

**PREVALÊNCIA POPULACIONAL
DE VARIANTES GERMINATIVAS PATOGÊNICAS
NO GENE *TP53***

KELVIN CÉSAR DE ANDRADE

**Tese apresentada à Fundação Antônio
Prudente para a obtenção do Título de Doutor
em Ciências**

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski

**Co-Orientadora: Dra. Maria Isabel Alves de
Souza Waddington Achatz**

São Paulo

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Andrade, Kelvin César de
Prevalência populacional de variantes germinativas patogênicas no gene *TP53* / Kelvin César de Andrade – São Paulo, 2018.
83p.
Tese (Doutorado) - Fundação Antônio Prudente.
Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.
Orientador: Luiz Paulo Kowalski

Descritores: 1. Síndrome de Li-Fraumeni/Li-Fraumeni Syndrome. 2. Genes *TP53*/Genes, p53. 3. Mutação em Linhagem Germinativa/Germ-Line Mutation. 4. Variação Genética/Genetic Variation.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota”.

Theodore Roosevelt

DEDICATÓRIA

À minha mãe Ana de Andrade, por seu amor e apoio incondicional. Mesmo distante, sempre compreendeu a profissão e o futuro que escolhi seguir.

Ao meu pai Márcio de Andrade (*in memoriam*), grande incentivador do meu interesse em pesquisas relacionadas ao câncer.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski, Dra. Maria Isabel Achatz e Dra. Sharon A. Savage por todo o ensinamento, incentivo e apoio ao longo do doutorado.

Às minhas amigas de longa data, Fernanda P. Fortes, Karina M. Santiago, Maisa Pinheiro, pelas “preças que a vida pega na gente”.

Aos amigos que fiz durante a minha estadia nos EUA, em especial Pedro Saint-Maurice, Helga Miguel, Rotana Alsaggaf e Leah Vansciver.

A todos os integrantes do Clinical Genetics Branch, em especial Megan Frone, Talia Wegman-Ostrosky, Payal Khincha, Jennifer Young e Jung Kim.

A todos os co-autores dos artigos, em especial Pierre Hainaut, Douglas Stewart e Lisa Mirabello pelas contribuições, discussões e incentivos.

Às funcionárias da pós-graduação Ana Kuninari, Luciana e Karla, por toda a ajuda quanto aos processos do programa da instituição.

RESUMO

Andrade KC. **Prevalência populacional de variantes germinativas patogênicas no gene *TP53***. São Paulo; 2018. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

Recentes indicações de um fenótipo mais variável e uma menor penetrância de câncer na síndrome de Li-Fraumeni (LFS) levantaram questões a respeito da verdadeira prevalência populacional da síndrome. Investigações anteriores, baseadas em contextos clínicos, propuseram que as estimativas de prevalência populacional de LFS poderiam variar entre um portador a cada 5.000 a 20.000 indivíduos. O primeiro artigo demonstrou que a prevalência populacional de variantes patogênicas e provavelmente patogênicas no gene *TP53*, as principais causas de LFS, é mais alta do que a esperada em uma população não selecionada pelo histórico de câncer. Nós sugerimos que a prevalência populacional poderia ser de até 10x mais alta do que previamente descrita. O segundo artigo teve como objetivo avaliar e validar as estimativas de prevalência de variantes germinativas em *TP53* no banco de dados do gnomAD, que inclui variações genéticas de mais de 130.000 indivíduos. Variantes em *TP53* foram selecionadas e classificadas com base em nosso algoritmo previamente descrito. Além disso, nós fornecemos estimativas de prevalência alternativas com base na classificação de três bancos de dados, ClinVar, HGMD e o portal UMD_*TP53*. Com base nessa nova análise, nós observamos que a prevalência populacional de variantes germinativas patogênicas e provavelmente patogênicas no gene *TP53* é, de fato, maior do que previamente descrita. Contudo, as estimativas podem variar drasticamente (0,02-0,25%) devido a diferentes classificações e a algumas variantes específicas em *TP53* que podem estar associadas a um risco inflacionado (p.N235S, p.V31I e p.R290H). Abordagens interdisciplinares são necessárias para melhor entender a interação entre classificação de variantes em *TP53*, estimativas de prevalência, penetrância de câncer e fenótipo em LFS.

SUMMARY

Andrade KC. [**Population prevalence of pathogenic germline *TP53* variants**]. São Paulo; 2018. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente]

Recent suggestions of a variable Li-Fraumeni syndrome (LFS) phenotype and a lower LFS-associated cancer penetrance have raised questions regarding the true disease population prevalence. Earlier investigations, based on clinical contexts, had proposed that the estimated population prevalence of LFS could be between the range of one carrier in every 5,000-20,000 individuals. The first article reported a higher-than-expected population prevalence of pathogenic and likely pathogenic germline *TP53* variants in a population unselected for cancer history. We suggested that the population prevalence could be up to 10x higher than previously described in clinically-based studies. The second article aimed to further evaluate germline *TP53* variant prevalence estimates in the gnomAD database, which includes germline variation from over 130,000 individuals. Variants were selected and classified based on our previously published algorithm. In addition, we provided alternative prevalence estimates based on three other classifications databases, ClinVar, HGMD, and the UMD_*TP53* website. Based on the new analysis, we observed that the population prevalence of pathogenic and likely pathogenic *TP53* variants is indeed higher than previously described. However, the estimates can vary widely (0.02-0.25%) due to differences in variant classifications and due to some specific *TP53* variants that may be associated with inflated risk (p.N235S, p.V31I, and p.R290H). Comprehensive approaches are needed to better understand the interplay of germline *TP53* variant classification, prevalence estimates, cancer penetrance and phenotype of LFS.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AC*	<i>Allele count</i>
ACMG*	<i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>
ADR	<i>Carcinoma de adrenocortical</i>
AFR*	<i>African/African American</i>
AMR*	<i>Latino</i>
ANNOVAR*	<i>Annotate Variation</i>
API*	<i>Application Programming Interface</i>
ClinGen*	<i>Clinical Genome Resource</i>
CPC	<i>Carcinoma de plexo coróide</i>
CPS-II*	<i>Cancer Prevention Study II</i>
DM*	<i>Disease causing mutation</i>
DM?*	<i>Disease causing mutation?</i>
DNA*	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EAGLE*	<i>Environment and Genetics in Lung Cancer Etiology</i>
EAS*	<i>East-Asian</i>
ExAC*	<i>Exome Aggregation Consortium</i>
F*	<i>Functional</i>
FIN*	<i>Finnish</i>
FLOSSIES*	<i>Fabulous Ladies Over Seventy</i>
FP*	<i>in vitro or in vivo functional polymorphism</i>
GATK*	<i>Genome Analysis Toolkit</i>
GDC*	<i>Genomic Data Commons</i>
gnomAD*	<i>Genome Aggregation Database</i>
HET*	<i>Heterozygous</i>
HGMD*	<i>Human Gene Mutation Database</i>
HPC*	<i>High-Performance Computing</i>
IARC*	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
LAML*	<i>Acute myeloid leukemia</i>
LB*	<i>Likely benign</i>

LFS*	<i>Li-Fraumeni syndrome</i>
LP*	<i>Likely pathogenic</i>
MAF*	<i>Minor allele frequency</i>
NCI*	<i>National Cancer Institute</i>
NF*	<i>Non-functional</i>
NFE*	<i>Non-Finnish</i>
NIH*	<i>National Institutes of Health</i>
OMIM*	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
OTH*	<i>Other</i>
P*	<i>Pathogenic</i>
PF*	<i>Partially functional</i>
PLCO*	<i>Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer</i>
PP*	<i>Possibly pathogenic</i>
REF*	<i>Reference</i>
REVEL*	<i>Rare Exome Variant Ensemble Learner</i>
S*	<i>Supertrans</i>
SAS*	<i>South-Asian</i>
SNC	<i>Sistema nervoso central</i>
SNP*	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
SO	<i>Sarcoma ósseo</i>
SPM	<i>Sarcoma de partes moles</i>
TA*	<i>Transcriptional activity</i>
TCGA*	<i>The Cancer Genome Atlas</i>
UMD*	<i>Universal Mutation Database</i>
USA*	<i>United States of America</i>
UTR*	<i>Untranslated region</i>
VAR*	<i>Variant</i>
VEP*	<i>Variant Effect Predictor</i>
VUS*	<i>Variant of uncertain significance</i>
WES*	<i>Whole-exome sequencing</i>

*siglas derivadas do inglês

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	A síndrome de Li-Fraumeni: definição e espectro tumoral	1
1.2	Variantes germinativas patogênicas no gene <i>TP53</i> como principais responsáveis pela LFS	3
1.3	Penetrância variável na LFS.....	4
1.4	Prevalência populacional de variantes germinativas patogênicas no gene <i>TP53</i>	7
2	OBJETIVOS	9
2.1	Objetivo geral	9
2.2	Objetivos específicos.....	9
2.2.1	Artigo #1	9
2.2.2	Artigo #2	10
3	ARTIGO #1	11
4	ARTIGO #2	49
5	CONCLUSÕES	77
6	COMENTÁRIOS ADICIONAIS	79
6.1	Comentário na edição do periódico Human Mutation.....	79
6.2	Prêmio recebido	79
6.3	Atualizações dos bancos de dados clínicos	79
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

ANEXOS

Anexo 1 Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP

- Anexo 2** Artigo #1 publicado no periódico *Human Mutation*
- Anexo 3** Confirmação de submissão do artigo “*Differences in germline TP53 variant classifications affect the estimates of population prevalence of Li-Fraumeni syndrome: a gnomAD-based analysis*” para a revista *Genetics in Medicine*.
- Anexo 4** Comentário publicado por David M. Thomas na sessão “*In this Journal*” do periódico *Human Mutation* sobre os resultados publicados no artigo #1.
- Anexo 5** Certificado de premiação do aluno e do manuscrito como um dos semifinalistas do prêmio “*2017 ASHG/Charles J. Epstein Award for Excellence in Human Genetics Research*” referente ao artigo #1.

1 INTRODUÇÃO

1 A SÍNDROME DE LI-FRAUMENI: DEFINIÇÃO E ESPECTRO TUMORAL

A síndrome de Li-Fraumeni (LFS, do inglês Li-Fraumeni syndrome; OMIM #151623) é uma doença de predisposição hereditária ao câncer que foi inicialmente descrita em 1969 por Frederick Li e Joseph Fraumeni. A partir da investigação de prontuários médicos de crianças diagnosticadas com rabdmiossarcoma, os pesquisadores identificaram outros membros familiares também acometidos por câncer. Devido a esta combinação de múltiplos indivíduos afetados, os autores propuseram a descoberta de uma nova síndrome hereditária ao câncer sugestiva de um padrão autossômico dominante de segregação (LI e FRAUMENI 1969a, b).

Em 1988, com base em um estudo prospectivo composto por 24 famílias, o critério definido como “clássico” de diagnóstico de LFS foi caracterizado pelos seguintes parâmetros: probando diagnosticado com sarcoma antes dos 45 anos de idade acompanhado de um familiar de primeiro grau com qualquer câncer antes dos 45 anos de idade, e outro familiar de primeiro ou segundo grau com qualquer câncer antes dos 45 anos, ou sarcoma em qualquer idade (LI et al. 1988). Desde então, uma série de outros critérios foram estabelecidos (BIRCH et al. 1994; EELES 1995; CHOMPRET et al. 2001; TINAT et al. 2009), incluindo o mais recente

publicado em 2015 denominado “Critério de Chompret revisado” (BOUGEARD et al. 2015), e que é constituído por: um probando com câncer típico da LFS antes dos 46 anos; e ao menos um familiar de 1º ou 2º grau com câncer típico da LFS (exceto câncer de mama se o probando tiver câncer de mama) antes dos 56 anos ou com múltiplos tumores; ou probando com múltiplos tumores (exceto múltiplos casos de câncer de mama), sendo que dois destes devem pertencer aos espectro LFS e o primeiro deve ter se desenvolvido antes dos 46 anos; ou probando com carcinoma de adrenocortical (ADR), carcinoma de plexo-coróide (CPC) ou rabdomiossarcoma embrionário de subtipo anaplásico, independente da história familiar; ou probando diagnosticado com câncer de mama antes dos 31 anos de idade (Quadro 1).

O aprimoramento da identificação de famílias LFS tem possibilitado a inclusão de novos tumores associados à síndrome, bem como a concretização dos tipos tumorais que fazem parte do espectro principal da doença. Em crianças (entre 0 e 15 anos), grande parte dos acometimentos é devido à ADR, CPC, rabdomiossarcoma e meduloblastoma. Em jovens e adultos (entre 16-51 anos), o domínio é caracterizado por câncer de mama na pré-menopausa e sarcomas de partes moles (SPM) e sarcomas ósseos (SO). Nesta faixa etária, leucemia, câncer colorretal e tumores do sistema nervoso central (SNC) também são encontrados, mas em menor proporção. Em idades mais avançadas (entre 51-80 anos), os dois tipos tumorais mais detectados são os cânceres pancreáticos e de próstata (BOUGEARD et al. 2015; AMADOU et al. 2017).

Quadro 1 - Critérios clínicos para o diagnóstico da LFS.

Classificação	Descrição	Referência
LFS Clássico	<ul style="list-style-type: none"> • Probando diagnosticado com sarcoma antes dos 45 anos de idade; E - Um familiar de 1º grau com qualquer câncer antes dos 45 anos de idade; E - Outro familiar de 1º ou 2º grau com qualquer câncer antes dos 45 anos ou sarcoma em qualquer idade. 	LI et al. 1988
Chompret 2015	<ul style="list-style-type: none"> • Probando com câncer típico da LFS antes dos 46 anos; E - Ao menos um familiar de 1º ou 2º grau com câncer típico da LFS (exceto câncer de mama se o probando tiver câncer de mama) antes dos 56 anos ou com múltiplos tumores; OU • Probando com múltiplos tumores (exceto múltiplos casos de câncer de mama), sendo que dois destes devem pertencer ao espectro LFS e o primeiro deve ter se desenvolvido antes dos 46 anos; OU • Probando com ADR, CPC ou rabdomiossarcoma embrionário de subtipo anaplásico, independente da história familiar; OU • Probando diagnosticado com câncer de mama antes dos 31 anos de idade. 	BOUGEARD et al. 2015

Abreviações: LFS: síndrome de Li-Fraumeni; SPM: sarcoma de partes moles; SNC: tumores do sistema nervoso central; ADR: carcinoma de adrenocortical; CPC: carcinoma de plexo coróide. Espectro típico da LFS é composto por SPM, ADR, SNC, SO e câncer de mama pré-menopausa.

1.2 VARIANTES GERMINATIVAS PATOGÊNICAS NO GENE *TP53* COMO PRINCIPAIS RESPONSÁVEIS PELA LFS

Em 1990, variantes germinativas no gene *TP53* foram postuladas como as principais responsáveis pela LFS (MALKIN et al. 1990). Variantes germinativas em *TP53* podem ser detectadas em cerca de 70% das famílias LFS clássicas (VARLEY et al. 1997), e entre 18% (TINAT et al. 2009) a 21% (RUIJS et al. 2010) em famílias que preenchem outros critérios.

Novas tecnologias de sequenciamento têm possibilitado novas estratégias de identificação de pacientes portadores da LFS. Um grupo de pesquisa francês recentemente demonstrou que dentro de um grupo de 336 pacientes LFS, a frequência de variantes *de novo* foi de 14%, ressaltando a importância de que um histórico familiar de câncer nem sempre é obrigatório para o diagnóstico da síndrome. Além disso 108 pacientes sugestivos de LFS, mas sem variantes germinativas em *TP53* detectadas por métodos convencionais de sequenciamento, foram reavaliados com base em plataformas de alta cobertura (acima de 500X). Destes, seis tiveram variantes germinativas detectadas com uma fração alélica sugestiva de mosaicismo (RENAUX-PETEL et al. 2018).

Com a gradativa diminuição do custo destas plataformas de nova geração, sequenciamentos de exoma têm possibilitado uma maior abrangência e descoberta de outros genes que podem estar relacionados à LFS. Por exemplo, variantes no gene *CHEK2* podem ser detectadas em até 9% das famílias clinicamente sugestivas de LFS, mas com resultados negativos para variantes em *TP53* (RUIJS et al. 2009). Devido aos diversos tumores que podem ser encontrados na LFS, outro fator que deve ser considerado é a sobreposição com outras síndromes de câncer hereditário (SILVA et al. 2012b; SAAM et al. 2015).

1.3 PENETRÂNCIA VARIÁVEL NA LFS

Estudos anteriores propuseram que a LFS possui uma penetrância de câncer perto dos 100% por volta dos 70 anos de idade. Uma análise

composta por 322 portadores de variantes em *TP53* demonstrou que a idade média de primeiro desenvolvimento de câncer é aos 25 anos de idade (BOUGEARD et al. 2015). Resultados similares também foram encontrados com base em 286 indivíduos LFS com variantes em *TP53* da coorte do *National Cancer Institute* (NCI). Neste estudo, a penetrância de câncer foi calculada como sendo de até 50% aos 31 anos de idade para as mulheres e 46 para os homens, alcançando os 100% aos 70 anos de idade para ambos os sexos (MAI et al. 2016).

Entretanto, uma reavaliação do banco de dados mundial do *International Agency for Research on Cancer* (IARC) composto por 2.079 portadores de variantes germinativas em *TP53* confirmados por teste genético ou “obrigatórios”, devido ao contexto familiar, proporcionou estimativas mais conservadoras. De acordo com este estudo, os portadores apresentam um risco de 58% de desenvolver um câncer antes dos 40 anos de idade. Diferentemente dos estudos prévios, a penetrância de câncer até os 70 anos de idade foi estimada como sendo de 80%. Na infância e na adolescência, homens possuem um maior risco devido ao alto índice de SPM e SNC. Em contrapartida, a penetrância de câncer em adultos é consideravelmente maior em mulheres devido à alta ocorrência de câncer de mama na faixa dos 33-36 anos de idade (AMADOU et al. 2017).

Esta penetrância de câncer extremamente variável é atribuída principalmente ao tipo de variante em *TP53* que o indivíduo apresenta. Cerca de 38% das famílias que preenchem os critérios LFS possuem uma das 14 variantes mais comumente encontradas, incluindo cinco códons do

domínio de ligação ao DNA que são reconhecidos como *hotspots* mutacionais (175 245 248 273, e 282) (AMADOU et al. 2017). As variantes associadas com uma maior penetrância de câncer são as p.R248W, p.R273H, p.R282W e p.R175H que podem conferir um risco de até 50% aos 30 anos de idade. Do outro extremo do gradiente, variantes como a p.R213Q e p.T125T possuem um risco estimado de em torno de 20% até a mesma faixa etária (BOUGEARD et al. 2015; AMADOU et al. 2017; GUHA e MALKIN 2017). Diversos modificadores de penetrância também têm sido descritos, tais como variações em reguladores de *TP53* (BOUGEARD et al. 2006; FANG et al. 2010), miRNA (ID SAID e MALKIN 2015), comprimento telomérico (TABORI et al. 2007; TRKOVA et al. 2007), variações no número de cópias (CNVs, do inglês copy number variations) (SHLIEN et al. 2008; SILVA et al. 2012a) e variantes intrônicas no próprio gene *TP53* (MARCEL et al. 2009).

Outro fator recentemente indicado como responsável pela crescente descoberta da variabilidade fenotípica na LFS é o uso de painéis multi-genes para o diagnóstico de síndromes de predisposição hereditária ao câncer. Em comparação com os métodos mais convencionais de sequenciamento, baseados na análise de um único gene, os indivíduos testados por um painel tiveram uma idade média de diagnóstico do primeiro câncer significativamente maior (oito anos para mulheres, e 25 anos para homens). Além disso, indivíduos detectados com variantes germinativas em *TP53* por meio de painéis tiveram uma menor frequência de cânceres infantis,

cânceres do espectro principal da síndrome, e foram menos propensos a preencherem os critérios clínicos de diagnóstico de LFS (RANA et al. 2018).

Estas recentes observações de uma menor penetrância de câncer e fenótipo mais variável em LFS do que anteriormente proposto, sugerem que a prevalência populacional de LFS poderia ter sido, até o momento, subestimada.

1.4 PREVALÊNCIA POPULACIONAL DE VARIANTES GERMINATIVAS PATOGÊNICAS NO GENE *TP53*

Antes do início deste projeto, dois estudos tinham empiricamente sugerido estimativas de prevalências populacionais de variantes patogênicas no gene *TP53*. Em 2003, o primeiro estudo foi baseado em uma coorte de 278 mulheres diagnosticadas com câncer de mama antes dos 30 anos, selecionadas por meio do *North West Regional Cancer Registry* da Inglaterra. Variantes patogênicas em *TP53* foram detectadas em 2 mulheres dentre as 36 descritas como tendo históricos familiares de câncer. De forma não totalmente clara, os autores propuseram que a prevalência ao nascimento de variantes em *TP53* era estimada em 1 indivíduo a cada 5.000 (LALLOO et al. 2003). Em 2009, um estudo composto por 525 pacientes, sendo que deles, 87% tinham contextos familiares que preenchiam qualquer um dos critérios LFS, encontrou variantes patogênicas no gene *TP53* em 91 indivíduos (17%). Os autores sugerem que a prevalência populacional de variantes patogênicas em *TP53* pode ser de até 1 indivíduo em cada 20.000

(GONZALEZ et al. 2009). Entretanto, de forma similar ao estudo anterior, o cálculo realizado não é perfeitamente compreensível.

A natureza destes estudos, baseados em pequenas coortes recrutadas sob um contexto clínico, indicavam que as estimativas de prevalência populacional de variantes germinativas patogênicas no gene *TP53* poderiam estar enviesadas. Diversos bancos de dados de sequenciamento de nova geração têm sido divulgados nos últimos anos. Estas ferramentas fornecem uma valiosa contribuição pois permitem investigações de variantes genéticas em genes de interesse para diversas doenças humanas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estimar a prevalência populacional de variantes germinativas patogênicas e provavelmente patogênicas no gene *TP53* por meio da avaliação de bancos de dados de sequenciamento.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Artigo #1

O objetivo do artigo #1 intitulado “*Higher-than-expected population prevalence of potentially pathogenic germline TP53 variants in individuals unselected for cancer history*” foi investigar a prevalência populacional de variantes germinativas patogênicas e provavelmente patogênicas no gene *TP53* em bancos de dados de sequenciamento compostos por indivíduos que não foram selecionados devido ao histórico pessoal ou familiar de câncer (Anexo 2).

2.2.2 Artigo #2

O objetivo do artigo #2 intitulado “*Differences in germline TP53 variant classifications affect the estimates of population prevalence of Li-Fraumeni syndrome: a gnomAD-based analysis*” foi validar os achados anteriores sobre a prevalência de variantes germinativas no gene *TP53* em um banco de dados de sequenciamento composto por mais de 130.000 indivíduos. Além disso, devido a diferenças em classificação de variantes, incorporamos outras estimativas de prevalência populacional com base na classificação fornecida por outros bancos de dados (confirmação de submissão, Anexo 3).

3 ARTIGO #1

Higher-than-expected population prevalence of potentially pathogenic germline *TP53* variants in individuals unselected for cancer history.

Author list: Kelvin C. de Andrade^{1,2}, Lisa Mirabello¹, Douglas R. Stewart¹, Eric Karlins³, Roelof Koster⁴, Mingyi Wang³, Susan M. Gapstur⁵, Mia M. Gaudet⁵, Neal D. Freedman⁶, Maria T. Landi⁷, Nathanaël Lemonnier⁸, Pierre Hainaut⁸, Sharon A. Savage¹, Maria I. Achatz¹

Institutions:

¹ Clinical Genetics Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, MD, USA

² International Research Center, A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil.

³ Cancer Genomics Research Laboratory, National Cancer Institute, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, Leidos Biomedical Research Inc., Bethesda, MD, USA

⁴ Laboratory of Genetic Susceptibility, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.

⁵ Epidemiology Research Program, American Cancer Society, Atlanta, GA, USA.

⁶ Metabolic Epidemiology Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, MD, USA

⁷ Integrative Tumor Epidemiology Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, MD, USA

⁸ Institute for Advanced Biosciences, Inserm U 1209 CNRS UMR 5309
Université Grenoble Alpes, Site Santé, Allée des Alpes, 38700 La Tronche,
France

Corresponding author:

Maria Isabel Alves de Souza Waddington Achatz, MD, PhD

Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute

9609 Medical Center Dr., Rm. 6E456, MSC 97720 - Bethesda, MD 20892-9772

Rockville, MD 20850 (for FED-EX/UPS/Couriers)

Tel: 240-276-7979

ABSTRACT

Li-Fraumeni syndrome (LFS) is an autosomal dominant cancer disorder associated with pathogenic germline variants in *TP53*, with a high penetrance over an individual's lifetime. The actual population prevalence of pathogenic germline *TP53* mutations is still unclear due to likely inaccurate previous family-based estimates. The aim of this study was to estimate the population prevalence of potentially pathogenic *TP53* exonic variants in three sequencing databases, totaling 63,983 unrelated individuals. Potential pathogenicity was defined using an original algorithm combining bioinformatic prediction tools, clinical significance evidences, and functional data. We identified 34 different potentially pathogenic *TP53* variants in 131/63,983 individuals (0.2%). Twenty-eight (82%) of these variants fell within the DNA-binding domain of *TP53*, with an enrichment for specific variants which were not previously identified as LFS mutation hotspots, such as the p.R290H and p.N235S variants. Our findings reveal that the population prevalence of potentially pathogenic *TP53* variants may be up to 10 times higher than previously estimated. These results point to the need for further studies aimed at evaluating cancer penetrance modifiers as well as the risk associated between cancer and rare *TP53* variants.

Key Words: Li-Fraumeni syndrome, *TP53*, cancer, genetic variation

4 ARTIGO #2

Title: Differences in germline *TP53* variant classifications affect the estimates of population prevalence of Li-Fraumeni syndrome: a gnomAD-based analysis

Running title: Wide range of LFS prevalence estimates due to different variant classifications

Kelvin C. de Andrade, MSc.^{1,2}, Megan N. Frone, M.S., C.G.C.¹, Talia Wegman-Ostrosky, M.D., Ph.D.^{1,3}, Payal P. Khincha, M.D., M.B.B.S.,¹ Jung Kim, Ph.D.¹, Amina Amadou⁴, Karina M. Santiago, MSc.², Fernanda P. Fortes, MSc.², Nathanaël Lemonnier, Ph.D.⁵, Lisa Mirabello, Ph.D.¹, Douglas R. Stewart, M.D.¹, Pierre Hainaut, Ph.D.⁵, Luiz P. Kowalski, M.D., Ph.D.⁶, Sharon A. Savage, M.D.¹, Maria I. Achatz M.D., Ph.D.^{1,7}

¹ Clinical Genetics Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, MD, USA

² International Research Center, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil.

³ Division of Research, National Cancer Institute, Mexico City, Mexico.

⁴ Team of Tumor Molecular Pathology and Biomarker, Institute for Advanced Bioscience, University Grenoble Alpes, INSERM U 1209, CNRS UMR 5309, Grenoble, France.

⁵ Institute for Advanced Biosciences, Inserm U 1209 CNRS UMR 5309 Université Grenoble Alpes, Site Santé, Allée des Alpes, 38700 La Tronche, France

⁶ Department of Head and Neck Surgery and Otorhinolaryngology, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil

⁷ Institute for Research and Teaching, Sírio-Libanês Hospital, São Paulo, Brazil

Corresponding author

Kelvin César de Andrade

Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, NIH, HHS
9609 Medical Center Dr., Rm. 6E514, MSC 9772 - Bethesda, MD 20892-9772

Rockville, MD 20850 (for FED-EX/UPS/Couriers)

Tel: (+1) 240-276-5110

Conflict of Interest

The authors hereby declare that they have no conflict of interest.

ABSTRACT

PURPOSE: Recent suggestions of a variable Li-Fraumeni syndrome (LFS) phenotype have raised questions regarding true disease prevalence. Our previous report on a higher-than-expected population prevalence of pathogenic and likely pathogenic germline *TP53* variants, the primary cause of LFS, was partly attributable to two specific controvertible variants, p.N235S and p.R290H. This study aims to further evaluate germline *TP53* variant prevalence estimates in the gnomAD database which comprises germline variation from over 130,000 individuals. **METHODS:** Variants were selected and classified based on our previously published algorithm. In addition, we provide alternative estimates based on three other classifications databases, ClinVar, HGMD, and the UMD_*TP53* website. **RESULTS:** Conservative estimates of pathogenic and likely pathogenic germline *TP53* variant prevalence are within the range of one carrier in 3,500-5,700 individuals. Less stringent classification increased the approximate estimated prevalence to one carrier in every 400-900 individuals – mainly due to the inclusion of the p.N235S, p.V31I, and p.R290H variants. **CONCLUSION:** We observed that the population prevalence of pathogenic and likely pathogenic variants may be higher than previously described. However, it can vary widely due to differences in variant classification. Comprehensive approaches are needed to better understand the interplay between germline *TP53* variant classification, prevalence estimates, cancer penetrance and phenotype of LFS. **Keywords:** disease prevalence, genetic variation, Li-Fraumeni syndrome, *TP53*, variant classification

5 CONCLUSÕES

- 1

Nossa primeira análise demonstrou que a prevalência de variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas no gene *TP53* em uma população não selecionada pelo histórico pessoal ou familiar de câncer pode ser de até 10x maior do que a esperada e descrita em estudos prévios baseados em contextos clínicos.

 - ✓ A observação de indivíduos portadores de variantes patogênicas e provavelmente patogênicas em *TP53*, que chegam a idades avançadas sem o desenvolvimento de câncer, corrobora com recentes investigações que sugerem que a penetrância de câncer e o fenótipo na LFS podem ser mais variáveis do que anteriormente descritas.
 - ✓ A detecção de variantes patogênicas e provavelmente patogênicas em *TP53* deve ser rigorosamente interpretada e acompanhada por uma equipe especializada de aconselhamento genético. Especial atenção deve ser dada em situações na qual estas variantes são identificadas em indivíduos sem um quadro clínico pessoal ou familiar sugestivo de LFS.
- 2

A análise de 138.632 indivíduos do banco de dados do gnomAD confirmou a observação da prevalência populacional de variantes germinativas patogênicas e provavelmente patogênicas em *TP53*

acima do esperado. Contudo, devido a diferenças na classificação de variantes em *TP53*, as estimativas atuais possuem uma ampla variação (0,02-0,25%).

- ✓ Três variantes, p.N235S, p.V31I e p.R290H, foram detectadas com uma alta prevalência nos bancos de dados de sequenciamento estudados. Quando critérios de classificação menos restritos são aplicados, as estimativas podem estar superestimadas pois ainda não há um consenso quanto as suas classificações. Evidências clínicas e funcionais sugerem que estas variantes podem ser classificadas como alelos de baixo risco ou associadas a um fenótipo mais variável. Desta forma, nós recomendamos que elas sejam cuidadosamente interpretadas quando detectadas em indivíduos ou famílias sugestivas de LFS.
- ✓ Frente ao grande desafio que é classificar as variantes em *TP53*, colaborações interdisciplinares entre laboratórios clínicos e institutos de pesquisas são necessárias para permitir o entendimento quanto a prevalência populacional, penetrância de câncer e de variações fenotípicas em LFS.

6 COMENTÁRIOS ADICIONAIS

6.1 COMENTÁRIO NA EDIÇÃO DO PERIÓDICO HUMAN MUTATION

A importância dos resultados do artigo #1 recebeu destaque na sessão “*In this Issue*” do jornal, com um comentário do Dr. David M. Thomas a respeito da potencial implicação clínica gerada no sistema de saúde por esta prevalência populacional consideravelmente alta de uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer (THOMAS 2017) (Anexo 4).

6.2 PRÊMIO RECEBIDO

O manuscrito também foi selecionado para uma apresentação oral no congresso ASHG 2017 Annual Meeting – *The American Society of Human Genetics* sendo classificado como um dos semifinalistas do prêmio “2017 ASHG/Charles J. Epstein Award for Excellence in Human Genetics Research” (Anexo 5).

6.3 ATUALIZAÇÕES DOS BANCOS DE DADOS CLÍNICOS

É importante mencionar que entre o período de publicação do artigo #1 e escrita do artigo #2 algumas informações descritas nos bancos de dados clínicos do ClinVar e do HGMD podem ter sido alteradas após revisões ou atualizações.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amadou A, Waddington Achatz MI, Hainaut P. Revisiting tumor patterns and penetrance in germline *TP53* mutation carriers: temporal phases of Li-Fraumeni syndrome. **Curr Opin Oncol** 2018; 30:23-29.

Amendola LM, Jarvik GP, Leo MC, et al. Performance of ACMG-AMP Variant-Interpretation Guidelines among Nine Laboratories in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium. **Am J Hum Genet** 2016; 99:247.

Arcand SL, Maugard CM, Ghadirian P, et al. Germline *TP53* mutations in BRCA1 and BRCA2 mutation-negative French Canadian breast cancer families. **Breast Cancer Res Treat** 2008; 108:399-408.

Birch JM, Hartley AL, Tricker KJ, et al. Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. **Cancer Res** 1994; 54:1298-304.

Bougeard G, Baert-Desurmont S, Tournier I, et al. Impact of the MDM2 SNP309 and p53 Arg72Pro polymorphism on age of tumour onset in Li-Fraumeni syndrome. **J Med Genet** 2006; 43:531-3.

Bougeard G, Renaux-Petel M, Flaman JM, et al. Revisiting Li-Fraumeni Syndrome From *TP53* Mutation Carriers. **J Clin Oncol** 2015; 33:2345-52.

Chompret A, Abel A, Stoppa-Lyonnet D, et al. Sensitivity and predictive value of criteria for p53 germline mutation screening. **J Med Genet** 2001; 38:43-7.

Eeles RA. Germline mutations in the *TP53* gene. **Cancer Surv** 1995; 25:101-24.

Fang S, Krahe R, Lozano G, et al. Effects of MDM2, MDM4 and *TP53* codon 72 polymorphisms on cancer risk in a cohort study of carriers of *TP53* germline mutations. **PLoS One** 2010; 5:e10813.

Gonzalez KD, Noltner KA, Buzin CH, et al. Beyond Li Fraumeni Syndrome: clinical characteristics of families with p53 germline mutations. **J Clin Oncol** 2009; 27:1250-6.

Guha T, Malkin D. Inherited *TP53* Mutations and the Li-Fraumeni Syndrome. **Cold Spring Harb Perspect Med** 2017; 7:a026187.

Laloo F, Varley J, Ellis D, et al. Prediction of pathogenic mutations in patients with early-onset breast cancer by family history. **Lancet** 2003; 361:1101-2.

Li FP, Fraumeni JF Jr. Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and identification of a familial cancer syndrome. **J Natl Cancer Inst** 1969a; 43:1365-73.

Li FP, Fraumeni JF Jr. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other Neoplasms: a familial syndrome? **Ann Intern Med** 1969b; 71:747-52

Li FP, Fraumeni JF Jr, Mulvihill JJ, et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. **Cancer Res** 1988; 48:5358-62

Malkin D, Li FP, Strong LC, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. **Science** 1990; 250:1233-8.

Marcel V, Palmero EI, Falagan-Lotsch P, et al. *TP53* PIN3 and MDM2 SNP309 polymorphisms as genetic modifiers in the Li-Fraumeni syndrome: impact on age at first diagnosis. **J Med Genet** 2009; 46: 766-72.

Rana HQ, Gelman R, LaDuca H, et al. Differences in *TP53* mutation carrier phenotypes emerge from panel-based testing. **J Natl Cancer Inst** 2018 [Epub ahead of print].

Renaux-Petel M, Charbonnier F, Théry JC, et al. Contribution of de novo and mosaic *TP53* mutations to Li-Fraumeni syndrome. **J Med Genet** 2018; 55:173-180.

Ruijs MW, Broeks A, Menko FH, et al. The contribution of CHEK2 to the *TP53*-negative Li-Fraumeni phenotype. **Hered Cancer Clin Pract** 2009; 7:4.

Ruijs MW, Verhoef S, Rookus MA, et al. *TP53* germline mutation testing in 180 families suspected of Li-Fraumeni syndrome: mutation detection rate and relative frequency of cancers in different familial phenotypes. **J Med Genet** 2010; 47:421-8.

Saam J, Arnell C, Theisen A, et al. Patients Tested at a Laboratory for Hereditary Cancer Syndromes Show an Overlap for Multiple Syndromes in Their Personal and Familial Cancer Histories. **Oncology** 2015; 89:288-93.

Shlien A, Tabori U, Marshall CR, et al. Excessive genomic DNA copy number variation in the Li-Fraumeni cancer predisposition syndrome. **Proc Natl Acad Sci USA** 2008; 105:11264-9

Silva AG, Achatz IM, Krepischi AC, Pearson PL, Rosenberg C. Number of rare germline CNVs and *TP53* mutation types. **Orphanet J Rare Dis** 2012a; 7:101.

Silva AG, Ewald IP, Sapienza M, et al. Li-Fraumeni-like syndrome associated with a large BRCA1 intragenic deletion. **BMC Cancer** 2012b; 12:237.

Tabori U, Nanda S, Druker H, Lees J, Malkin D. Younger age of cancer initiation is associated with shorter telomere length in Li-Fraumeni syndrome. **Cancer Res** 2007; 67:1415-8.

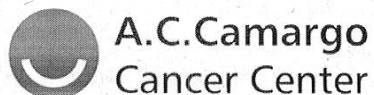
Thomas DM. Is Li-Fraumeni syndrome really much more common? **Hum Mutat** 2017; 38:1619.

Tinat J, Bougeard G, Baert-Desurmont S, et al. 2009 version of the Chompret criteria for Li Fraumeni syndrome. **J Clin Oncol** 2009; 27:e108-9; author reply e110.

Trkova M, Prochazkova K, Krutilkova V, Sumerauer D, Sedlacek Z. Telomere length in peripheral blood cells of germline *TP53* mutation carriers is shorter than that of normal individuals of corresponding age. **Cancer** 2007; 110:694-702.

Varley JM, McGown G, Thorncroft M, et al. Germ-line mutations of *TP53* in Li-Fraumeni families: an extended study of 39 families. **Cancer Res** 1997; 57:3245-52.

Anexo 1 - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP



Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP

APROVAÇÃO

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – A.C. Camargo Cancer Center, em sua última reunião de **12/07/2016**, após analisarem as respostas aos questionamentos realizados em reunião de **07/06/2016**, **aprovaram** a realização do projeto nº **2214/16** intitulado: **“Caracterização genômica na síndrome de Li-Fraumeni: múltiplos tumores primários e heterogeneidade tumoral em pacientes portadores da mutação p.R337H”**.

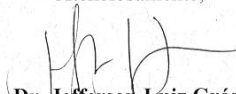
Pesquisador responsável: Luiz Paulo Kowalski
Aluna: Kelvin César de Andrade (Doutorado)

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas ao CEP dentro de 06 meses em relatório (modelo CEP).

Nota: Para iniciar o projeto, é necessário aguardar a aprovação da CONEP.

São Paulo, 12 de julho de 2016.

Atenciosamente,



Dr. Jefferson Luiz Gróss
1º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

Anexo 2 – Artigo #1 publicado no periódico Human Mutation

Received: 3 May 2017 | Revised: 19 August 2017 | Accepted: 28 August 2017
DOI: 10.1002/humu.23320

RESEARCH ARTICLE



Higher-than-expected population prevalence of potentially pathogenic germline *TP53* variants in individuals unselected for cancer history

Kelvin César de Andrade^{1,2} | Lisa Mirabello¹ | Douglas R. Stewart¹ | Eric Karlins³ |
Roelof Koster⁴ | Mingyi Wang³ | Susan M. Gapstur⁵ | Mia M. Gaudet⁵ |
Neal D. Freedman⁶ | Maria Teresa Landi⁷ | Nathanaël Lemonnier⁸ | Pierre Hainaut⁸ |
Sharon A. Savage¹ | Maria Isabel Achatz¹

¹Clinical Genetics Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, Maryland, USA

²International Research Center, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil

³Cancer Genomics Research Laboratory, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, Leidos Biomedical Research Inc., Department of Health and Human Services, Bethesda, Maryland, USA

⁴Laboratory of Genetic Susceptibility, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, Maryland, USA

⁵Epidemiology Research Program, American Cancer Society, Atlanta, Georgia, USA

⁶Metabolic Epidemiology Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, Maryland, USA

⁷Integrative Tumor Epidemiology Branch, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, Maryland, USA

⁸Institute for Advanced Biosciences, Inserm U 1209 CNRS UMR 5309, Université Grenoble Alpes, Allée des Alpes, La Tronche, France

Correspondence

Maria Isabel Alves de Souza Waddington Achatz, Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, 9609 Medical Center Dr., Rm. 6E456, MSC 97720, Bethesda, MD 20892-9772.
Email: mariaisabel.achatz@nih.gov

Funding information

Contract grant sponsor: Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute, National Institutes of Health.

Communicated by Georgia Chenevix-Trench

Abstract

Li-Fraumeni syndrome (LFS) is an autosomal-dominant cancer predisposition disorder associated with pathogenic germline variants in *TP53*, with a high penetrance over an individual's lifetime. The actual population prevalence of pathogenic germline *TP53* mutations is still unclear, most likely due to biased selection of cancer affected families. The aim of this study was to estimate the population prevalence of potentially pathogenic *TP53* exonic variants in three sequencing databases, totaling 63,983 unrelated individuals. Potential pathogenicity was defined using an original algorithm combining bioinformatic prediction tools, suggested clinical significance, and functional data. We identified 34 different potentially pathogenic *TP53* variants in 131 out of 63,983 individuals (0.2%). Twenty-eight (82%) of these variants fell within the DNA-binding domain of *TP53*, with an enrichment for specific variants that were not previously identified as LFS mutation hotspots, such as the p.R290H and p.N235S variants. Our findings reveal that the population prevalence of potentially pathogenic *TP53* variants may be up to 10 times higher than previously estimated from family-based studies. These results point to the need for further studies aimed at evaluating cancer penetrance modifiers as well as the risk associated between cancer and rare *TP53* variants.

KEYWORDS

cancer, genetic variation, Li-Fraumeni syndrome, *TP53*

© Published 2017. This article is a U.S. Government work and is in the public domain in the USA.

Human Mutation. 2017;38:1723–1730.

wileyonlinelibrary.com/journal/humu | 1723

Anexo 3 - Confirmação de submissão do artigo "Differences in germline TP53 variant classifications affect the estimates of population prevalence of Li-Fraumeni syndrome: a gnomAD-based analysis" para a revista Genetics in Medicine.

 Reply  Reply All  Forward

Fri 4/27/2018 6:09 PM



em.gim.0.5ad7c6.74f7006e@editorialmanager.com on behalf of Genetics in Medicir

GIM Submission Confirmation for Differences in germline TP53 variant classifications affect the estimates of population prevalence of Li-Fraumeni syndrome: a gnomAD-based analysis

To: de Andrade, Kelvin (NIH/NCI) [F]

27 Apr 2018

Dear Mr. DE ANDRADE,

Your submission entitled "Differences in germline TP53 variant classifications affect the estimates of population prevalence of Li-Fraumeni syndrome: a gnomAD-based analysis" has been received by the journal editorial office.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author.

<https://gim.editorialmanager.com/>

If you do not know your login information, please go to <https://gim.editorialmanager.com/> and click the "Send Username/Password link". Follow the instructions to retrieve your login information.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind Regards,

Genetics in Medicine

Anexo 4 – Comentário publicado por David M. Thomas na sessão “In this Journal” do periódico Human Mutation sobre os resultados publicados no artigo #1.

DOI: 10.1002/humu.23342

Is Li–Fraumeni syndrome really much more common?

Li–Fraumeni syndrome (LFS), described almost 50 years ago by Joseph Fraumeni and Frederick Li, is a devastating, autosomal dominant cancer-prone syndrome. LFS is due to germline mutations in the *TP53* gene, carriers of which are estimated to have a one in two chance of cancer by the age of 30 years and a 90% lifetime risk of cancer. Until recently, LFS was commonly thought to be an intractable condition, lacking standard management guidelines.

There is reason to think this perception is about to change. Why? First, the LFS cancer spectrum is very diverse, potentially affecting any organ system, and thus creating challenges to surveillance and treatment. By contrast, the organ-specific nature of cancer susceptibility for carriers of *BRCA1* mutations permits organ-specific surveillance (breast MRI) and risk reduction strategies (mastectomy, salpingo-oophorectomy). The recent demonstration of effective screening strategies using whole-body MRI as part of a suite of techniques is likely to change the fatalism frequently attached to the LFS diagnosis (see Ballinger *et al.*, *JAMA Oncol.* 2017. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.1968>; Villani *et al.*, *Lancet Oncol.* 17(9):1295–305, 2016).

The second reason involves the perceived rarity of LFS, estimated at between 1/5,000 to 1/20,000 of the population (Laloo *et al.*, *Lancet.*

361(9363):1101–1102, 2003; Gonzalez *et al.*, *J Clin Oncol.* 27(8):1250–1256, 2009). Rare diseases struggle for priority in the health care system. However, the article in this issue by de Andrade *et al.* (*Hum Mutat* 38:1723–1730, 2017) challenges the notion of the rarity of LFS, increasing those estimates to perhaps 1/500 to 1/2,000 in an approximation of the normal population. This accords with findings in pediatric cancer populations that germline *TP53* mutations are the most common cause of pediatric cancer (Zhang *et al.*, *N Engl J Med.* 373(24):2336–2346, 2015).

These new figures from de Andrade *et al.* will generate discussion about the definition of pathogenicity, because some of these variants are likely less penetrant than those that have previously formed the basis of clinical management in a familial cancer clinic context. Nonetheless, the data form part of an emerging picture of genetic cancer predisposition in which conditions are both more common and increasingly more manageable. At any rate, the problem can no longer be trivialized, and the health care system will need to invest in methods to improve health outcomes for families affected by LFS.

David M Thomas

Garvan Institute of Medical Research, Darlinghurst, Australia

Anexo 5 - Certificado de premiação do aluno e do manuscrito como um dos semifinalistas do prêmio “2017 ASHG/Charles J. Epstein Award for Excellence in Human Genetics Research” referente ao artigo #1

