidade Federal da Bahia. Um programa inédito de triagem neonatal para MPSVI também foi estabelecido no município, onde a prevalência da doença é a maior do mundo (ACOSTA, ABÉ-SANDES, GIUGLIANI e BITTLES, 2013).

Introdução:

Tamanho da Amostra no Brasil: 15.600

Benefícios:

Determinação da confiabilidade, sensibilidade e especificidade de um instrumento de coleta de informações com uso destinado aos ACS para identificação de doenças genéticas; Conhecimento da prevalência de surdez congênita, deficiência mental, câncer e outras doenças de provável etiologia genética, e o mapeamento das condições de saúde por seguimentos, áreas, micro-áreas de saúde do município de Monte Santo-BA;

Estimativa da prevalência de mutações genéticas ou fatores não genéticos causadores ou de risco para as doenças identificadas e seu mapeamento por seguimentos, áreas, micro-áreas de saúde do município de Monte Santo-BA; Conhecimentos das mutações genéticas ou fatores de risco ambientais associadas ao aumento do risco de câncer e identificação de grupos ou áreas de risco.

Estimativa da contribuição das populações ancestrais africana, européia e ameríndia e a identificação de grupos étnico-geográficos de risco para doenças genéticas investigadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide conclusões.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide conclusões.

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar
Bairro: Canela **CEP:** 40.110-060
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-8043 **Fax:** (71)3283-8140 **E-mail:** cep.hupes@gmail.com

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
PROF. EDGARD SANTOS-
UFBA - HUPES



Continuação do Parecer: 379.010

Recomendações:

vide Conclusões.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Revisar metodologia com maior clareza das etapas, grupos experimentais, instituições envolvidas. (Adequado)
- Formulários e dados coletados em cada etapa. (Adequado)
- TCLE não deve ser dispensado e devem ser dois: para o censo com formulário especial e outro para a etapa de coleta de material biológico. (Adequado)
- Incluir riscos referente a constrangimento no censo e material biológico, determinar destino do material biológico (biorrepositório?). (Adequado)

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 466/12 em substituição a Res CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA junto com seu posicionamento.

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar
Bairro: Canela **CEP:** 40.110-060
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-8043 **Fax:** (71)3283-8140 **E-mail:** cep.hupes@gmail.com

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
PROF. EDGARD SANTOS-
UFBA - HUPES



Continuação do Parecer: 379.010

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em ____/____/____ e ao término do estudo.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo-HUPES, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Projeto aprovado.

SALVADOR, 30 de Agosto de 2013

Assinador por:
Roberto José da Silva Badaró
(Coordenador)

Endereço: Rua Augusto Viana, s/nº - 1º Andar
Bairro: Canela **CEP:** 40.110-060
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-8043 **Fax:** (71)3283-8140 **E-mail:** cep.hupes@gmail.com