

**AVALIAÇÃO DA DETECÇÃO PRECOCE DAS
NEOPLASIAS EM PACIENTES PORTADORES DA
SÍNDROME DE LI-FRAUMENI E LI-FRAUMENI *LIKE*
COM O USO DE PET-CT COM ¹⁸F-FDG**

SÔNIA TEREZA DOS SANTOS NOGUEIRA

**Dissertação de Mestrado apresentada à Fundação
Antônio Prudente para obtenção do grau de Mestre
em Ciências**

Área de atuação: Oncologia

**Orientadora: Dr^a. Maria Isabel Alves de Souza
Waddington Achatz**

Co-Orientador: Dr. Eduardo Nóbrega Pereira Lima

São Paulo

2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Nogueira, Sônia Tereza dos Santos

Avaliação da detecção precoce das neoplasias em pacientes portadores da síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni *like* com o uso de PET-CT com ¹⁸F-FDG / Sônia Tereza dos Santos Nogueira – São Paulo, 2011.

69p.

Dissertação (Mestrado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Maria Isabel Alves de Souza Waddington Achatz

Descritores: 1. SINDROME DE LI-FRAUMENI. 2. PROTEINA SUPRESSOR DE TUMOR p53. 3. MUTAÇÃO EM LINHAGEM GERMINATIVA. 4. PREDISPOSIÇÃO GENÉTICA PARA DOENÇA. 5. FATORES DE RISCO. 6. CÂNCER. 7. PET-CT.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Ivone e Anchieta por terem me ensinado a sempre lutar pelos meus ideais e ao meu marido Murilo pelo grande incentivo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a Deus Pai, Filho e Espírito Santo por esse sonho realizado.

Agradeço a todos os pacientes que participaram desse projeto.

Agradeço a minha Orientadora Dra. Maria Isabel W. Achatz pela sua amizade, por ter acreditado no meu trabalho e me dado a chance de aprofundar meus conhecimentos em Oncogenética.

Agradeço ao meu Co-Orientador Dr. Eduardo Lima por todo o seu incentivo e disponibilidade de ensinar.

Agradeço aos meus pais Ivone e Anchieta por terem me ensinado que o conhecimento e a integridade são os melhores tesouros que podem me deixar.

Agradeço ao meu marido Murilo pela sua compreensão nos momentos de ausência, pelo seu incentivo e amor.

Agradeço aos meus avós Valduino e Maria do Patrocínio por sempre me apoiarem na minha formação acadêmica e por festejarem comigo cada conquista, tenho certeza que estão felizes em ver mais uma vitória minha aonde quer que estejam...

Aos meus irmãos Carlinhos, Kiko, Paulinho e Júnior e as minhas irmãs do coração Anilda e Érica por todo o apoio no período que fiquei longe do convívio familiar.

À Dona Maria de Fátima Mendes de Souza pela força que me deu quando decidi correr em busca desse sonho.

Às minhas amigas queridas da Oncogenética e companheiras de todos os momentos Andréia Veloso, Amanda França, Juliana Badke, Karina Miranda e Marina Cannavan, por terem compartilhado comigo os momentos difíceis e de felicidade dessa fase da minha vida.

Aos meus amigos José Ribamar (Riba) e Hadrien Hainaut pelo grande incentivo nos momentos que mais precisei.

Às amigas médicas Simône Noronha, Ana Dalsanto e a minha amiga Psicóloga Christina Starabay por todo o apoio e amizade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Dra. Ivone do Carmo Gonçalves Torres, ao Dr. Marcelo Cavecchioli e a Dra. Íris Martinez médicos nucleares do Hospital A.C. Camargo pela ajuda e estímulo.

Agradeço a equipe de enfermeiros e biomédicas do setor de Medicina Nuclear do Hospital A.C. Camargo pela boa vontade em ajudar e pelo carinho com os pacientes.

Ao Dr. Pierre Hainaut pela sua atenção em todos os momentos.

Ao Professor Dr. Ricardo Renzo Brentani pela confiança.

À Dra. Graziela Jaguar Odontóloga do Departamento de Estomatologia do Hospital A.C. Camargo pela sua amizade, incentivo e exemplo de determinação.

Agradeço as médicas do Departamento de Oncogenética do Hospital A.C. Camargo Dra. Rima Jibli e Dra. Maria Nirvana Formiga por todo o apóio e amizade.

Agradeço aos médicos do Departamento de Patologia do Hospital A.C. Camargo pelo esclarecimento das dúvidas e ao Médico Residente Marcos Araújo Chaves Jr. por toda a ajuda dada em relação as lâminas dos pacientes.

A todos os médicos dos Departamentos de Cirurgia Pélvica, Ginecologia, Tórax e Oncologia Clínica do Hospital A.C. Camargo por terem dado total atenção aos nossos pacientes encaminhados.

Ao médico residente do Departamento de Imagem do Hospital A.C. Camargo Dr. Almir pela ajuda no RSNA.

Agradeço aos meus amigos do mestrado da Fundação Antônio Prudente ao Dr. Arthur Silva Neto, Renata Fraga (Rê) e Juan por todo o apóio e amizade.

À Silvana pela ajuda com os Heredogramas e pela sua amizade.

A todos os funcionários do SAME do Hospital A.C. Camargo pela ajuda com relação aos prontuários dos pacientes.

À Ana Maria Kuninari, Vanusa e Luciana pelo apóio na pós-graduação.

À Bibliotecária Suely e aos funcionários da biblioteca por toda a ajuda e disponibilidade.

Ao Dr. Humberto e Dra. Arlete por todo o incentivo, carinho e amizade.

À Enfermeira Érika pelas dicas profissionais

À Eliana e aos funcionários da recepção do Departamento de Imagem pela ajuda no agendamento dos PETS.

A D. Sônia secretária do Departamento de Imagem pelas palavras de incentivo e por toda ajuda e carinho.

À Gilmara por todo o apoio técnico.

Ao IPEN e a Fundação Antônio Prudente por terem apoiado esse projeto.

RESUMO

Nogueira STS. **Avaliação da detecção precoce das neoplasias em pacientes portadores da síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni *like* com o uso de PET-CT com ^{18}F -FDG.** São Paulo; 2011. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antonio Prudente].

Introdução: A síndrome de Li-Fraumeni é uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer de caráter autossômico dominante que leva a um alto risco para o desenvolvimento de neoplasias. **Objetivos:** Nesse estudo avaliamos a efetividade do ^{18}F -FDG-PET-CT na detecção de câncer em portadores da mutação germinativa no gene *TP53*, um defeito genético que leva à Síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni *like* (LFS/LFL) que predispõe a vários tipos de câncer no decorrer da vida. **Pacientes e Métodos:** Um total de 30 pacientes adultos procedentes de seis famílias com mutação germinativa no gene *TP53* foram recrutados. Esses pacientes não apresentavam diagnóstico de câncer nos 24 meses que precederam o estudo. Concentração anômala do ^{18}F -FDG no corpo inteiro foi avaliada por dois especialistas independentemente. Lesões suspeitas foram retiradas cirurgicamente e analisadas por histopatologia. **Resultados:** Um total de 6/30 pacientes mostraram concentração anômala do ^{18}F -FDG. Estudos confirmatórios revelaram três casos de câncer em estágio avançado, incluindo um caso de adenocarcinoma de pulmão (estádio IIIB, um de ovário (estádio IV) e um carcinoma ductal de mama disseminado. Dois anos após a realização do ^{18}F -FDG-PET-CT, três pacientes que eram negativos para câncer no primeiro PET-CT, evoluíram com câncer (próstata, tireóide e mama). Três outros pacientes apresentaram lesões não neoplásicas (cisto de Bartholin e dois casos de linfonodos reacionais). **Conclusões:** ^{18}F -FDG-PET-CT é eficaz na detecção de câncer em indivíduos assintomáticos de acordo com as diretrizes atuais de rastreamento. No entanto, as lesões malignas foram detectadas em estágio avançado e pacientes que eram inicialmente negativos no ^{18}F -FDG-PET-CT desenvolveram câncer em dois anos após o primeiro exame. Esses resultados sugerem que o ^{18}F -FDG-PET-CT pode ser uma estratégia apropriada para a vigilância do risco de câncer em portadores da mutação no gene *TP53*.

SUMMARY

Nogueira STS. [Analysis of ^{18}F -FDG PET-CT in early detection of cancers in patients with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni like syndromes]. São Paulo; 2011. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antonio Prudente].

Introduction: Li-Fraumeni syndrome is an autosomal dominant inherited cancer syndrome that predisposes individuals for a high risk of developing cancer. **Objectives:** In this study we will evaluate the effectiveness of ^{18}F -FDG-PET-CT for detecting cancer in carriers of germline *TP53* mutations, the genetic defect underlying Li-Fraumeni and Li-Fraumeni like syndromes (LFS/LFL) which predispose to many forms of cancer throughout life. **Patients and Methods:** A total of 30 adult patients from 6 families with germline *TP53* mutations were recruited. These patients did not have a diagnosis of cancer in the 24 months preceding the study. Anomalous concentration from whole-body ^{18}F -FDG was assessed by two independent experts. Suspicious lesions were excised and analyzed by histopathology. **Results:** A total of 6/30 patients showed anomalous ^{18}F -FDG concentrations. Confirmation studies revealed three cases of advanced stage cancer, including one adenocarcinoma of the lung (stage IIIB), one ovarian cancer (stage IV) and one disseminated invasive ductal breast cancer. Within two years after ^{18}F -FDG-PET-CT, three patients who were negative in this examination developed cancer (prostate, thyroid and breast cancers). Three other patients had non-cancer lesions (a Bartholin's cyst and two cases of non-malignant lymph nodes). **Conclusions:** ^{18}F -FDG-PET-CT is effective in detecting cancer in subjects who are asymptomatic using current screening guidelines. However, the lesions detected were detected at an advanced stage and patients who were negative in ^{18}F -FDG-PET-CT developed a cancer within 2 years after examination. These results further suggest that ^{18}F -FDG-PET-CT may be an appropriate strategy for surveillance of cancer risk in *TP53* mutation carriers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação gráfica do gene <i>TP53</i>	7
Figura 2	Mutações germinativas no gene <i>TP53</i>	9
Figura 3	Tumores associados a mutações na linhagem germinativa no gene <i>TP53</i>	14
Figura 4	Heredograma Família Y0012.....	31
Figura 5	Heredograma Família Y0027.....	32
Figura 6	Heredograma Família Y0079.....	33
Figura 7	Heredograma Família Y0097.....	34
Figura 8	Heredograma Família Y0099.....	35
Figura 9	Heredograma Família Y0131.....	36
Figura 10A	PET-CT paciente Y0012T070.....	39
Figura 10B	PET-CT paciente Y0012T070.....	40
Figura 11	Histopatológico paciente Y0012T070.....	41
Figura 12	PET-CT paciente Y0079T007.....	42
Figura 13	Histopatológico paciente Y0079T007.....	43
Figura 14	PET-CT paciente Y0027T006.....	44

Figura 15	PET-CT paciente Y0079T005.....	45
Figura 16	PET-CT paciente Y0012T012.....	46
Figura 17	PET-CT paciente Y0012T009.....	47

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Síndromes de predisposição hereditária ao câncer.....	3
Quadro 2	Critérios diagnósticos da síndrome de Li-Fraumeni.....	5
Quadro 3	Protocolo de rastreamento de pacientes com LFS/LFL.....	15
Quadro 4	Mutações germinativas no gene TP53 em pacientes submetidos ao PET-CT.....	29
Quadro 5	Pacientes com concentração anômala do 18F-FDG.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS

ADR	Carcinoma adrenocortical
CCR	Câncer colorretal
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
¹⁸F-FDG	¹⁸ F- Fluorodeoxiglicose
IARC	<i>International Agency for the Research on Cancer</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LFS	Síndrome de Li-Fraumeni
LFL	Síndrome de Li-Fraumeni <i>like</i>
MBq	Megabecquerel
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
PET-CT	Tomografia por emissão de pósitrons / tomografia computadorizada
RM	Ressonância magnética
SO	Sarcoma ósseo
SNC	Tumores do sistema nervoso central
SPHC	Síndrome de predisposição hereditária ao câncer
SPM	Sarcoma de partes moles
SUV	<i>Standardized uptake value</i>

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Incidência de câncer no Brasil e síndromes de predisposição hereditária ao câncer	1
1.2	Síndrome de Li-Fraumeni	4
1.3	O gene <i>TP53</i> e a proteína p53	6
1.4	Incidência da Síndrome de Li-Fraumeni.....	10
1.5	Aconselhamento genético	12
1.6	Rastreamento Realizado nos pacientes com LFS/LFL	14
1.7	¹⁸ F-FDG PET-CT no rastreamento de tumores na LFS.....	16
1.8	Exposição radioativa com o uso do ¹⁸ F-FDG PET-CT.....	18
2	JUSTIFICATIVA	21
3	OBJETIVOS	23
3.1	Objetivo Geral.....	23
3.2	Objetivos Específicos.....	23
4	PACIENTES E MÉTODO	24
4.1	Crítérios de Inclusão e exclusão.....	24
4.2	PET-CT como Método de Rastreamento na LFS/LFL	25
5	RESULTADOS	28
5.1	Detecção de tumores pelo PET-CT em pacientes com mutação germinativa no gene <i>TP53</i>	37
5.1.1	¹⁸ F-FDG PET-CT em pacientes portadores da mutação p.R337H	38
5.1.2	¹⁸ F-FDG PET-CT em pacientes portadores de outras mutações germinativas patogênicas no gene <i>TP53</i>	41
5.2	Detecção de lesões não neoplásicas pelo PET-CT em pacientes com mutação germinativa no gene <i>TP53</i>	44
6	DISCUSSÃO	48

6.1	¹⁸ F-FDG PET-CT no rastreamento de tumores em pacientes LFS/LFL.....	48
6.2	Panorama de rastreamento da LFS/LFL no mundo	50
6.3	PET-CT em LFS/LFL: contribuição deste estudo	51
6.4	A mutação p.R337H e o desafio do rastreamento.....	52
6.5	Aspectos inovadores e deficiências na tentativa de melhor rastreamento de pacientes LFS/LFL com PET-CT	54
6.6	Importância do uso do PET-CT na prática oncológica	56
6.7	Controvérsias do uso do PET-CT no rastreamento de pacientes LFS/LFL e Perspectivas.....	60
7	CONCLUSÃO	62
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

ANEXOS

- Anexo 1** Termo de Consentimento Livre esclarecido
- Anexo 2** Carta de Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa (CEP)
- Anexo 3** Certificado de apresentação do projeto na categoria tema livre na Jornada Paulista de Radiologia (JPR) 2010
- Anexo 4** Carta recebida por e-mail comunicando prêmio a ser receber no Radiological Society of North America (RSNA) 2010
- Anexo 5** Certificado de apresentação oral no RSNA

APÊNDICES

- Apêndice 1** Capítulo do Manual de condutas diagnósticas e terapêuticas em oncologia do Hospital A.C. Camargo quarta edição a ser publicado. Tema Oncogenética
- Apêndice 2** Comprovante de artigo submetido ao *Journal of Clinical Oncology (JCO)*
- Apêndice 3** Artigo em pdf submetido ao *Journal of Clinical Oncology*

1 INTRODUÇÃO

1.1 INCIDÊNCIA DE CÂNCER NO BRASIL E SÍNDROMES DE PREDISPOSIÇÃO HEREDITÁRIA AO CÂNCER

O Brasil apresenta uma população com mais de 190 milhões de habitantes segundo o último censo realizado em 2010 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE 2010) e dessa população estima-se que 489 mil novos casos de câncer tenham sido diagnosticados em 2010 segundo dados do Instituto Nacional de Câncer-INCA (Ministério da Saúde 2009). Dentre os tumores malignos, supõe-se que 5 a 10% sejam hereditários (ASHG 1975; LINDOR et al. 2008). Desta forma, levando em conta as estimativas brasileiras sobre a ocorrência de câncer em 2010, entre 24 mil a 48 mil dos tumores ocorridos no país podem ser de origem hereditária.

Até o momento diversas síndromes de predisposição ao câncer (SPHC), já foram descritas e relacionadas a mutações germinativas em genes distintos (Quadro 1). A maior parte destes genes são supressores de tumor e as mutações são transmitidos de forma autossômica dominante à sua prole. Predispõe a um alto risco para o desenvolvimento de câncer, podendo estar relacionadas a tumores específicos, como no caso de síndrome do câncer de mama e ovário hereditário, relacionada a mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, que predispõe aos tumores de mama e ovário, ou mesmo o câncer colorretal não polipose hereditário (HNPCC), que está principalmente relacionado a câncer colorretal e endométrio, ligado a mutação nos genes de reparo *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2* e muitas outras SPHC que podem

aumentar o risco para o surgimento de vários tipos de tumores como a Síndrome de Li-Fraumeni relacionada a mutação germinativa no gene *TP53*. Os diferentes tipos de SPHC podem predispor ao mesmo tipo de câncer e por isso é fundamental o diagnóstico diferencial através da avaliação do histórico familiar e sempre que possível o diagnóstico molecular.

A identificação de um indivíduo afetado por câncer hereditário é de fundamental importância para a busca de indivíduos e famílias em risco e sua inclusão em programas de aconselhamento genético (redução de risco e/ou prevenção). No entanto, existem poucos serviços no Brasil que oferecem aconselhamento genético com estratégias de diagnóstico para síndromes de predisposição hereditária ao câncer, assim como o acompanhamento destes pacientes e seus familiares.

No país, poucos estudos foram feitos até o momento sobre a prevalência das SPHC. No Departamento de Oncogenética do Hospital A.C. Camargo foi verificada a alta incidência de famílias brasileiras portadoras da síndrome de Li-Fraumeni, considerada rara na literatura. Esta é a maior casuística mundial de pacientes com a síndrome que estão em acompanhamento clínico, ou seja, que recebem o aconselhamento genético e estratégias de rastreamento (ACHATZ et al. 2007). Desta forma, torna-se fundamental o desenvolvimento de estudos que permitam uma maior compreensão deste fenômeno.

Quadro1 - Síndromes de predisposição hereditária ao câncer.

Síndrome	Neoplasias associadas	Gene	Posição	Incidência	Referência
Câncer de Mama e ovário Hereditários	Mama, ovário, próstata	<i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i>	17q21 13q12-13	<1/400	Whittemore et al. 2004
Li Fraumeni	SPM, SO, mama, SNC, ADR, CCR	<i>TP53</i>	17q13	<1/5.000-10.000	Lalloo et al. 2003 Sidransky et al. 1992
Câncer colorretal hereditário não-polipose (HNPCC)ou Lynch	CCR, endométrio, estômago, delgado, ovário, vias urinárias, mama	<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i>	3p21.3, 2p22-p21, 2p16, 7p22	<1/300-3.000	Katballe et al. 2002; De La Chapelle 2005.
Polipose Adenomatosa Familiar (FAP)	CCR, tumor desmoide, tireóide	<i>APC</i>	5q21-q22	<1/10.000-30.000	Sifri et al. 2004; Benito e Díaz-Rubio 2006
Cowden	Mama, tireóide, endométrio, renal	<i>PTEN</i>	10q23.3.	<1/200.000	Nelen et al. 1999
Peutz - Jeghers	Gastro-intestinais	<i>STK11</i>	19p13.3	<1/280.000	Hemminki et al. 1998
Câncer Gástrico Familiar	Estômago, lobular de mama	<i>CDH1</i>	16q22.1	1/10.000	Campeau et al. 2008
Melanoma Familiar	Melanoma, pâncreas	<i>CDKN2A</i>	9p21	1,5/100.000	Pho et al. 2006; Carli e Salvini 2004
Neoplasia Endócrina Múltipla Tipo 2	Carcinoma medular de tireóide, feocromocitoma	<i>RET</i>	10q11.2	1/30.000	Lindor et al. 2008
Doença de Von Hippel-Lindau	Renal, SNC	<i>VHL</i>	3p25-26	1/40.000	Lindor et al. 2008
Retinoblastoma Hereditário	Retinoblastoma, SO	<i>RB</i>	13q14	1/13.500	Lindor et al. 2008

Legenda: SPM: Sarcoma de Partes Moles; SO: Sarcoma Ósseo; ADR: Carcinoma adrenocortical; CCR: carcinoma colorretal; SNC: Câncer do sistema nervoso central.

Fonte: ACHATZ (2008).

1.2 SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

A síndrome de Li Fraumeni (LFS) é uma síndrome de predisposição ao câncer transmitida de forma autossômica dominante com alta penetrância. Os pacientes com esta síndrome apresentam 50% de chance de desenvolver tumores antes dos 30 anos de idade, comparados a 1% na população geral e 90% dos portadores podem desenvolver câncer até os 60 anos de idade (BIRCH et al. 2001). Portadores que desenvolveram tumor na infância são mais suscetíveis ao desenvolvimento de múltiplos tumores primários (HISADA et al. 1998).

Diversos tipos de tumores malignos estão diretamente relacionados à LFS tais como sarcoma, leucemia, tumores do sistema nervoso central, tumores adrenocorticais, tumores de plexo coróide e câncer de mama de início em idade jovem (CHOMPRET et al. 2001). Devem-se relacionar ainda outros tipos de câncer que são freqüentes em famílias com LFS, dentre eles melanoma, tumores de células germinativas, tumores gástricos e tumor de Wilms e outros em casos individuais de LFS como pâncreas, pulmão, laringe, próstata e linfomas (International Agency for the Research on Cancer-IARC 2011).

O diagnóstico da síndrome inicialmente é clínico, realizado a partir da observação e anotação dos diversos casos relatados pelas famílias avaliadas. Os critérios para o diagnóstico clínico foram inicialmente descritos por Li e Fraumeni em 1969. Visando definir o diagnóstico clínico das famílias que não tinham a expressão completa do fenótipo clássico da síndrome, mas que apresentavam tumores típicos em idade precoce, um critério diagnóstico adicional ao da LFS clássica foi proposto, sendo denominado Li-Fraumeni variante ou *Li-Fraumeni-like*

(LFL) (LI et al. 1988; BIRCH et al. 1994; EELES 1995; FREBOURG et al. 2001).

Recentemente o critério de Chompret foi revisto, por TINAT et al. (2009), sendo denominado critério de Chompret modificado versão 2009. (Quadro 2)

Quadro 2 - Critérios diagnósticos da síndrome de Li- Fraumeni.

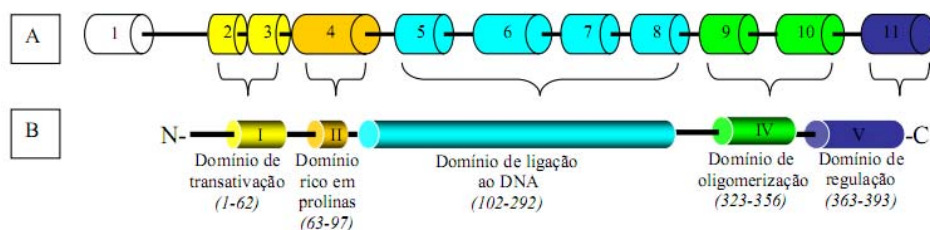
Clássico Li Fraumeni	<ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma na infância ou em idade jovem (antes dos 45 anos) E • Familiar de primeiro grau com qualquer câncer em idade jovem (antes dos 45anos) E • Familiar de primeiro ou segundo grau que tenha o diagnóstico de câncer em idade jovem (antes dos 45 anos) ou sarcoma em qualquer idade.
Variante Birch	<ul style="list-style-type: none"> • Câncer na infância ou sarcoma, SNC ou ADR antes dos 45 anos E • Familiar de primeiro grau ou segundo grau com câncer típico da Síndrome de Li-Fraumeni *(sarcoma, câncer de mama, SNC, ADR ou leucemia) em qualquer idade E • Familiar de primeiro ou segundo grau com qualquer câncer antes dos 60 anos.
Eeles	<ul style="list-style-type: none"> • LFL-E1 presença de dois familiares de primeiro ou segundo grau com tumor típico em qualquer idade (sarcoma, câncer de mama, tumor SNC, leucemia, ADR, melanoma, câncer de próstata, câncer pancreático). • LFL-E2: sarcoma em qualquer idade no paciente índice com dois dos seguintes tumores (podendo estar presentes no mesmo indivíduo) câncer de mama <50 anos e/ou tumor SNC, leucemia, ADR, melanoma, câncer de próstata, câncer pancreático aos <60 anos ou sarcoma em qualquer idade.
Chompret	<ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma, SNC, câncer de mama ou ADR antes dos 36 anos E • Familiar de primeiro grau ou segundo grau com câncer antes dos 46 anos OU • Familiar com múltiplos tumores primários em qualquer idade OU • Múltiplos tumores primários, incluindo dois tumores que sejam do tipo sarcoma, SNC, câncer de mama ou ADR, com o primeiro tumor diagnosticado antes dos 36 anos, independente da história familiar OU • ADR em qualquer idade e independente da história familiar.
Chompret modificado	<ul style="list-style-type: none"> • Paciente-índice com câncer típico da Síndrome de Li-Fraumeni (sarcoma de partes moles, osteosarcoma, câncer de mama pré-menopausal, SNC, ADR, leucemia e carcinoma brônquio-alveolar de pulmão) antes dos 46 anos E • Familiar de primeiro ou segundo grau com câncer típico da Síndrome de Li- Fraumeni antes dos 56 anos (exceto câncer de mama caso o probando tenha câncer de mama) ou múltiplos tumores OU • Paciente-índice com múltiplos tumores, sendo pelo menos dois do espectro LFS e o primeiro antes dos 46 anos OU • Paciente com carcinoma ADR ou tumor de plexo coróide independentemente da história familiar.

Fonte: ACHATZ (2008).

Os pesquisadores revisaram os critérios iniciais propostos pelo grupo norteados por um estudo que realizou teste molecular para detecção de mutação no gene *TP53* em 525 pacientes com critérios clínicos para a LFS e desses pacientes oito apresentavam tumores de plexo coróide e 21 carcinomas ADR. A mutação no *TP53* foi encontrada em todos os pacientes com tumor de plexo coróide e em 14 com carcinoma ADR (GONZALEZ et al. 2009). Com base nesses resultados, foram incluídos ao critério de Chompret modificado os pacientes com carcinoma ADR ou tumor de plexo coróide independentemente da história familiar.

1.3 O GENE *TP53* E A PROTEÍNA p53

O gene *TP53* (OMIM # 191117) é um gene supressor de tumor localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1) composto por 11 éxons sendo o primeiro não codificante. Codifica uma fosfoproteína nuclear de 393 aminoácidos denominada p53 em consequência do seu peso molecular de 53 kiloDaltons (kDa) (Figura 1). A p53 se liga a seqüências específicas do DNA e age como fator de transcrição dos genes reguladores do crescimento celular (CRAWFORD et al. 1981; HAINAUT 1995).



Legenda: (A): Representação dos éxons (cilindros) 1 a 11 do gene *TP53*; (B): Representação da proteína p53. As cores representadas nos éxons correspondem aos domínios correlacionados na proteína.

Fonte: ACHATZ (2008)

Figura 1 - (A) Representação gráfica do gene *TP53*; (B) Representação Gráfica da proteína p53.

O papel do gene *TP53* na regulação do ciclo celular e sua participação direta no controle da apoptose são determinantes, recebendo o gene por isso a denominação de “guardião do genoma”. A p53 atua como um sensor de danos no DNA e auxilia o sistema de reparo, utilizando os momentos de parada do ciclo celular para possibilitar o reparo ou, caso este não possa ocorrer, a indução á apoptose, prevenindo assim que ocorra a proliferação de células com o DNA mutado (LEVINE et al. 1991).

O dano ao DNA desencadeia rotas celulares sinalizadoras que fazem com que a p53 se acumule no núcleo celular através da fosforilação da proteína. Esse processo está associado à ativação da p53 inibindo sua exportação para o citoplasma. O reparo ocorre mediante a ação da proteína p53 selvagem no núcleo, que atua em alvos específicos e por mecanismos de transativação gênica, ativando outros genes e determinando a parada do ciclo celular no início da fase G1 e o reparo do DNA (HAINAUT 1995). No início do ciclo mitótico, o gene *TP53* ativa a síntese da proteína p21, cuja função é inibir a ação das quinases dependentes de ciclinas (CDKs), fazendo com que a célula pare na fase G1, até que complete o reparo no DNA. Nas células que apresentam o gene *TP53* mutado e conseqüentemente a p53

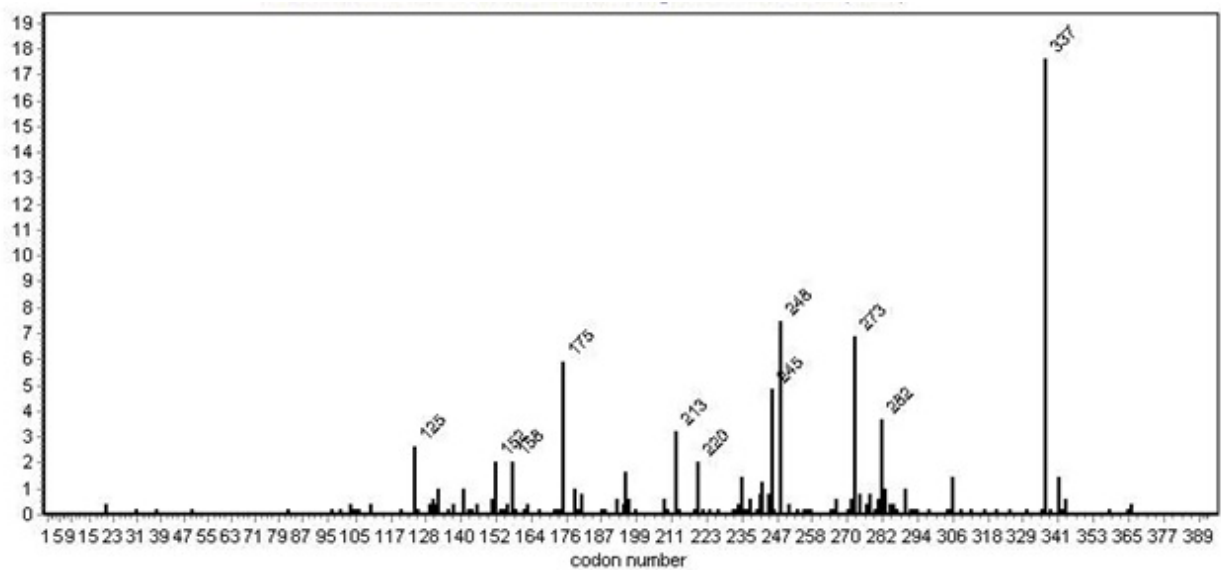
inativada, não ocorre a parada do ciclo celular necessária para o reparo do DNA e isso leva ao acúmulo de mutações e rearranjos cromossômicos levando a proliferação de células com DNA mutado e transformação neoplásica. As principais maneiras de inativação do gene *TP53* são: (1) substituição de uma única base; (2) perda do outro alelo ocasionada por inativação viral ou por proteínas celulares.

Mutações no gene *TP53* podem ser somáticas ou germinativas. Mutações somáticas no gene *TP53* ocorrem em uma ampla variedade de cânceres em uma taxa de 38% a 50%. (Olivier 2010) As mutações somáticas são mais frequentes em estádios avançados ou em subtipos de câncer com comportamento agressivo tal como os cânceres de mama triplo negativos ou com amplificação do HER2 (WANG et al. 2004). Avaliando a totalidade das seqüências codificantes, 86% das mutações somáticas estão agrupadas entre os códons 125 e 300, correspondendo ao domínio de ligação ao DNA. A maioria das mutações nessa região são *missense* (87,9%). Em contraste, fora dessa região, mutações *missense* representam somente 40%, e a maioria das mutações são *nonsense* ou *frameshift*. Entre as substituições de uma única base, em torno de 25% são substituições C:G>T:A nos locais de CpG (citosina precedendo guanina).

Mutações germinativas no gene *TP53* foram descritas como a alteração molecular responsável pela ocorrência da síndrome de Li-Fraumeni (MALKIN et al. 1990) que é transmitida às gerações de forma autossômica dominante. Neste estudo foram avaliadas cinco famílias com características clínicas sugestivas da SLF. Através do seqüenciamento direto da região codificante do gene *TP53*, foram detectadas mutações germinativas no gene *TP53* em todas as famílias estudadas. As

mutações germinativas detectadas eram mutações *missense* e ocorridas no domínio de ligação ao DNA (códon 245, 248, 252, 258).

As mutações germinativas no gene TP53 são principalmente do tipo *missense* (77%) e localizadas nas mesmas regiões, sendo estas conhecidas como regiões preferenciais, ou *hotspots* (Figura 2)



Fonte: IARC (2011)

Figura 2 - Mutações germinativas no gene *TP53*- Distribuição dos códon de substituição de único par de bases (n=494)

Até o momento, existem catalogadas no mundo 588 mutações germinativas no gene *TP53* descritas em 584 famílias. Todas as mutações estão depositadas no banco de dados de mutações em *TP53* do IARC (PETITJEAN et al. 2007).

Uma mutação germinativa específica no gene TP53 p.R337H (CGC → CAG) localizada dentro do domínio de oligomerização tem sido encontrada em famílias brasileiras com alto risco para o desenvolvimento de câncer. Primeiramente foi relatada em 35 de 36 crianças com carcinoma adrenocortical (ADR) sem história

familiar documentada de outros cânceres (RIBEIRO et al. 2001). Estudos têm identificado que a mutação p.R337H tem um defeito levando a inativação da proteína somente em condições de pH intracelular aumentado (DIGIAMMARINO et al. 2002).

Essa observação levou a especulação que p.R337H poderia predispor o desenvolvimento de câncer somente em tecidos em que o aumento no pH intracelular fosse o maior regulador de crescimento e sobrevivência. No entanto em outro estudo com 45 famílias brasileiras com diagnóstico clínico de LFS/LFL realizado por ACHATZ 2006, a mutação p.R337H foi encontrada em seis famílias. O tumor de mama de uma paciente portadora da mutação p.R337H foi avaliado e o foi demonstrado a perda de heterozigose, levando assim a demonstração da correlação direta da ocorrência da mutação ao desenvolvimento do tumor. O espectro de câncer nessas famílias foi similar ao das outras famílias com LFS/LFL portadoras de outros tipos de mutação no gene *TP53*, com alta prevalência de cânceres de mama e sarcomas, e somente duas famílias com ADR. Assim o fenótipo associado com p.R337H não é restrito a ADR.

1.4 INCIDÊNCIA DA SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

A incidência da LFS/LFL no mundo ainda não é completamente estabelecida, e os dados diferem. Estudos iniciais indicaram a ocorrência da LFS/LFL em 1:5000 indivíduos (LALLOO 2003; GARBER e OFFIT 2005), enquanto que em estudos mais recentes acredita-se que 1:20.000 indivíduos possam ser portadores da síndrome (GONZALEZ et al. 2009).

Acredita-se que a incidência da LFS no Brasil seja subestimada, e que um grande número de tumores ocorridos na população possam estar relacionados a ocorrência da mutação em indivíduos que desconhecem ser portadores. Até o momento, na literatura, foram verificados apenas dados sobre a incidência da doença no Sul e Sudeste do Brasil. No estudo de RIBEIRO et al. (2001) no qual foi detectada a mutação p.R337H em crianças com carcinoma adrenocortical verificou-se que a incidência deste tumor é de 10 a 15 vezes mais alto nessa região em relação a estatística mundial.

PALMERO et al. (2008) avaliaram a prevalência da mutação p.R337H no gene *TP53* em 750 mulheres saudáveis participantes de um programa de rastreamento para câncer de mama de uma comunidade na área de Porto Alegre. Esta mutação havia sido descrita anteriormente como uma mutação fundadora da população brasileira, relacionada a troca de uma arginina para uma histidina no códon 337 (ACHATZ et al. 2007). A mutação foi detectada em duas participantes dentre as 750 mulheres avaliadas, ou seja, em 0,3%. Outro estudo realizado em Curitiba (PIOVEZAN 2006) detectou a mutação p.R337H em 2,2 a 2,5/1000 recém nascidos (RN) vivos no Estado do Paraná.

Atualmente o Departamento de Oncogenética do Hospital A.C. Camargo tem o registro de 377 pacientes com diagnóstico clínico da LFS e LFL. Dentre estes pacientes, seis são procedentes do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e três pacientes do Serviço de Oncogenética do INCA. O teste molecular foi realizado em todos esses indivíduos e a mutação no gene *TP53* foi detectada em 80 indivíduos e a mutação p.R337H identificada em 57 pacientes. Vale ressaltar que todos os pacientes realizaram aconselhamento genético e são

reavaliados semestralmente. O aconselhamento genético é contínuo e os pacientes são submetidos a exames de rastreamento a cada retorno visando a detecção precoce de tumores malignos.

É de grande importância o aumento na atenção, informação e educação da comunidade médica para identificar melhor as famílias portadoras da LFS/LFL, que apresentam alto risco para o desenvolvimento de câncer. Estes pacientes devem ser encaminhados para programas estruturados de avaliação de risco visando a determinação detalhada dos padrões de câncer hereditário. Esta é uma síndrome de difícil manejo por apresentar um espectro tumoral variado e por existirem poucas estratégias de rastreamento reconhecidas e eficazes, o que ressalta a importância do acompanhamento clínico freqüente e especializado.

1.5 ACONSELHAMENTO GENÉTICO

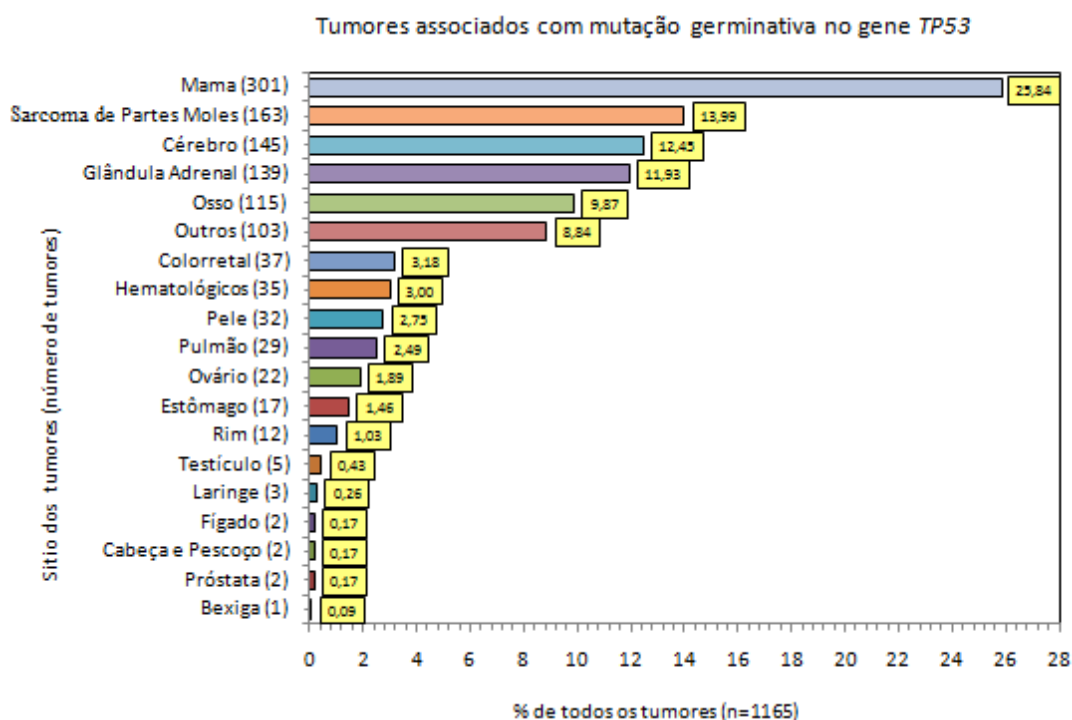
O aconselhamento genético é um processo de comunicação que trata dos problemas associados à ocorrência ou a possibilidade de ocorrência de um distúrbio genético em uma família (ASHG 1975). O aconselhamento genético para portadores de síndromes de predisposição hereditária ao câncer é educativo, pois orienta os membros da família sobre os aspectos clínicos e hereditários relativos à doença e o risco para o desenvolvimento de lesões, dando informações ao paciente e seus familiares para optarem pela forma de acompanhamento que desejam realizar. O aconselhamento também abordará os aspectos psicossociais do paciente visando à redução da ansiedade, adaptação à carga de estresse relacionada à doença, conforto no luto e ajuda na decisão sobre o teste genético. Os pacientes com LFS/LFL e seus

familiares são orientados sobre as possibilidades de diagnóstico precoce e prevenção baseadas nas informações levantadas e no teste molecular sempre que possível. Diversos tumores estão relacionados a esta síndrome e, por isso, é difícil definir um padrão no acometimento dos tumores e na idade ao diagnóstico, o que dificulta a realização de estudos que visem correlacionar os diferentes aspectos da síndrome (VARLEY 2003).

Mediante o diagnóstico clínico da LFS e LFL, a adoção de medidas visando o rastreamento precoce de tumores deve ser aplicada ao paciente e a seus familiares que passam a ser considerados como indivíduos de alto risco para o desenvolvimento de neoplasias malignas. Pelo processo de aconselhamento genético é possível proporcionar ao paciente uma melhor compreensão das características da doença, padrão de transmissão e prognóstico. Após iniciado o processo de informação e aconselhamento, o paciente é esclarecido sobre a possibilidade de confirmação do diagnóstico clínico da LFS e LFL usando a análise molecular do gene *TP53*. A presença da mutação no gene *TP53* ocasionará a inativação ou produção anômala da proteína p53, levando à falha no mecanismo de supressão tumoral e facilitando a ocorrência dos tumores relacionados ao fenótipo da LFS e LFL. Com a detecção da mutação, será possível a busca da mesma alteração em familiares assintomáticos que apresentam risco aumentado para o desenvolvimento de neoplasias malignas e logo o rastreamento precoce de tumores.

A viabilização de um rastreamento sistemático e precoce para estes indivíduos é um dos maiores desafios devido a multiplicidade de sítios onde podem ocorrer neoplasias. Em novembro de 2010, 1165 tumores haviam sido descritos em

mais de 24 sítios tumorais diferentes identificados e armazenados no banco de dados do PETITJEAN et al. (2007) e IARC (2011) (Figura 3).



Fonte: IARC (2011); PETITJEAN et al. (2007)

Figura 3 - Tumores associados com mutações na linhagem germinativa no gene *TP53*

1.6 RASTREAMENTO REALIZADO NOS PACIENTES COM LFS/LFL

As estratégias de rastreamento que são realizadas no Departamento de Oncogenética do Hospital A.C. Camargo seguem as diretrizes do *National Comprehensive Cancer Network - NCCN* (2009) (Quadro 3) e incluem além do exame clínico, exames de imagem para avaliação da mama e colonoscopia para rastreamento de câncer colorretal. A revisão do espectro tumoral na população

LFS/LFL brasileira com a mutação fundadora p.R337H permitiu a confirmação da ocorrência de múltiplos casos de tumores de tireóide e renal (ACHATZ 2008). Desta forma, foi necessária a introdução de exames semestrais de ultrassonografias de tireóide e vias urinárias ao rastreamento.

Quadro 3 – Protocolo de rastreamento de pacientes com LFS/LFL

Risco de câncer de mama	<ul style="list-style-type: none"> • Auto-exame das mamas mensal iniciando aos 18 anos • Exame clínico das mamas semestralmente iniciando aos 20-25 anos ou 5-10 anos antes do caso de câncer de mama conhecido na família mais precoce ou o que ocorrer primeiro. • Mamografia anual e ressonância magnética (RM) de mama iniciando aos 20-25 anos ou individualizado baseado na idade de início mais precoce na família • Discutir opção de mastectomia redutora de risco caso a caso e aconselhamento em relação ao grau de proteção, grau do risco de câncer e opções de reconstrução.
Outros riscos de câncer	<ul style="list-style-type: none"> • Existem limitações com relação ao rastreamento para muitos cânceres relacionados à LFS: Há um considerável risco de novos tumores primários e o rastreamento deve ser considerado para que esses tumores sejam detectados precocemente e tenham um melhor prognóstico. • Discutir a opção de participar de novas tecnologias de exame de imagem como PET-CT, ultrassonografia de abdome e ressonância magnética de crânio • Pediatras devem estar cientes do risco de câncer na infância em famílias afetadas. • Exame físico abrangente anual com alto índice de suspeição para tumores raros e segunda malignidade em pacientes que já apresentaram câncer: inclui cuidadoso exame de pele e neurológico. • Considerar colonoscopia a cada 2-5 anos. Iniciando o mais tardar aos 25 anos • Objetivar vigilância baseado na história familiar individual. • Instrução no que diz respeito aos sinais e sintomas do câncer.
Risco para parentes	<ul style="list-style-type: none"> • Informar aos parentes sobre o possível risco de câncer herdado, opções para a avaliação e manejo de risco. • Recomendamos aconselhamento genético e considerar teste genético para parentes de risco.

Fonte: NCCN (2009)

1.7 ^{18}F -FDG PET-CT NO RASTREAMENTO DE TUMORES NA SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

O objetivo do rastreamento de tumores é detectar o câncer em um estágio inicial quando ainda pode ser tratável e curável. É empregado em uma população aparentemente saudável com alto risco para o desenvolvimento de tumores como é o caso da Síndrome de Li-Fraumeni.

O PET-CT é um exame de imagem não invasivo utilizado em oncologia no estadiamento de alguns tipos de câncer como por exemplo o câncer de pulmão e linfoma e também para avaliar recidiva tumoral e resposta a terapia utilizada. Alguns grupos propuseram o PET-CT como uma ferramenta de rastreamento de câncer na população geral (CHEN et al. 2004; SCHODER e GONEN 2007; MINAMIMOTO et al. 2007; NISHIZAWA et al. 2009).

Este exame foi incluído como uma das possibilidades de rastreamento na LFS/LFL devido ao estudo no qual o PET-CT com ^{18}F -FDG possibilitou a detecção de tumores malignos em três dentre 15 pacientes LFS assintomáticos (MASCIARI et al. 2008). No entanto, evidências ainda são escassas e esta opção deve ser melhor discutida e avaliada.

O PET-CT é uma técnica de imagem de corpo inteiro não invasivo que permite a aquisição simultânea de informações sobre a aumentada atividade metabólica glicolítica em células e órgãos com o uso de uma molécula de glicose modificada marcada com flúor radioativo que é o ^{18}F -fluorodeoxiglicose combinado com referências anatômicas da tomografia computadorizada.

O ^{18}F -FDG PET-CT pode, não somente evidenciar doença neoplásica ativa, como quantificá-la pelo valor padrão de captação de glicose fluorada ou SUV (*standardized uptake value* ou valor padrão de captação) que evidencia o grau de atividade metabólica das lesões. Esta avaliação baseia-se no fato de que as células malignas apresentam um aumento da concentração e do metabolismo da glicose quando comparadas às células normais (JUWEID e CHESON 2006).

O ^{18}F -FDG é uma molécula análoga à glicose e que é igualmente transportada para o interior das células. Entretanto, diferentemente da glicose, após sofrer a fosforilação pela hexoquinase, não segue a via glicolítica normal e permanece retida dentro da célula como FDG-6-fosfato, com a subsequente defosforilação ocorrendo lentamente (NABI e ZUBELDIA 2002).

Atualmente evita-se o uso de radiação em pacientes com LFS/LFL por apresentarem um risco aumentado para o desenvolvimento de novas neoplasias primárias (STRONG 2003). Devido a isso existem questionamentos da segurança do uso do PET-CT nesses pacientes mesmo na ausência de estudos que demonstrem esse fato utilizando o PET-CT.

Recentemente foi proposto um novo protocolo de rastreamento para pacientes portadores da LFS/LFL. O estudo foi conduzido pelo grupo do Dr. David Malkin, do Sick Children Hospital, Toronto, Canadá (VILLANI et al. 2011) que acompanhou pacientes no período de 2004 a 2010 com um protocolo intensivo de exames, que incluía além dos propostos pelo NCCN, a realização de ressonância magnética de crânio anual, ressonância magnética de corpo inteiro rápida, ultrassonografia total de abdome anual e hemograma a cada seis meses.

1.8 EXPOSIÇÃO RADIOATIVA COM O USO DO ^{18}F -FDG PET-CT

Com o objetivo de se medir a energia depositada por um feixe de fótons de alta energia (raios X ou raios gama) em um tecido biológico e os seus efeitos sobre este tecido, foi criada a unidade de grandeza “dose absorvida”. A dose absorvida de radiação é a energia depositada por quilograma de tecido e é expressa em “rad” (*radiation absorbed dose*, ou dose de radiação absorvida). Pelo sistema internacional de medidas utiliza-se a unidade “gray” (Gy), que equivale a 100 rad. Ela é adotada para qualquer tipo de radiação ionizante e não especificamente para o uso de raios-X (RX). Os efeitos biológicos não dependem apenas da dose de radiação absorvida (Gy), mas também das características da radiação ionizante e da sua capacidade de produzir íons e dissipar energia em sua trajetória no meio ou tecido. Por esta razão foi proposta, para o uso clínico de exames radiológicos, a grandeza “dose equivalente”, usando-se a unidade “rem” (*roentgen equivalent man*, ou equivalente em *roentgen* no homem), que leva em consideração a qualidade da radiação e como a energia se transfere ao tecido. Para as radiações eletromagnéticas X ou gama, 1 rem equivale a 1 rad. No sistema internacional de medidas, a unidade de dose equivalente foi denominada “sievert” (Sv) e 1 Sv equivale a 100 rem, assim como 1 Gy equivale a 100 rad. Podemos dizer que a dose absorvida de 1 Gy proporcionará uma dose equivalente de 1 Sv. Resumindo, a dose absorvida pode ser medida, atualmente, em Gy e corresponde à dose equivalente, que é medida em Sv.

A unidade usada em exames tomográficos para medir radiação é milisievert (mSv). Cada unidade de sievert equivale a 1000 milisievert. A Comissão Internacional de Proteção Radiológica sugere que haja um risco real em torno de 5%

por sievert para o surgimento de malignidade radio-induzida na população geral. Isto significa que cinco de 100 indivíduos expostos a uma dose efetiva de um sievert desenvolveriam câncer. Um sievert equivale a aproximadamente 100 exames de TC de corpo inteiro. Aplicando esse conceito a exposição radioativa de baixa dose, de 100.000 indivíduos expostos a uma dose equivalente de um milisievert /ano, cinco possivelmente apresentariam neoplasia radio-induzida.

Assumindo uma distribuição por sexo e idade semelhante à da população dos EUA inteiro, o VII BEIR 2006 (*Committee on the biological effects of ionizing radiation* 2006) de modelo de risco de vida, prevê que cerca de uma pessoa em cada 100 seria esperado desenvolver câncer (sólidos ou leucemia), a partir de uma dose de 0,1 Sv, comparado com aproximadamente 42 dos 100 indivíduos que seria esperado desenvolver câncer sólido ou leucemia por outras causas. Doses mais baixas produziram riscos proporcionalmente menores. Por exemplo, a comissão prevê que cerca de um indivíduo em 1000 desenvolveria câncer quando exposto a 0,01 Sv que equivale a 10mSv. Como outro exemplo, espera-se que cerca de um indivíduo em 100 desenvolva câncer no decorrer da vida até os 70 anos, exposto à baixa LET (*low linear energy transfer*) da radiação natural (excluindo o rádon e outra radiação de alta energia). A dose estimada para uma TC de corpo inteiro com multidetector é de 11,6 mSv.

Existe apenas um estudo onde PET-CT com ^{18}F -FDG foi realizado em pacientes portadores da LFS com 15 pacientes assintomáticos detectando-se tumores malignos em 20% desses indivíduos nos estádios II e III (MASCIARI et al. 2008). Estudos realizados visando compreender a efetividade do PET-CT no rastreamento

de tumores malignos em pacientes com LFS irão possibilitar a compreensão dos benefícios deste método no rastreamento de pacientes em risco.

2 JUSTIFICATIVA

Pacientes portadores da síndrome de Li-Fraumeni tem risco aumentado para o desenvolvimento de neoplasias malignas com 50% de chance de desenvolver tumores antes dos 30 anos e 90% de risco ao longo da vida. Devido a este fato se faz necessário a definição de estratégias eficazes para rastreamento que detectem neoplasias em estádios iniciais.

O ^{18}F -FDG-PET-CT é um exame de imagem muito utilizado em oncologia e também tem sido realizado em estudos de rastreamento de câncer no Japão em indivíduos assintomáticos (CHEN et al. 2004; SCHODER e GONEN 2007). Mostrou alta sensibilidade em torno de 90% em detectar neoplasias primárias e suas metástases inclusive na grande maioria dos tumores associados com LFS (MINAMIMOTO et al. 2007)

De acordo com as diretrizes do NCCN lançadas e atualizadas em abril de 2009 onde sugeria realização de PET-CT com ^{18}F -FDG como instrumento de detecção precoce de lesões malignas baseado em apenas um estudo onde PET-CT com ^{18}F -FDG foi realizado em 15 pacientes assintomáticos portadores da LFS. Foram detectados tumores malignos em 20% desses indivíduos nos estádios II e III (MASCIARI et al. 2008).

O Departamento de Oncogenética, associado ao Setor de Medicina Nuclear realizou esse exame de imagem em 30 pacientes assintomáticos com mutação germinativa no gene *TP53* com a intenção de definir a capacidade de detecção de

tumores pela realização do PET-CT como técnica de rastreamento em pacientes com LFS.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliação do uso do método de imagem PET-CT com ^{18}F -FDG na efetividade para a detecção de tumores em um grupo de 30 pacientes portadores da síndrome LFS/LFL com a mutação germinativa no gene *TP53*.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Verificar a contribuição adicional do PET-CT com ^{18}F -FDG aos exames preconizados pelo NCCN nos pacientes com LFS/LFL.

4 PACIENTES E MÉTODO

Foi realizado um estudo prospectivo observacional/descritivo em 30 pacientes com a mutação no gene *TP53* em que foi utilizado o PET-CT com ¹⁸F-FDG como exame para detecção de tumores. O estudo foi realizado no Hospital A.C. Camargo em São Paulo, Brasil. Dentre os 30 pacientes recrutados, todos foram selecionados mediante o diagnóstico da LFS/LFL. Sete pacientes foram incluídos à medida que compareciam para recebimento de resultado de teste genético e posterior aconselhamento genético e 20 foram incluídos quando retornaram para nova consulta de seguimento no Departamento de Oncogenética deste hospital. Três pacientes portadores da mutação no gene *TP53* que já tinham realizado o PET-CT anteriormente ao início do projeto também foram incluídos. Todos os três pacientes realizaram o exame no Departamento de Imagem e no setor de Medicina Nuclear do Hospital A.C. Camargo com o mesmo aparelho deste estudo e avaliados pelos mesmos profissionais.

4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Todos os indivíduos incluídos neste estudo: (1) receberam diagnóstico molecular da LFS e tiveram a detecção da mutação no gene *TP53*; (2) eram assintomáticos no momento da entrevista; (3) poderiam ou não ter história prévia de algum tipo de neoplasia e (4) idade a partir de 18 anos. Os critérios de exclusão

incluiram: (1) história de câncer metastático; (2) diagnóstico de neoplasia maligna com menos de 24 meses; (3) paciente com idade menor de 18 anos.

Todos os participantes realizaram além do PET-CT os exames de rastreamento propostos pelo NCCN (2009) no mesmo período. Foram incluídos no rastreamento a ultrassonografia de tireóide e aparelho urinário a partir da observação de múltiplos casos de tumores de tireóide e rim na população LFS brasileira (ACHATZ 2008). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital A.C. Camargo- Fundação Antonio Prudente (Número 1330/09). O estudo foi conduzido de Novembro de 2009 a Março de 2011.

4.2 PET-CT COMO MÉTODO DE RASTREAMENTO NA LFS/LFL

Em conjunto com o Setor de Medicina Nuclear, no Departamento de Imagem do Hospital A.C. Camargo, realizamos PET-CT com ^{18}F -FDG nos pacientes nos quais a mutação germinativa no gene *TP53* havia sido previamente detectada. O PET-CT não substituiu o rastreamento preconizado pelo NCCN para portadores da LFS/LFL e todos os exames de rastreamento previamente preconizados para a LFS/LFL foram realizados em associação com o PET-CT. O PET-CT com ^{18}F -FDG foi um método adicional e seu uso foi avaliado nesse estudo.

Todos os exames de PET-CT com ^{18}F -FDG foram realizados no setor de Medicina Nuclear do Departamento de Imagem do Hospital AC Camargo no equipamento PET-CT GEMINI Philips e interpretados por dois médicos nucleares, Dr Eduardo Lima (chefe do Setor de Medicina Nuclear), Dra Ivone Torres ou Dr

Marcelo Cavecchioli. Os critérios para a avaliação dos exames são a presença de concentração anômala do ^{18}F -FDG, com análises qualitativas (visualmente) e quantitativas (medida do SUV – valor padrão de captação).

Os pacientes apresentaram-se em jejum de 6 horas para a realização do exame. A injeção venosa de 5.2 MBq (megabecquerel) de ^{18}F -FDG foi realizada após 30 minutos de repouso do paciente em leito na sala de injeção e verificação prévia da glicemia por hemoglicoteste. Os pacientes foram orientados a evitar atividade física e falar excessivamente antes e após a injeção do ^{18}F -FDG, e a alimentarem-se após a injeção.

A obtenção das imagens do PET-CT foi feita após 90 a 120 minutos da injeção venosa do ^{18}F -FDG. O exame iniciou-se pela aquisição da TC sem contraste seguida do PET englobando desde o segmento cefálico até o terço médio da coxa. Os pacientes foram posicionados durante a obtenção das imagens de PET e TC com os braços para cima.

As imagens obtidas dos exames de cada paciente foram analisadas e interpretadas por um médico nuclear e revisadas por um segundo médico nuclear. Em seguida, as imagens foram arquivadas no Setor de Medicina Nuclear em discos compactos, conforme rotina do setor. Os exames de PET-CT com ^{18}F -FDG são realizados rotineiramente e em elevado número no setor de Medicina Nuclear do Departamento de Imagem do Hospital A.C. Camargo.

Após a realização do PET-CT com ^{18}F -FDG todos os pacientes passaram em consulta no Departamento de Oncogenética para continuidade do aconselhamento genético. Os pacientes nos quais foi detectada alguma concentração anômala do ^{18}F -FDG realizaram exames complementares para melhor avaliação e posterior conduta

de acordo com os resultados obtidos. . O material proveniente dos pacientes que realizaram biópsia/cirurgia foram encaminhados ao Departamento de Patologia do Hospital A.C. Camargo para realização de exame anatomopatológico.

5 RESULTADOS

Um total de 30 pacientes assintomáticos procedentes de seis famílias aparentemente não relacionadas, com diagnóstico de LFS ou LFL, realizaram PET-CT com ^{18}F -FDG. Foram incluídos 18 indivíduos do sexo feminino e 12 do sexo masculino com idade variando entre 19 a 76 anos com uma idade média de 43 anos \pm 16.5. Oito pacientes apresentavam história prévia de câncer, sem nunca ter desenvolvido metástases, e com diagnóstico há mais de dois anos e três haviam apresentado mais de um tipo de câncer primário. Todos os pacientes incluídos haviam sido diagnosticados previamente como portadores de uma mutação germinativa no gene *TP53* (Quadro 4).

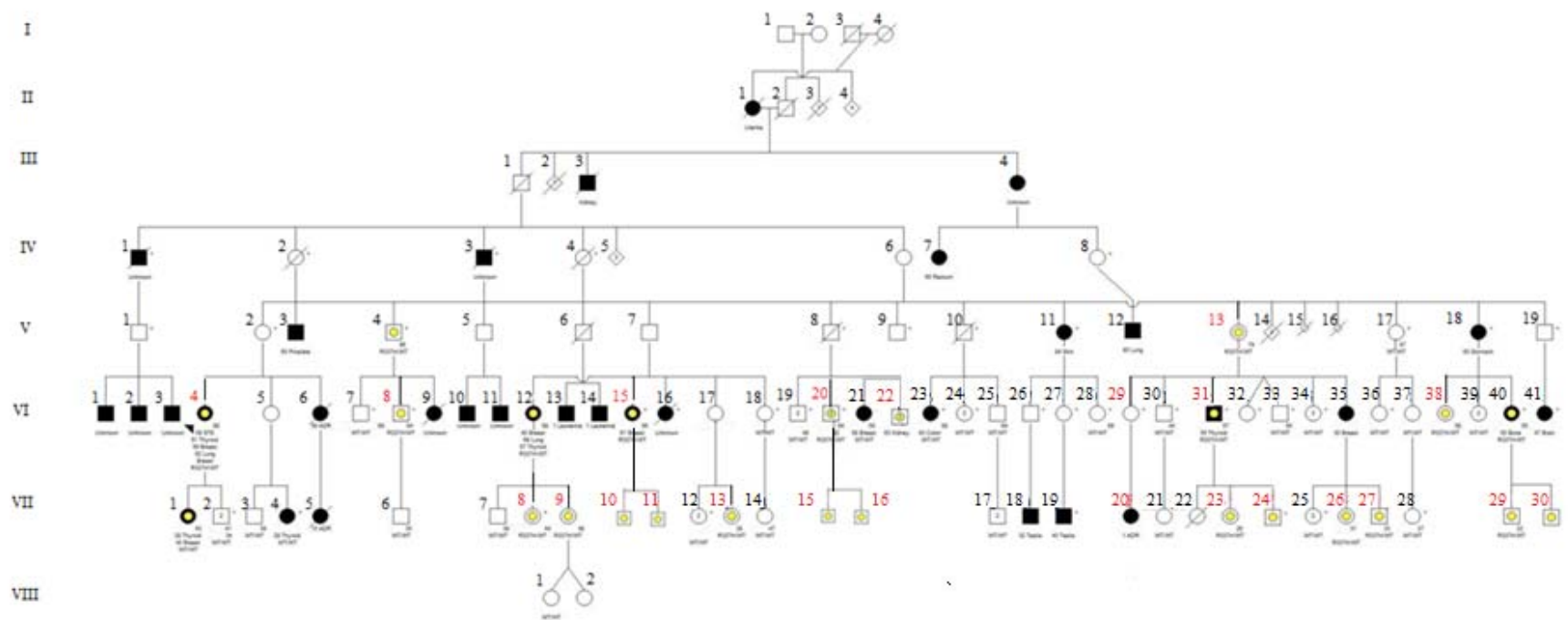
A mutação fundadora brasileira no gene *TP53*, p.R337H, estava presente em 90% (27/30) dos pacientes incluídos e provenientes de quatro famílias aparentemente não relacionadas. Dois pacientes apresentaram a mutação p.T125T e um paciente apresentou uma mutação em sítio de *splicing*, IVS8+1G>A. Dentre os 27 pacientes p.R337H, 23 (85%) eram da mesma família Y0012. Até o momento deste estudo, 85 indivíduos provenientes desta família tinham sido testados e destes 28 apresentam mutação germinativa p.R337H no gene *TP53*. Todos foram convidados a integrar este estudo e 23 aceitaram realizar o PET-CT (Figura 4).

Quadro 4 - Mutações germinativas no gene *TP53* em pacientes submetidos ao PET-CT.

Nomenclatura	Família	Idade (anos)*	Sexo	Mutação	cDNA	Tumores malignos Prévios (idade em anos)
Y0012T012	Y0012	56	M	p.R337H	c.1010G>A	Tireóide (54)
Y0012T055	Y0012	64	F	p.R337H	c.1010G>A	Mama (59)
Y0012T070	Y0012	67	F	p.R337H	c.1010G>A	Mama (51 61), Tireóide (62), Pele Não Melanoma (65)
Y0012T077	Y0012	24	F	p.R337H	c.1010G>A	ADR (1)
Y0012T007	Y0012	29	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T009	Y0012	76	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T015	Y0012	31	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T022	Y0012	63	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T023	Y0012	24	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T025	Y0012	42	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T026	Y0012	21	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T027	Y0012	61	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T029	Y0012	46	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T044	Y0012	36	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T049	Y0012	56	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T063	Y0012	62	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T072	Y0012	50	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T076	Y0012	39	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T082	Y0012	19	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T084	Y0012	32	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T085	Y0012	31	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T090	Y0012	32	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0012T091	Y0012	35	M	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0027T006	Y0027	40	F	p.R337H	c.1010G>A	Mama (38)
Y0079T005	Y0079	60	F	p.T125T	c.375G>A	Não
Y0079T007	Y0079	62	F	p.T125T	c.375G>A	Não
Y0097T000	Y0097	33	M		IVS8+1G>A	Sarcoma de partes moles (1,28)
Y0099T000	Y0099	35	F	p.R337H	c.1010G>A	Mama (32)
Y0099T001	Y0099	28	F	p.R337H	c.1010G>A	Não
Y0131T000	Y0131	51	F	p.R337H	c.1010G>A	Mama (44), Tireóide (46)

Dos 23 pacientes da família Y0012 que participaram do estudo, quatro apresentavam história prévia de algum tipo de câncer: Paciente representado como VI-31 no heredograma (Y0012T012), sexo masculino, câncer papilífero de tireóide aos 54 anos; Paciente VII-20 no heredograma (Y0012T077), sexo feminino, apresentou carcinoma adrenocortical com um ano de vida; VI-15 (Y0012T055), sexo feminino, câncer de mama aos 59 anos; VI-4 (Y0012T070), sexo feminino, múltiplos tumores primários como câncer de mama aos 41 e 51 anos na mesma mama, carcinoma papilífero de tireóide aos 62 anos e câncer de pele não melanoma aos 65 anos.

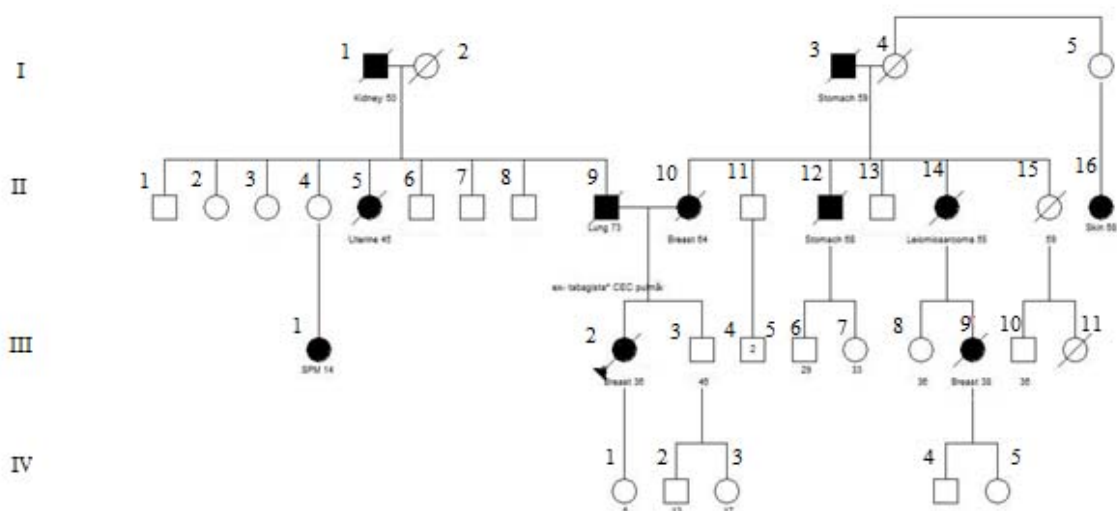
O ^{18}F -FDG apresentou concentração anômala em três indivíduos da família Y0012: V-13(Y0012T009), VI-32(Y0012T012), VI-4(Y0012T070) e em dois pacientes eram lesões não neoplásicas (Y0012T009 e Y0012T012) e em um paciente Y0012T070 a lesão era maligna. Vale ressaltar que os três pacientes estavam realizando adequadamente o rastreamento com os exames propostos pelo NCCN que não detectaram lesões.



Legenda: O paciente- índice está indicado por uma seta. Amarelo: pacientes portadores de p.R337H. Preto: paciente afetado por um tumor maligno. Primeira informação abaixo do símbolo: idade atual. Segunda informação: idade de acometimento do tumor e tipo. Última informação: resultado teste molecular p.R337H. Vermelho: pacientes da família Y0012 que participaram do estudo e realizaram PET-CT.

Figura 4 - Heredograma Família Y0012.

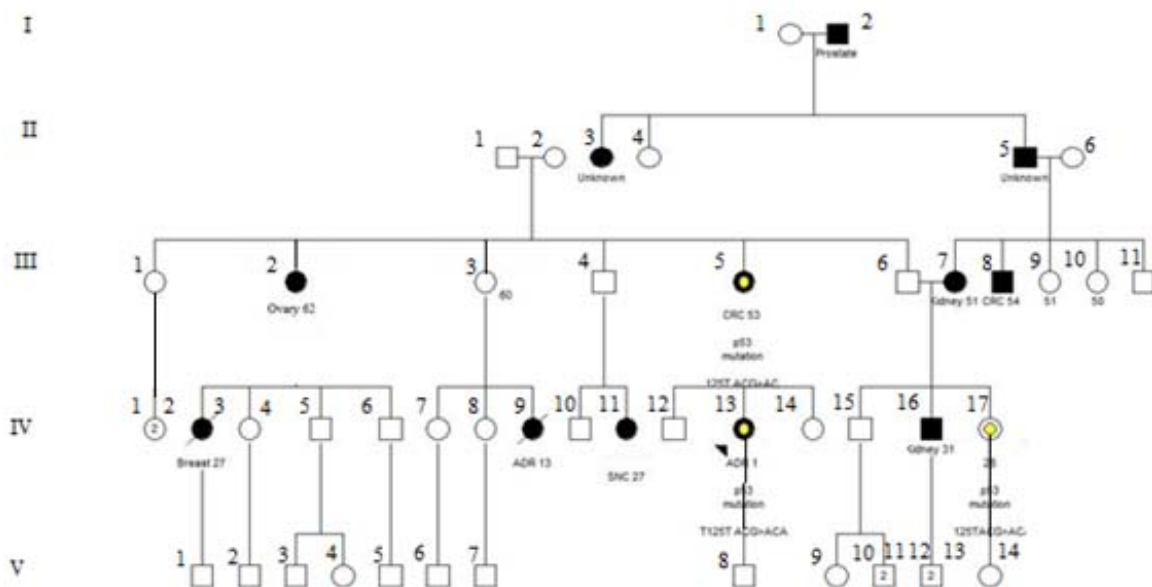
Onze indivíduos da família Y0027 foram testados para a mutação p.R337H. Em cinco indivíduos a mutação foi detectada. Todos os portadores foram contatados, no entanto, apenas um indivíduo portador da mutação no gene *TP53* participou do estudo Y0027T006 (paciente III-9 no heredograma), sexo feminino, 40 anos com passado de câncer de mama aos 38 anos. O PET-CT foi positivo e compatível com neoplasia (Figura 5).



Legenda: O paciente- índice está indicado por uma seta. Preto: paciente afetado por um tumor maligno. Primeira informação abaixo do símbolo: idade de acometimento do tumor e tipo.

Figura 5 - Heredograma Família Y0027

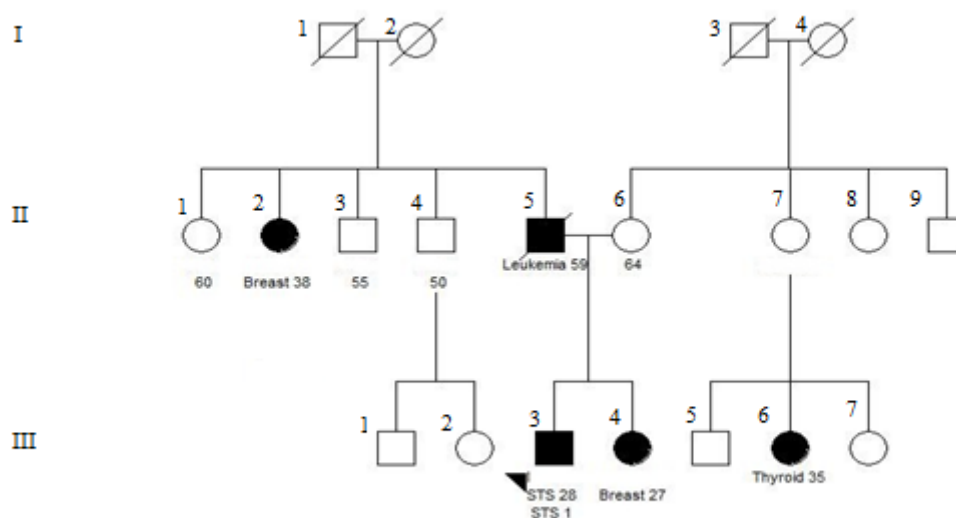
Na família Y0079 (Figura 6) 13 indivíduos foram testados, a mutação p.T125T detectada em cinco e dois pacientes Y0079T006 (paciente III-2 no heredograma) e Y0079T005 (paciente III-3) realizaram PET-CT. As duas pacientes que realizaram o PET-CT apresentavam idade de 60 anos e 62 anos e são irmãs. O PET-CT foi positivo em ambas, porém na paciente Y0079T005 era compatível com lesão não neoplásica e na outra paciente Y0079T006 era compatível com lesão maligna. Nenhuma das pacientes apresentava passado de neoplasias.



Legenda: O paciente- índice está indicado por uma seta. Amarelo: pacientes portadores de p.T125T Preto: paciente afetado por um tumor maligno. Primeira informação abaixo do símbolo: idade de acometimento do tumor e tipo. Última informação: resultado teste molecular p.T125T.

Figura 6 - Heredograma Família Y0079

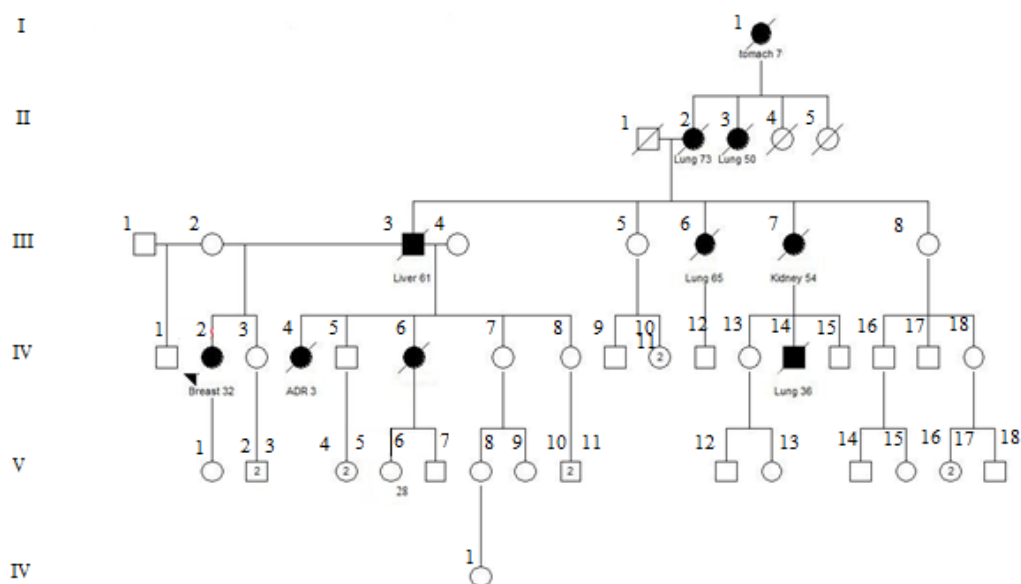
A família Y0097 (Figura 7) tem dois indivíduos testados onde se detectou mutação em sítio de *splicing* no íntron IV(IV8+G>A) nos dois indivíduos e apenas um participou do estudo que é o paciente-índice Y0097T000 (paciente III-3 no heredograma) representado por uma seta (Figura7). Esse paciente é do sexo masculino e tem passado de rbdmiossarcoma embrionário em órbita esquerda com um ano de idade e fibrossarcoma em coxa direita aos 28 anos.



Legenda: O paciente- índice está indicado por uma seta. Preto: paciente afetado por um tumor maligno. Primeira informação abaixo do símbolo: idade de acometimento do tumor e tipo.

Figura 7 - Heredograma Família Y0097

Na família Y0099 (Figura 8) seis indivíduos foram testados. Dois indivíduos tiveram a mutação p.R337H no gene *TP53* detectada e ambos participaram do estudo, um deles sendo o paciente-índice Y0099T000 (IV-2 no heredograma) com 34 anos e com passado de câncer de mama aos 32 anos. A outra paciente Y0099T001 (V-6) de 28 anos sem passado de neoplasia.

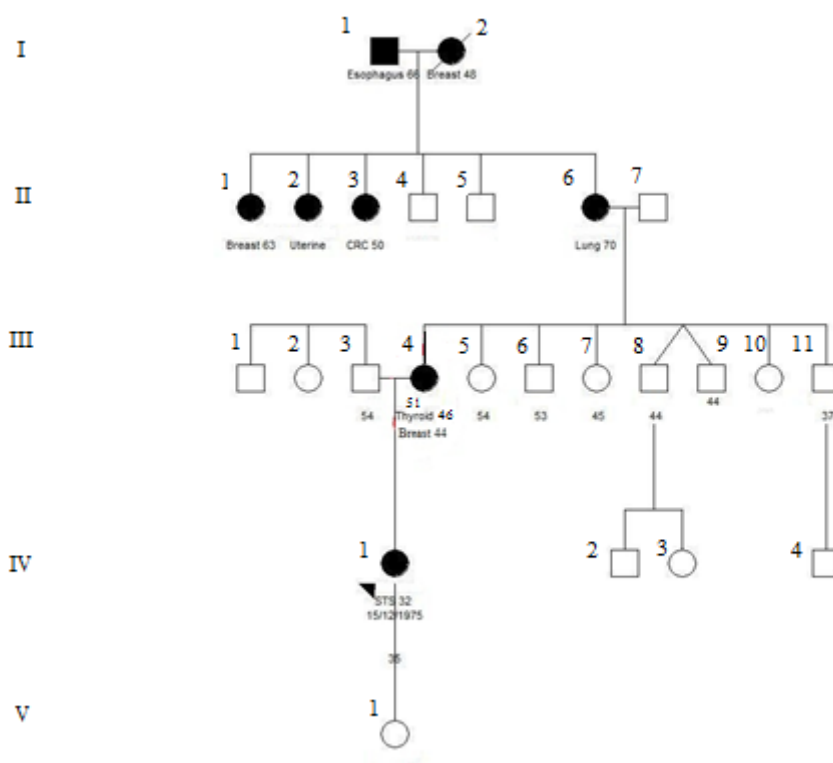


Legenda: O paciente-índice está indicado por uma seta. Preto: paciente afetado por um tumor maligno. Primeira informação abaixo do símbolo: idade de acometimento do tumor e tipo.

Figura 8 - Heredograma Família Y0099

Na família Y0131 (Figura 9) dois indivíduos foram testados e a mutação p.R337H detectada nos dois, porém apenas um entrou no estudo, a paciente Y0131T000 (paciente III-4 no heredograma) de 51 anos com passado de neoplasia de mama aos 44 anos e carcinoma papilífero de tireóide aos 46 anos.

Atualmente no Departamento de Oncogenética do Hospital A.C.Camargo 170 famílias com o diagnóstico clínico da LFS/LFL são acompanhadas, sendo que 39 famílias têm a mutação germinativa no gene *TP53* detectada.



Legenda: O paciente- índice está indicado por uma seta. Preto: paciente afetado por um tumor maligno. Primeira informação abaixo do símbolo: idade de acometimento do tumor e tipo.

Figura 9 - Heredograma Família Y0131

5.1 DETECÇÃO DE TUMORES PELO PET-CT EM PACIENTES COM MUTAÇÃO GERMINATIVA NO GENE TP53

Sítios com concentração anômala do ^{18}F -FDG foram observados em 20% (6/30) dos pacientes, sendo três lesões não neoplásicas e três tumores malignos (Quadro 5). Quatro pacientes com PET-CT positivo apresentavam a mutação fundadora brasileira no gene *TP53* p.R337H e duas pacientes apresentavam a mutação no sítio de ligação ao DNA. Desses pacientes com concentração anômala do ^{18}F -FDG, três tinham passado de câncer (Quadro 5)

Quadro 5 - Pacientes com concentração anômala do ^{18}F -FDG.

Paciente	Mutação/ sexo/ *idade (em anos)	História prévia de câncer (idade em anos)	Local de captação (órgão)	SUV max	Histopatologia em material cirúrgico
Y0012T070	p.R337H/F/67	Mama (51, 61) Tireóide (62) Pele (65)	Tórax (pulmão)	1,7	Adenocarcinoma misto padrão bronquiolo- alveolar / acinar
Y0079T007	p.T125T /F/62	Não	Pelve	5,1	Carcinoma de ovário
Y0027T006	p.R337H/F/40	Mama (38)	Coluna	5,8	Metástase de carcinoma de mama
Y0012T007	p.R337H/F/29	Não	Pelve (púbis)	2,0	Cistos de Bartholin
Y0079T005	p.T125T /F/60	Não	Abdome (mesentério)	7,9	Linfonodos com hiperplasia reacional
Y0012T012	p.R337H/M/54	Tireóide (52)	Tórax (Axila)	2,0	Hiperplasia reacional

Legenda: SUV-*Standardized uptake value*; * idade à inclusão no projeto.

Os seis pacientes com concentração anômala de FDG foram avaliados por oncologistas que definiram a melhor conduta terapêutica para diagnóstico das lesões.

Três pacientes assintomáticos foram diagnosticados com lesões malignas. Dois pacientes tiveram a confirmação da presença de lesões malignas através de biópsia e remoção cirúrgica da lesão. Uma paciente teve fortes evidências de múltiplas lesões metastáticas disseminadas em ossos e fígado e foi a óbito em seis meses devido ao quadro clínico.

Três pacientes assintomáticos foram diagnosticados com lesões não neoplásicas. As lesões encontradas em um dos pacientes era sugestiva de linfonodo reacional e seu caráter não neoplásico foi melhor definido frente a exérese da lesão e confirmação histopatológica. Em uma paciente houve concentração do ^{18}F -FDG em topografia pélvica sugestiva de processo inflamatório. A paciente realizou ressonância magnética da região, com detecção de lesão sugestiva de cisto inflamatório. Na terceira paciente o ^{18}F -FDG concentrou em mesentério e a mesma foi encaminhada ao departamento de Cirurgia Pélvica onde foi realizada cirurgia para avaliação da lesão. O exame histopatológico demonstrou linfonodo reacional. Todos os três pacientes foram seguidos clinicamente trimestralmente e no período de 12 meses não desenvolveram novas lesões.

5.1.1 ^{18}F -FDG PET-CT em Pacientes portadores da Mutação p.R337H

Quatro pacientes portadores da mutação p.R337H tiveram lesões detectadas pelo ^{18}F -FDG PET-CT. Dentre os quatro pacientes que apresentaram concentração do FDG, duas eram portadoras de lesões malignas.

A paciente Y0012T070 (Figura 4), de 67 anos, tinha história pregressa de múltiplos tumores primários e estava assintomática há dois anos. Apresentou carcinoma ductal *in situ* aos 51 anos e carcinoma ductal invasivo aos 61 anos (dois tumores primários na mesma mama), carcinoma papilífero de tireóide aos 62 anos e carcinoma basocelular de pele aos 65 anos. À realização do PET-CT houve concentração anômala do ^{18}F -FDG em região pulmonar apical esquerda com SUV máximo de 1,76. (Figuras 10A e 10B)

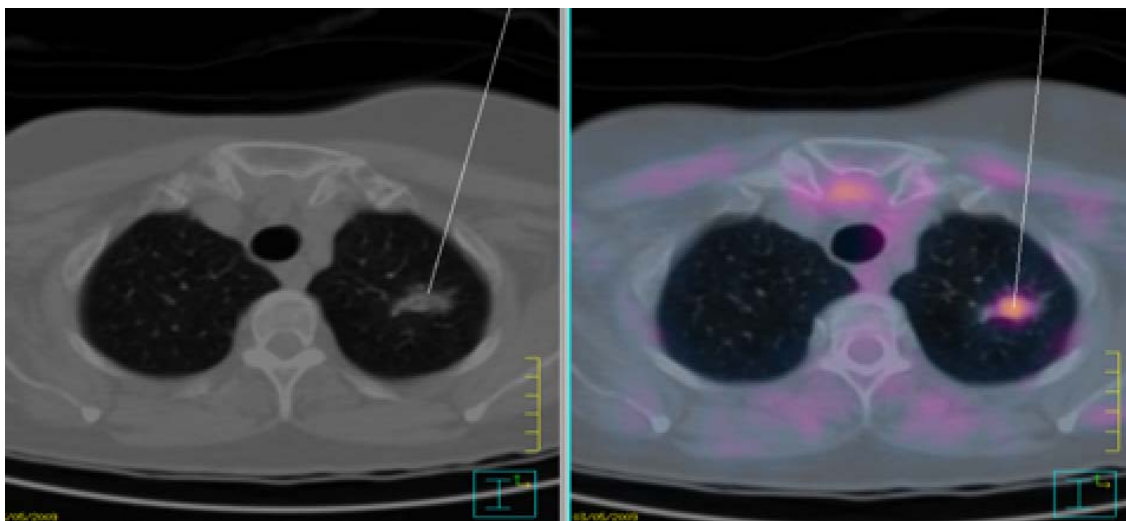


Figura 10A – PET-CT paciente Y0012T070. Imagem da CT à esquerda e de fusão do PET com a CT à direita na qual é observada área de concentração anômala do ^{18}F -FDG na topografia torácica correspondendo a lesão pulmonar espiculada apical à direita com SUV de 1,76. A área de concentração anômala do ^{18}F -FDG observada corresponde a sítio de atividade metabólica anormal local (lesão em atividade).

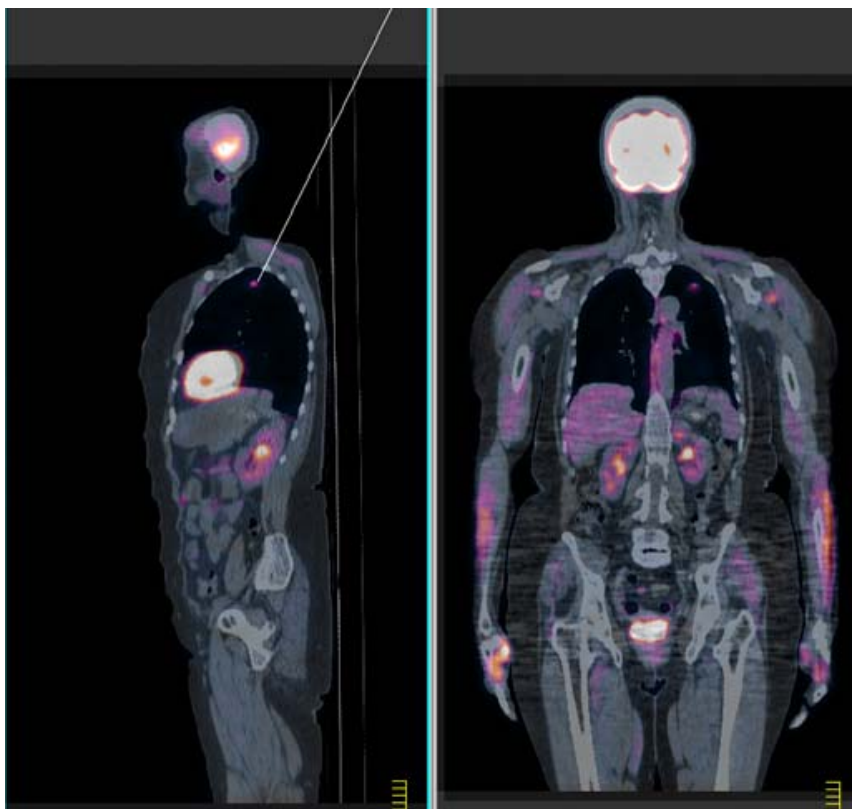


Figura 10B – PET-CT paciente Y0012T070. Observa-se sítio de atividade metabólica anormal em ápice pulmonar direito em corte sagital e corte coronal de PET-CT

A paciente foi submetida a biópsia pulmonar que evidenciou adenocarcinoma misto com padrão acinar e bronquíolo-alveolar (Figura 11) Essa paciente foi estadiada como IIIB e realizou cirurgia seguida de quimioterapia adjuvante permanecendo em remissão por um ano, sendo detectado após este período metástases em sistema nervoso central.

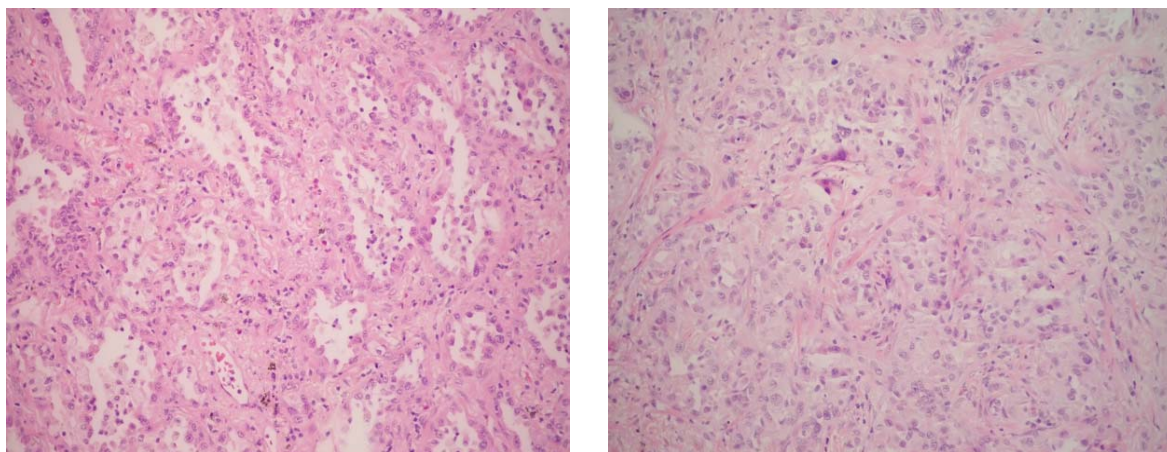


Figura 11 – Histopatológico de lesão pulmonar da paciente Y0012T070. Adenocarcinoma de padrão bronquíolo-alveolar – A vista em aumento intermediário mostra uma proliferação de células colunares atípicas dispostas ao longo das paredes dos alvéolos. (Hematoxilina-eosina 10X)

5.1.2 ^{18}F -FDG PET-CT em Pacientes Portadores de outras Mutações Patogênicas no Gene *TP53*

A paciente Y0079T007 de 62 anos, sem história prévia de neoplasia maligna, apresentou PET-CT com concentração do ^{18}F -FDG na topografia abdominal e pélvica. A imagem correspondeu a massa pélvica com SUV máximo de 5,1 além de carcinomatose peritoneal e múltiplos implantes perialça e perihepáticos (Figura 12).

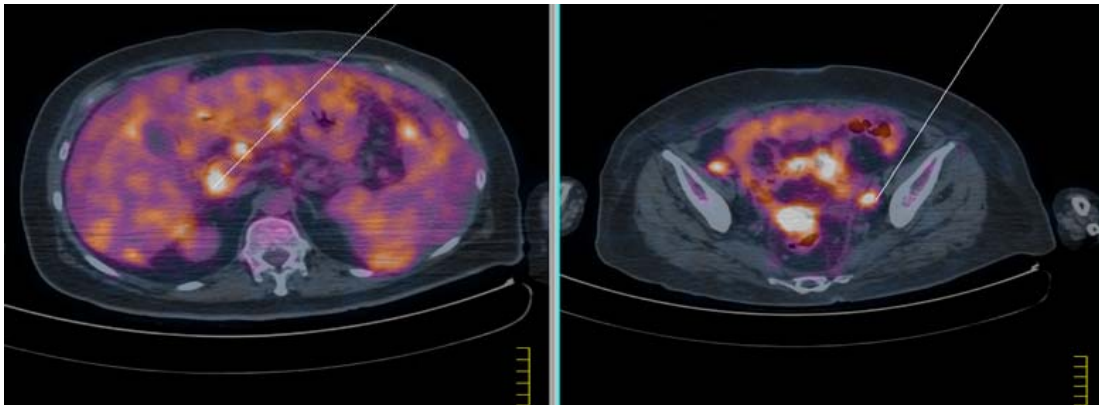


Figura 12 PET-CT paciente Y0079T007. Observa-se a presença de múltiplas áreas de concentração anômala do ^{18}F -FDG na topografia abdominal e pélvica, correspondendo a massa pélvica com SUV de 3,36 a 5,10; a carcinomatose peritoneal com SUV=6,84 e ainda múltiplos implantes perialças e perihepáticos com SUVs de 2,85 até 6,24. As áreas de concentração anômala do ^{18}F -FDG observadas corespondem a sítios de atividade metabólica celular anormal local (lesões em atividade).

O histopatológico de biópsias de implantes peritoneais evidenciou carcinoma pouco diferenciado e o estudo imunoistoquímico foi compatível com origem neoplásica ovariana ou de cavidade celômica. (Figura 13). A paciente terminou os ciclos de quimioterapia paliativa e foi submetida à cirurgia para ressecção de prováveis lesões remanescentes.

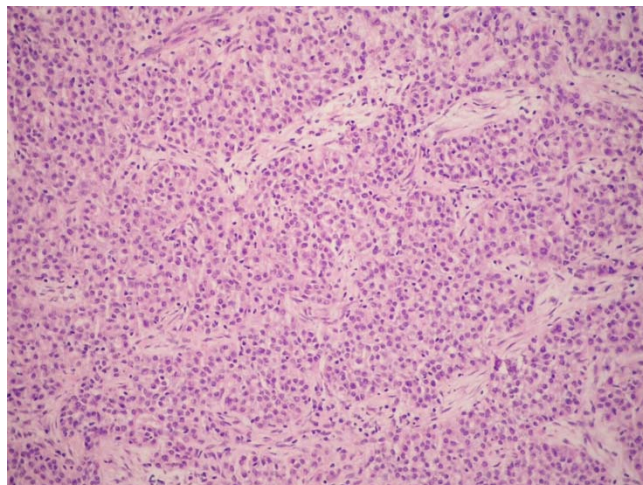


Figura 13 – Histopatológico da paciente Y0079T007. Carcinoma pouco diferenciado – A vista em menor aumento mostra células neoplásicas arranjadas em blocos coesos em meio a intensa desmoplasia do estroma. (Hematoxilina- eosina 4X)

A paciente Y027T006, 40 anos, apresentou história pregressa de carcinoma ductal de mama invasivo aos 38 anos, Estádio IIIB. A paciente havia realizado TC de tórax e cintilografia óssea de corpo inteiro um mês antes da realização do PET-CT solicitados pelo departamento de Oncologia Clínica do Hospital A.C. Camargo, com resultados negativos para metástases. O PET-CT mostrou múltiplas lesões ósseas distribuídas difusamente (predominantemente medulares), com SUV entre 1,49 a 5,80 e também metástases hepáticas (Figura 14). A paciente evoluiu quatro meses após a realização do PET-CT com fratura patológica na coluna cervical em C4 e C6. Oito meses depois da realização do PET-CT foi detectado progressão de doença em meninge e sistema nervoso central. Foi atestado o óbito três meses depois. Essa paciente não foi submetida à biópsia e estudo histopatológico das metástases.

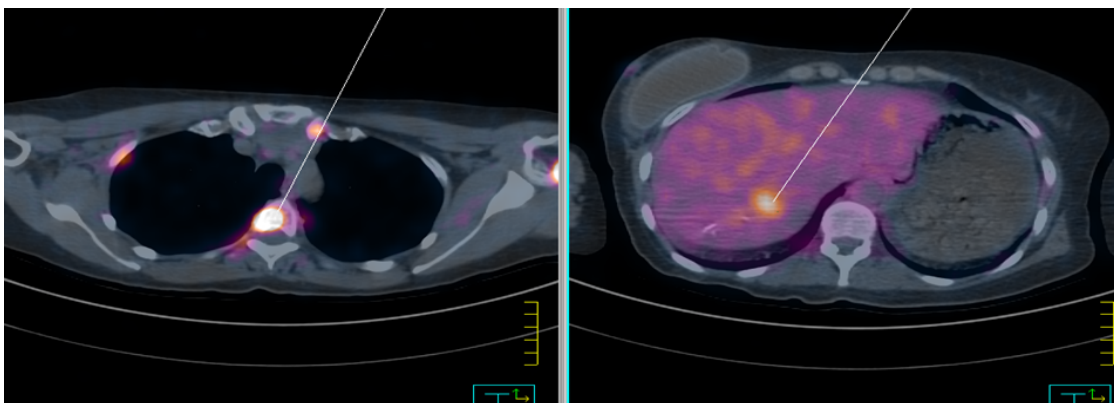


Figura 14 - PET-CT da paciente Y027T006. Observa-se concentração anômala do ^{18}F -FDG na projeção de arcabouço ósseo correspondendo a lesões predominantemente medulares com SUV entre 1,49 e 5,80. Observa-se ainda na projeção abdominal lesões hepáticas com SUV entre 2,13 e 2,32. As áreas de concentração anômala do ^{18}F -FDG observadas correspondem a sítios de atividade metabólica celular anormal local (lesões em atividade).

Foi notável observar que as lesões malignas detectadas neste estudo foram todas em estágio avançado e que três pacientes que tinham realizado PET-CT sem evidência de lesões, quase 24 meses após o primeiro PET-CT desenvolveram câncer: tireóide, próstata e mama. (Y0012T015, Y0012T027 e Y0012T055).

5.2 DETECÇÃO DE LESÕES NÃO NEOPLÁSICAS PELO PET-CT EM PACIENTES COM MUTAÇÃO GERMINATIVA NO GENE *TP53*

A paciente Y0079T005, de 60 anos, sem história prévia de câncer, apresentou concentração de ^{18}F -FDG na raiz do mesentério adjacente à alça intestinal com SUV de 7,09 (Figura 15). A paciente foi submetida a procedimento cirúrgico e o anatomopatológico evidenciou linfonodos com hiperplasia reacional.

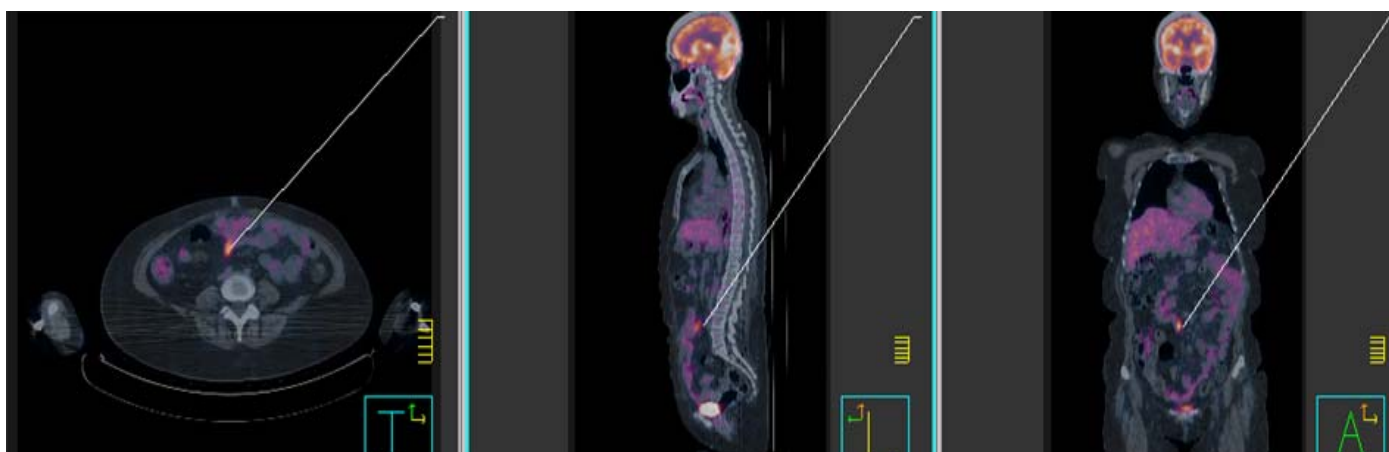


Figura 15 PET-CT da paciente Y0079T005. Observa-se área de concentração anômala do ^{18}F -FDG na região abdominal correspondendo a localização de área nodular adjacente à alça intestinal com SUV máximo de 7,09 e corresponde a sítio de atividade metabólica celular anormal local (lesão em atividade).

O paciente Y0012T012 de 54 anos, do sexo masculino representado no heredograma da família Y0012 na figura 4, tinha passado de carcinoma papilífero de tireóide aos 52 anos. Após realização do PET-CT foi observada área de discreto grau de concentração anômala do ^{18}F -FDG na projeção axilar direita correspondendo a possível linfonodomegalia com SUV entre 1,60 a 2,01 (Figura 16) e o anatomopatológico mostrou hiperplasia reacional linfóide.

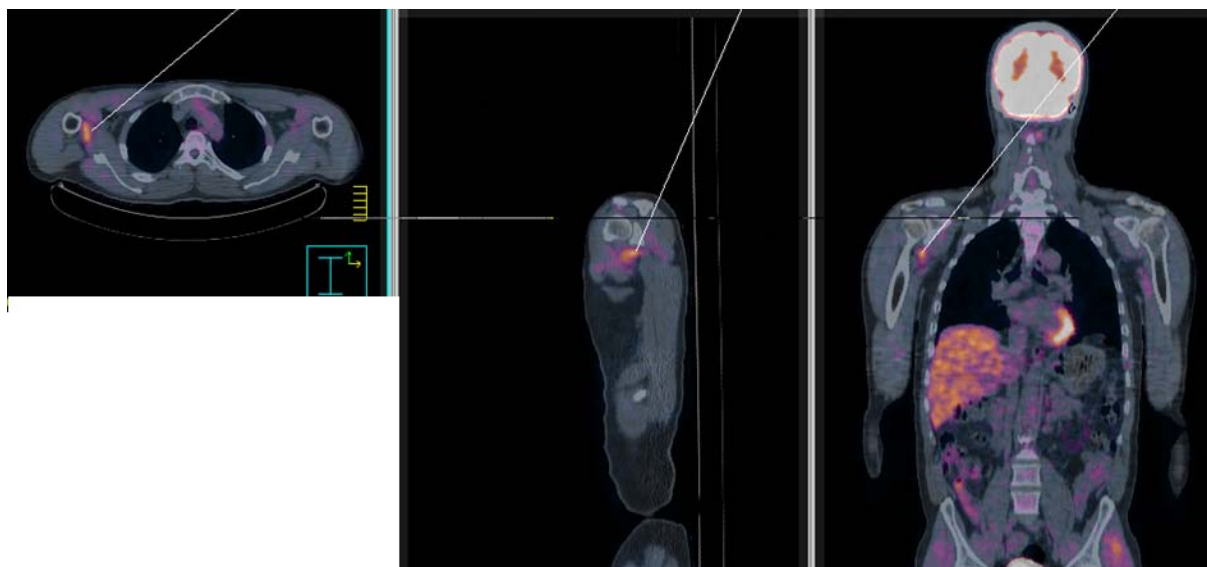


Figura 16 - PET-CT do paciente Y0012T012. Observa-se a presença de área de discreto grau de concentração anômala do ^{18}F -FDG na projeção axilar direita correspondendo a possível linfonodomegalia com SUV entre 1,60 e 2,1.

A terceira paciente de 29 anos Y0012T009 e também representada na figura 4, sem passado de neoplasia, apresentou no PET-CT área de concentração anômala do ^{18}F -FDG na projeção pélvica correspondendo a formação nodular de densidade heterogênea localizada na musculatura elevadora do ânus à esquerda com SUV máximo de 2,02 (Figura 17). Essa paciente foi submetida a ressonância magnética de pelve onde se observou duas pequenas imagens císticas na região vulvar à esquerda medindo 5mm e 4mm compatíveis com cistos de Bartholin. A paciente evoluiu posteriormente com regressão total das lesões e retornou ao rastreamento clínico.

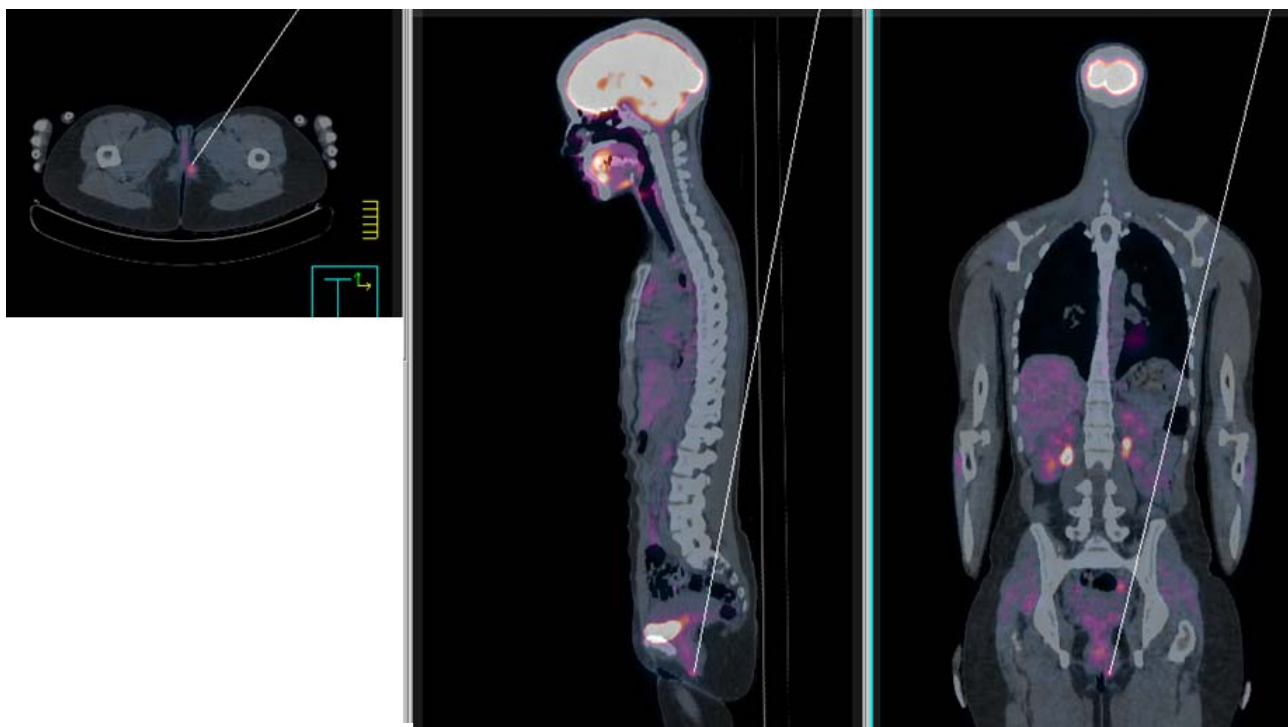


Figura 17 - PET-CT da Y0012T009. Observa-se a presença de área de concentração anômala do ^{18}F -FDG na projeção pélvica correspondendo a formação nodular de densidade heterogênea localizada na musculatura elevadora do ânus à esquerda com SUV máximo de 2,02.

6 DISCUSSÃO

6.1 ¹⁸F-FDG PET-CT NO RASTREAMENTO DE TUMORES EM PACIENTES LFS/LFL

Este estudo foi realizado visando definir se o PET-CT com ¹⁸F-FDG poderia melhorar a efetividade do rastreamento nos pacientes LFS/LFL portadores de mutação germinativa no gene *TP53*.

O rastreamento nos pacientes com mutação germinativa no gene *TP53* é complexo devido à ampla variedade de cânceres relatados em pacientes LFS/LFL. As recomendações do NCCN indicam a realização anual de exame clínico e exames de imagem, com foco para o rastreamento da mama e do cólon. A mamografia anual e a ressonância magnética são exames eficazes no rastreamento de lesões nas mamas. A colonoscopia é um exame que permite a realização da detecção e exérese de lesões adenomatosas que podem ser precursoras de tumores malignos. No entanto, outros exames são necessários para detectar precocemente a variedade de lesões malignas que esses pacientes podem desenvolver ao longo da vida. No presente estudo realizamos o ¹⁸F-FDG-PET-CT para monitorar 30 pacientes provenientes de seis famílias LFS/LFL com mutação germinativa no gene *TP53*, uma vez que no protocolo de rastreamento do NCCN (2009), o PET-CT entra como uma nova tecnologia de exame de imagem que deve ser discutida como uma opção.

Vinte e três pacientes do estudo já haviam sido incluídos previamente na rotina de rastreamento para LFS/LFL, a partir da realização dos exames preconizados

pelo NCCN no Departamento de Oncogenética do Hospital A.C. Camargo. Sete pacientes que receberam o resultado do teste molecular no período de realização deste estudo também foram incluídos e iniciaram o rastreamento ao mesmo tempo da realização do PET-CT proposto. É interessante notar que a maior parte destes pacientes não apresentou nenhuma lesão tumoral desde o início do rastreamento.

Como a LFS/LFL tem uma penetrância de 90% ao longo da vida, análises de taxas cumulativas de ocorrência de câncer em portadores da mutação no gene *TP53* sugerem que nas idades de 20, 30, 40 e 50 anos mulheres portadoras da mutação têm um risco cumulativo de 18%, 49%, 77% e 93% para o desenvolvimento de câncer comparado com o respectivo risco cumulativo de 10%, 21%, 33% e 68% em homens portadores da mutação na mesma idade (HWANG et al. 2003).

O grupo de pacientes LFS incluídos neste estudo é composto de indivíduos com uma idade média de 43 anos e com 90% dos pacientes apresentando a mutação p.R337H onde se observa uma penetrância mais tardia. Esse dado pode ser um dos motivos pelo qual a taxa de diagnóstico de lesões malignas de 10% seja mais baixa do que a taxa de detecção de câncer obtidos por MASCIARI et al. (2008) que foi de 20% com uso de PET-CT.

Observando esses dados detectamos uma divergência com os dados armazenados na database de mutações no gene *TP53* do IARC (2011); (PETITJEAN et al. 2007) que sugere que 1 a 2% dos adultos portadores da mutação desenvolvem câncer por ano de idade. Essa divergência possivelmente pode ser explicada pelo fato da última atualização da database do IARC ter sido em 2007. Isso sugere que lesões malignas em portadores da mutação no gene *TP53* podem ocorrer em uma alta taxa em relação a esperada no banco de dados armazenado no IARC. Outros estudos do

risco de câncer por ano de idade em portadores da mutação no gene *TP53* são necessários para o melhor entendimento.

6.2 PANORAMA DO RASTREAMENTO DA LFS/LFL NO MUNDO

As medidas de rastreamento que temos conhecimento na detecção de tumores nos pacientes com LFS/LFL são as preconizadas pelo NCCN, que se limitam a detecção tumoral com foco no rastreamento de lesões em mama e cólon. Recentemente VILLANI et al. (2011) publicaram um estudo mostrando o rastreamento utilizado por eles no Sick Children Hospital (Toronto) em um período de seis anos com um protocolo intensivo de exames. Esse protocolo incluía além dos exames propostos pelo NCCN, a realização de ressonância magnética de crânio anual, ressonância magnética de corpo inteiro rápida, ultrassonografia total de abdome anual e hemograma a cada seis meses. O protocolo foi aplicado em 18 pacientes entre adultos e crianças com LFS/LFL assintomáticos e detectaram cinco tumores malignos (27%) e cinco lesões de baixo grau ou pré-malignas em um período de seis anos.

MASCIARI et al. (2008) realizaram estudo utilizando o PET-CT como exame de rastreamento em 15 portadores da mutação germinativa no gene *TP53* no período de 2006 a 2007 e detectaram lesões malignas em três pacientes (20%). Esses autores também observaram concentração anômala do ^{18}F -FDG em cinco pacientes nos quais foram encontradas lesões benignas.

Este estudo também conduzido em período de um ano realizou PET-CT em 30 pacientes com a mutação germinativa no gene *TP53* e detectou tumores malignos em três pacientes (10%), além de lesões não neoplásicas também em três pacientes.

É interessante notar que tanto neste estudo com PET-CT quanto no estudo do grupo do Dana-Farber Cancer Institute (MASCIARI et al. 2008), foram detectadas mais lesões malignas nos pacientes LFS/LFL em um período de um ano, comparado ao grupo que utiliza ressonância magnética de corpo inteiro (Protocolo Toronto) como exame de rastreamento em um período de seis anos.

Levantamos a questão do PET-CT ser um exame mais sensível comparado à RM por analisar o metabolismo celular associado à anatomia da lesão, ao passo que a RM não faz a análise metabólica da lesão e isso levaria a realização de mais procedimentos invasivos na avaliação de lesões suspeitas.

6.3 PET-CT EM LFS/LFL: CONTRIBUIÇÃO DESTE ESTUDO

O Departamento de Oncogenética do Hospital A.C. Camargo tem o maior registro do mundo de pacientes em aconselhamento genético com diagnóstico de LFS/LFS, e nossa meta é realizar um rastreamento o mais eficaz possível para detecção precoce de neoplasias na tentativa de evitar que os pacientes se submetam a cirurgias mutilantes, a tratamentos agressivos como quimioterapia e radioterapia, assim como uma neoplasia já metastática inicialmente. Assim, esse estudo avaliou o uso do PET-CT em 30 pacientes portadores de mutação germinativa no gene *TP53*, ou seja, o dobro de pacientes comparado ao grupo estudado por MASCIARI et al. (2008).

Foi também o primeiro estudo que realizou o PET-CT associado aos exames de rastreamento propostos pelo NCCN.

Outra contribuição do estudo foi em avaliar a efetividade do uso do PET-CT em pacientes portadores da mutação p.R337H que é a mutação fundadora brasileira.

6.4 A MUTAÇÃO p.R337H E O DESAFIO DO RASTREAMENTO

A alta taxa de inclusão no estudo de pacientes com a mutação p.R337H deve-se ao fato desta mutação ser freqüente no sul e sudeste do Brasil devido a presença de um efeito fundador na região. Está presente em 0,3% de todos os nascidos (RN) vivos no Estado do Paraná (PIOVEZAN 2006) e a mesma freqüência também foi verificada em Porto Alegre (PALMERO et al. 2008). Esses achados sugerem que a mutação p.R337H pode ocorrer no Sul do Brasil em uma freqüência de 10-20 vezes maior que outras mutações no *TP53* comumente associadas à LFS, ou seja, possivelmente 1:300 indivíduos é portador da mutação p.R337H. Esses dados são preocupantes, pois tornam a LFS um problema de saúde pública uma vez que não sabemos quantas famílias apresentam essa SPHC e não estão incluídas em programas de aconselhamento genético visando um diagnóstico precoce de neoplasias.

Neste estudo, a concentração anômala do ^{18}F -FDG foi verificada em seis de 30 casos com mutação germinativa em *TP53*. Investigações adicionais com exames de imagem e anatomopatológicos confirmaram o diagnóstico de câncer em três casos (10%), enquanto em outros três pacientes (10%) as lesões eram benignas. Surpreendentemente, os três pacientes com lesões malignas encontravam-se em

estádios avançados da doença apesar de todos os três fazerem parte do grupo que já recebia o rastreamento proposto pelo NCCN há mais de 12 meses.

No grupo de pacientes submetidos ao PET-CT, 27 apresentam a mutação p.R337H que é a mutação fundadora brasileira que tem um perfil tumoral diferenciado, pois foram detectados mais casos de câncer renal e de tireóide nos indivíduos pertencentes a essas famílias em relação aos pacientes com a mutação no sítio de ligação ao DNA (ACHATZ 2008). Outro ponto importante é a alta incidência da síndrome no Brasil. Esses pacientes também apresentam uma incidência mais tardia no surgimento de neoplasias provavelmente em decorrência dos polimorfismos que retardam o surgimento de tumores (ACHATZ 2008).

Um estudo realizado pelo nosso grupo comparou a idade de diagnóstico dos cânceres em pacientes com LFS/LFL com a mutação p.R337H, com outro grupo de pacientes portadores de outras mutações germinativas no gene *TP53*.

No grupo de pacientes acima de 60 anos de idade com a mutação p.R337H a detecção de câncer foi em torno de 15,2% comparado a 7,9% no grupo também com idade acima de 60 anos e com outras mutações germinativas no gene *TP53* (HAINAUT et al. 2011). Isso mostra que pacientes com a mutação p.R337H acima dos 60 anos tem um risco maior para o surgimento de neoplasias, necessitando assim de um rastreamento eficaz na tentativa de diagnóstico precoce.

Uma paciente do nosso grupo de pacientes que realizou o PET-CT, teve diagnóstico de um câncer de pulmão aos 67 anos através do PET-CT, e se encontrava assintomática. Essa paciente apresenta a mutação p.R337H. Dois pacientes com as idades de 64 anos e 61 anos também portadores da mutação p.R337H, que haviam

realizado o PET-CT, apresentaram diagnóstico de câncer 24 meses depois da realização do exame (Ca de mama e Ca de próstata).

Esses exemplos reforçam a importância de um rastreamento eficaz nesse grupo de pacientes que além de apresentar um alto risco para o desenvolvimento de câncer, se encontram na faixa etária de maior diagnóstico das neoplasias. Isso reforça a idéia da realização dos exames propostos pelo NCCN associados à realização anual do PET-CT.

Esses resultados demonstram a alta prevalência de câncer em carreadores da mutação no *TP53* aparentemente assintomáticos e em rastreamento pelos métodos estabelecidos pelo NCCN.

6.5 ASPECTOS INOVADORES E DEFICIÊNCIAS NA TENTATIVA DE MELHOR RASTREAMENTO DE PACIENTES LFS/LFL COM PET-CT

O uso do PET-CT em pacientes assintomáticos tem um aspecto inovador por ser utilizado atualmente somente em estudos realizados em grandes centros como, por exemplo, o Japão que é pioneiro no uso do PET-CT para rastreamento de câncer na população geral. Como os pacientes com LFS/LFL têm um alto risco para o desenvolvimento de tumores, o PET-CT entrou como uma ferramenta para melhorar a detecção de tumores em pacientes assintomáticos como é realizado nos estudos japoneses.

É importante comentar que podem existir relativas dificuldades para se diferenciar no PET-CT a atividade metabólica tumoral da atividade inflamatória em

vigência de infecções, devido estas também incorporarem o ^{18}F -FDG. Outra dificuldade ocorre nos tumores de baixo grau onde existe pouca incorporação de glicose e conseqüentemente do ^{18}F -FDG. Essa análise depende muito da experiência da equipe de médicos nucleares. Neste estudo foram detectados lesões não neoplásicas em três pacientes, porém em dois pacientes Y0012T012 e Y0012T007 o PET-CT sugeriu essas lesões não neoplásicas.

No estudo realizado por MASCIARI et al. (2008), foram usados valores de SUV acima de quatro para considerar as lesões como suspeitas para malignidade.

Neste estudo não foi determinado um valor de corte, pois existe uma grande variação nos valores de SUV máximo detectados em lesões malignas dificultando assim um valor de corte que sugira tais lesões. Constatou-se que não obedecem a valores fixos para cada órgão e que lesões de baixo SUV podem corresponder também a lesões malignas (NGUYEN et al. 2011). Neste estudo foi detectada uma neoplasia pulmonar com SUV máximo de 1,7 e linfonodo reacional localizado em abdome com SUV de 7,9.

Um dos maiores desafios que a sociedade vem enfrentando é solucionar a questão sobre a utilização de métodos diagnósticos mais precisos nos cuidados aos pacientes versus os custos associados à incorporação dessas novas tecnologias. Apesar do PET-CT ser um exame de imagem com perspectivas inovadoras, o número de perguntas aumenta no que se refere a custo-efetividade já que o PET-CT é um exame de alto custo e que não existe, no momento, cobertura pelas operadoras de saúde e nem pelo Sistema único de Saúde (SUS) para ser realizado em pacientes assintomáticos e com alto risco para o desenvolvimento de neoplasias como o grupo

de pacientes com LFS/LFL, pois a proposta do estudo é a realização anual de PET-CT.

6.6 IMPORTÂNCIA DO USO DO PET-CT NA PRÁTICA ONCOLÓGICA

Em meados da década de 80, a tomografia por emissão de pósitrons (PET), utilizando-se a fluorodesoxiglicose marcada com flúor-18 (^{18}F -FDG) foi introduzida como método de imagem *in vivo* da atividade metabólica de vários sistemas no corpo humano. Desde então, as informações adquiridas com o método promoveram um inegável avanço principalmente na oncologia.

O ^{18}F -FDG PET auxilia no diagnóstico de neoplasias (diferenciando tumores benignos de malignos), no estadiamento, na avaliação da resposta terapêutica precoce e tardia, na avaliação de recidiva tumoral e no reestadiamento de pacientes oncológicos.

Em 2001, ocorreu um avanço tecnológico na metodologia com a adição da tomografia computadorizada (CT) ao PET, formando os equipamentos híbridos PET/CT. Em 2003 chega ao Brasil equipamentos PET-dedicados e o PET-CT foi paulatinamente incorporado no arsenal diagnóstico. Recentemente, nota-se um avanço crescente no número de equipamentos instalados em instituições públicas e privadas, pois a constatação de seus excelentes resultados em termos de acurácia e efetividade clínicas, permitiu a rápida disseminação do método.

As recomendações quanto ao uso da ^{18}F -FDG PET/CT em oncologia foram estabelecidas mediante uma busca da melhor evidência clínica na literatura médica e

categorizadas como: adequada (classe IA), aceitável (classe IB), auxiliar (classe IIA), ainda desconhecida (classe IIB) e desnecessária ou sem dados suficientes disponíveis (classe III) (GOULD et al. 2003).

Com base nos tumores mais comumente observados nos pacientes LFS/LFL de acordo com o database do IARC (PETITJEAN et al. 2007) Figura 3, correlacionamos as evidências clínicas do uso do PET-CT.

No grupo de pacientes brasileiros com a LFS/LFL, o câncer de mama é o mais prevalente dos tumores nas pacientes LFS/LFL, chegando a uma taxa de quase 26%. Este número é semelhante ao verificado em outros centros do mundo que acompanham pacientes LFS. Dos 30 pacientes submetidos ao PET-CT, oito apresentavam história prévia de câncer sendo seis do sexo feminino. Das pacientes com câncer prévio, cinco haviam apresentado câncer de mama, duas com diagnóstico acima dos 50 anos de idade e três com diagnóstico abaixo dos 45 anos, confirmando que o câncer de mama é o tipo de câncer mais prevalente na população de mulheres com diagnóstico de LFS/LFL.

As aplicações do ^{18}F -FDG PET-CT no câncer de mama, considerando-se o carcinoma ductal incluem: (1) detecção de câncer de mama metastático ou recorrente para aquelas pacientes com suspeita clínica de metástases ou recidiva (Classe IA); (2) reestadiamento em pacientes com recidiva loco-regional ou metástase (Classe IA); (3) avaliação de resposta ao tratamento em paciente com doença localmente avançada ou câncer metastático (Classe IA); (4) acompanhamento pós tratamento (Classe III).

No grupo de pacientes submetidos ao PET-CT foi detectado em uma paciente um câncer de mama metastático principalmente com acometimento ósseo

(intramedular) que foi diagnosticado pelo PET-CT, porém não detectado pela tomografia de tórax e cintilografia óssea de corpo inteiro realizados um mês antes do PET-CT. Isso demonstra uma maior acurácia do PET-CT. Seu uso ajudaria pacientes já acometidas de câncer de mama no rastreamento de metástases e também na detecção de novos tumores primários.

CHEN et al. (2004) realizaram PET-CT em 3631 pacientes assintomáticos da população geral como ferramenta para rastreamento de neoplasias, e detectaram lesões neoplásicas em 28 de 32 exames de PET positivos e desses, seis eram neoplasias de mama. Cinco pacientes com neoplasia de mama foram tratadas apenas com cirurgia e uma paciente tratada com cirurgia e quimioterapia. Esses dados mostram que o PET-CT detectou as lesões em mama em uma fase inicial, poupando as pacientes de outros tipos de tratamento dolorosos como quimioterapia e radioterapia.

Outro estudo também realizado em pacientes assintomáticos da população geral, onde 1197 pacientes realizaram PET e 22 neoplasias primárias foram detectadas sendo o PET positivo em 11 casos e desses, dois eram neoplasias de mama (47 anos e 54 anos de idade) e em estágio inicial (estádio I). Dos 22 casos de neoplasias detectadas, em 11 casos o PET foi negativo e um dos casos era neoplasia de mama (NISHIZAWA et al. 2009). Esse dado reforça a nossa sugestão do PET-CT ser associado aos outros exames de imagem propostos pelo NCCN para rastreamento de pacientes LFS/LFL, pois aumentaria a taxa de detecção de neoplasias em estádios iniciais.

Em câncer de pulmão não pequenas células (CPNPC), que foi o tipo histológico de uma de nossas pacientes (Y0012T070) que teve a lesão detectada pelo

PET-CT, está indicado no estadiamento nodal do CPNPC (Classe IA). A abordagem cirúrgica com intenção curativa se limita essencialmente a pacientes com estádios de I até IIIA, sendo crucial a avaliação linfonodal. Com sensibilidade e especificidade elevadas (em torno de 90%), o PET-CT é atualmente o método de imagem mais acurado para o estadiamento linfonodal e extranodal no CPNPC.

Quando utilizado como exame de rastreamento para neoplasias na população geral, o PET-CT detectou nove neoplasias primárias de pulmão de 28 casos de neoplasias em 3631 pacientes no estudo japonês conduzido por CHEN et al. (2004).

Nos tumores de tireóide que são mais prevalentes na população LFS com a mutação p.R337H, o ^{18}F -FDG PET-CT está indicado como método diagnóstico desde que a curva de tireoglobulina seja ascendente, e a ultrassonografia cervical e TC de tórax estejam também negativos.

Quando aplicado como método de rastreamento na população geral, o PET-CT detectou cinco neoplasias de tireóide em estágio inicial no estudo de CHEN et al. (2004) em uma amostra de 3631 pacientes. MASCIARI et al. (2008) também detectou duas neoplasias de tireóide em estágio inicial utilizando o PET-CT em pacientes com LFS/LFL e assintomáticos.

Em tumores adrenocorticais existem estudos publicados onde o PET-CT auxilia na diferenciação de tumores benignos e malignos (OKADA et al. 2009). Em sarcomas o PET-CT é mais utilizado para avaliar metástases ou diferenciar processos fibróticos ou inflamatórios de neoplasias.

O PET-CT pode auxiliar de formas diferentes no diagnóstico e acompanhamento de tumores distintos, sendo uma opção no grupo de pacientes com LFS que apresenta um amplo espectro tumoral.

Como já mencionado, existem poucos estudos onde o PET-CT é utilizado como método de rastreamento de câncer na população geral e apenas um estudo em pacientes com alto risco para o desenvolvimento de neoplasias como é o caso dos pacientes LFS. Por isso necessitamos de mais estudos que avaliem o uso do PET-CT nesse grupo de pacientes.

6.7 CONTROVÉRSIAS DO USO DO PET-CT NO RASTREAMENTO DE PACIENTES LFS/LFL E PERSPECTIVAS

Uma questão a ser discutida é com relação a necessidade de uma exposição limitada à radiação ionizante em pacientes com mutação germinativa no gene *TP53*.

Na prática comum evita-se o uso de radiação em pacientes com LFS/LFL devido a estudos mostrarem um risco aumentado para o desenvolvimento de novas neoplasias primárias (LIMACHER et al. 2001). Instabilidade genética é uma característica bem estabelecida das células com mutação no gene *TP53* (WAHL et al. 1997). Além da elevada taxa de alterações cromossômicas espontâneas em células com o *TP53* deficiente, há relatos que sugerem que em células com mutações no gene *TP53* irradiadas, há sensibilidade aumentada na indução de aberrações cromossômicas estruturais pela radiação ionizante se examinadas imediatamente após a irradiação (LEE et al. 1994). Deve ser considerado, no entanto, que não há até o momento evidências de que o nível de exposição radioativa através do ^{18}F -FDG-PET-CT possa representar um fator de risco adicional em portadores da mutação germinativa no gene *TP53*.

Para amenizar os questionamentos éticos referentes ao uso do PET-CT, seria interessante avaliar o uso da Tomografia por emissão de pósitrons associada a ressonância magnética (PET-RM) no rastreamento de pacientes com LFS. O PET avalia os aspectos metabólicos da doença enquanto a ressonância magnética fornece informações anatômicas de alta resolução de contraste. É uma evolução do PET/CT, entretanto, existem ainda dificuldades técnicas para a fabricação de um equipamento híbrido PET-RM para uso clínico. O PET-RM tem sido utilizado atualmente em caráter de pesquisa.

Não existem estudos, no momento, do uso do PET-RM na população geral assintomática como método de rastreamento para neoplasias e nem em pacientes com SPHC. O custo de aparelho deve ser ainda maior que o PET-CT. Para seu uso na prática clínica, ainda são necessários estudos clínicos controlados e uma avaliação do custo-benefício desta nova tecnologia híbrido PET-RM para uso clínico.

Neste estudo onde foi avaliado o uso do PET-CT como exame de rastreamento em pacientes com LFS/LFL, observamos que é um exame que oferece um rastreamento mais eficaz no sentido de detecção tumoral em pacientes com LFS/LFL, contribuindo juntamente com o estudo de MASCIARI et al.(2008) para seu uso nesse grupo de pacientes de alto risco para neoplasias.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo sugerem que o ^{18}F -FDG-PET-CT pode ser um exame efetivo para rastreamento de câncer em portadores da mutação germinativa no gene *TP53*. Posteriores estudos são necessários para avaliar as condições do uso do ^{18}F -FDG-PET-CT em estratégias de vigilância nos LFS/LFL.

O PET-CT associado aos exames de rastreamento propostos pelo NCCN foi eficaz na detecção de tumores nos pacientes com LFS, uma vez que em três pacientes as neoplasias foram detectadas apenas através do PET-CT.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Achatz MI. **Diagnóstico molecular da síndrome de Li-Fraumeni em famílias brasileiras.** São Paulo; 2006. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Achatz MI, Olivier M, Le Calvez F, et al. The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. **Cancer Lett** 2007; 245:96-102.

Achatz MI. **Modificadores de penetrância de mutações germinativas no gene TP53 em famílias brasileiras com diagnóstico clínico da síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni like: impacto dos polimorfismos intragênicos do TP53 e de genes que regulam a atividade da p53.** São Paulo; 2008. [Tese de Doutorado-Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo].

[ASHG] American Society of Human Genetics, Statement Ad Hoc Committee on Genetic Counseling. Genetic counseling. **Am J Hum Genet** 1975; 27:240-2.

Benito M, Díaz-Rubio E. Molecular biology in colorectal cancer. **Clin Transl Oncol** 2006; 8:391-8.

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.

Birch JM, Alston RD, McNally RJ, et al. Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations. **Oncogene** 2001; 20:4621-8.

Campeau PM, Foulkes WD, Tischkowitz MD. Hereditary breast cancer: new genetic developments, new therapeutic avenues. **Hum Genet** 2008; 124:31-42.

Carli P, Salvini C. Familial melanoma. **Orphanet Encyclopedia**. April 2004. <URL:<http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-Familial-melanoma.pdf>> [2010 fevereiro].

Chen YK, Ding HJ, Su CT, et al. Application of PET and PET-CT imaging for cancer screening. **Anticancer Res** 2004; 24:4103-8.

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.

Committee to Assess Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation, National Research Council. **Committee on the biological effects of ionizing radiation BEIR VII: phase 2**. 2006. Available from: <URL:<http://www.nap.edu/catalog/11340.html>> [2010 março].

Crawford LV, Pim DC, Gurney EG, Goodfellow P, Taylor-Papadimitriou J. Detection of a common feature in several human tumor cell lines—a 53,000-dalton protein. **Proc Natl Acad Sci U S A** 1981; 78:41-5.

De la Chapelle A. The incidence of Lynch syndrome. **Fam Cancer** 2005; 4:233-7.

DiGiammarino EL, Lee AS, Cadwell C, et al. A novel mechanism of tumorigenesis involving pH-dependent destabilization of a mutant p53 tetramer. **Nat Struct Biol**. 2002; 9:12-6.

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

Frebourg T, Abel A, Bonaiti-Pellie C, et al. Li-Fraumeni syndrome: update, new data and guidelines for clinical management. **Bull Cancer** 2001; 88:581-7.

Garber JE, Offit K. Hereditary cancer predisposition syndromes. **J Clin Oncol** 2005; 23:276-92.

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.

Gould MK, Kuschner WG, Rydzak CE, et al. Test performance of positron emission tomography and computed tomography for mediastinal staging in patients with non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. **Ann Intern Med** 2003; 139:879-92.

Hainaut H, Nogueira S, Nobrega A, Hainaut P, Achatz MI. Distinct tumor spectrum and age of onset in a Brazilian cohort of p.R337H TP53 mutation carriers. In: **Proceedings of the American Association for Cancer Research (AACR)**. 2011 Abril 3-6. Orlando, USA.

Hainaut P. The tumor suppressor protein p53: a receptor to genotoxic stress that controls cell growth and survival. **Curr Opin Oncol** 1995; 7:76-82.

Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, et al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. **Nature** 1998; 391:184-7.

Hisada M, Garber JE, Fung CY, Fraumeni JF Jr, Li FP. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. **J Natl Cancer Inst** 1998; 90:606-11.

Hwang SJ, Lozano G, Amos CI, Strong LC. Germline p53 mutations in a cohort with childhood sarcoma: sex differences in cancer risk. **Am J Hum Genet** 2003; 72:975-83.

[IARC] International Agency for the Research on Cancer. **TP53 Database R15**. Available from: <URL:<http://www-p53.iarc.fr/Germline.htm>> [2011 maio 12]

[IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **População: censos demográficos**. Available from: <URL:http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/default_censo_2007.shtm> [2011 maio 12].

Juweid ME, Cheson BD. Current concepts: positron-emission tomography and assessment of cancer therapy. **New Engl J Med** 2006; 354:496-50.

Katballe N, Christensen M, Wikman FP, Orntoft TF, Laurberg S. Frequency of hereditary non-polyposis colorectal cancer in Danish colorectal cancer patients. **Gut** 2002; 50:43-51.

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

Lee JM, Abrahamson JL, Kandel R, Donehower LA, Bernstein A. Susceptibility to radiation-carcinogenesis and accumulation of chromosomal breakage in p53deficient mice. **Oncogene** 1994; 9:3731-6.

Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. **Nature** 1991; 351:453-6.

Limacher JM, Frebourg T, Natarajan-Ame S, Bergerat JP. Two metachronous tumors in the radiotherapy fields of a patient with Li-Fraumeni syndrome. **Int J Cancer** 2001; 96:238-42.

Lindor NM, McMaster ML, Lindor CJ, Greene MH. Concise handbook of familial cancer susceptibility syndromes second edition. **J Natl Cancer Inst Monographs** 2008; (38):1-93.

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

Masciari S, Van den Abbeele AD, Diller LR, et al. F18-fluorodeoxyglucosepositron emission tomography/computed tomography screening in Li-Fraumeni syndrome. **JAMA** 2008; 299:1315-9.

Minamimoto R, Senda M, Uno K, et al. Performance profile of FDG-PET for cancer screening on the basis of a Japanese National Survey. **Ann Nucl Med** 2007; 21:481-98.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa/2010 incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA; 2009.

Nabi HA, Zubeldia JM. Clinical applications of ^{18}F -FDG in oncology. **J Nucl Med Technol** 2002; 30:3-9.

[NCCN] National Comprehensive Cancer Network **Genetic familial high risk assessment: breast and ovarian**. Available from: <URL:http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/genetics_screening.pdf>. [2009 maio 12]

Nelen MR, Kremer H, Konings IB, et al. Novel PTEN mutations in patients with Cowden disease: absence of clear genotype-phenotype correlations. **Eur J Hum Genet** 1999; 7:267-73.

Nguyen NC, Kaushik A, Wolverson MK, Osman MM. Is there a common SUV threshold in oncological FDG PET-CT, at least for some common indications? A retrospective study. **Acta Oncol** 2011; 50:670-7.

Nishizawa S, Kojima S, Teramukai S, et al. Prospective Evaluation of whole-body cancer screening with multiple modalities including [^{18}F] Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography in a healthy population: a preliminary report. **J Clin Oncol** 2009; 27:1767-73.

Okada M, Shimono T, Komeya Y, et al. Adrenal masses: the value of additional fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography (FDG-PET/CT) in differentiating between benign and malignant lesions. **Ann Nucl Med** 2009; 23:349-54.

Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. **Cold Spring Harb Perspect Biol** 2010; 2:a001008.

Palmero EI, Schüler-Faccini L, Caleffi M, et al. Detection of R337H, a germline TP53 mutation predisposing to multiple cancers, in asymptomatic women participating in a breast cancer screening program in Southern Brazil. **Cancer Lett** 2008; 261:21-5.

Petitjean A, Mathe E, Kato S, et al. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. **Hum Mutat** 2007; 28:622-9.

Piovezan GC. **Prevalência do alelo TP53 R337H no Estado do Paraná**. Curitiba; 2006. [Dissertação de Mestrado-Universidade Federal do Paraná].

Pho L, Grossman D, Leachman SA. Melanoma genetics: a review of genetic factors and clinical phenotypes in familial melanoma. **Curr Opin Oncol** 2006; 18:173-9.

Ribeiro RC, Sandrini F, Figueiredo B, et al. An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2001; 98:9330-5.

Schoder H, Gonen M. Screening for cancer with PET and PET-CT: potential and limitations. **J Nucl Med** 2007; 48:4S-18S.

Sidransky D, Tokino T, Helzlsouer K, et al. Inherited *p53* gene mutations in breast cancer. **Cancer Res** 1992; 52:2984-6.

Sifri R, Gangadharappa S, Acheson LS. Identifying and testing for hereditary susceptibility to common cancers. **CA Cancer J Clin** 2004; 54:309-26.

Strong LC. General keynote: hereditary cancer: lessons from Li-Fraumeni syndrome. **Gynecol Oncol** 2003; 88:S4-7; discussion S11-3.

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.

Varley JM. Germline TP53 mutations and Li-Fraumeni syndrome. **Hum Mutat** 2003; 21:313-20. Review. Erratum in: **Hum Mutat** 2003; 21:551.

Villani A, Tambori U, Schiffman J, et al. Biochemical and imaging surveillance among germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome. **Lancet Oncol** 2011; 12:559-67.

Wahl GM, Linke SP, Paulson TG, Huang LC. Maintaining genetic stability through TP53 mediated checkpoint control. **Cancer Surv** 1997; 29:183-219.

Wang Y, Helland A, Holm R, et al. TP53 mutations in early-stage ovarian carcinoma, relation to long-term survival. **Br J Cancer** 2004; 90:678-85.

Whittemore AS, Gong G, John EM, et al. Prevalence of BRCA1 mutation carriers among U.S. non-Hispanic Whites. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2004; 13:2078-83.

ANEXOS

Anexo 1 - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

(Em conformidade com o estabelecido pela Resolução CNS nº 196/96 e Resolução CNS nº 251/97 do Ministério da Saúde) Termo solicitado para participação somente neste estudo sem extensão desta autorização aos outros estudos.

PROJETO: “Avaliação da detecção precoce das neoplasias em pacientes portadores da síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni *like* com o uso de PET-CT com ¹⁸F-FDG.”

I. IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE OU RESPONSÁVEL LEGAL

Nome: _____
Sexo: () M () F
Data de nascimento: _____
Documento de identidade: _____
Endereço: _____
Cidade: _____ Estado: _____
CEP: _____ Tel: _____
Responsável: _____
Sexo () M () F
Documento de Identidade: _____
Data de Nascimento: _____

II. OBJETIVOS DO ESTUDO

Você foi convidado a participar deste estudo por ter uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer, a síndrome de Li-Fraumeni/ Li-Fraumeni *like*, que aumenta o seu risco para o surgimento de neoplasias. O senhor (a) realizará um exame de imagem chamado PET-CT que é uma cintilografia de corpo inteiro com uso de ¹⁸F-FDG (radiofármaco). O objetivo deste estudo é avaliar o uso do PET-CT como um método de detecção precoce de tumores.

III. PROCEDIMENTOS

Após assinatura e concordância com o termo de consentimento o senhor (a) realizará uma cintilografia de corpo inteiro com ¹⁸F-FDG (PET-CT) anual e para isso receberá uma aplicação de ¹⁸F-FDG na veia. É necessário fazer o exame em jejum de 6 horas. A injeção venosa de ¹⁸F-FDG será realizada após 30 minutos de repouso. As doses serão recebidas sob forma de doação pelo IPEN-SP (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares) e a sua administração está condicionada ao recebimento do material e a aprovação do controle de qualidade realizado pelo IPEN-SP que garante a segurança de uso. O exame será realizado apenas em indivíduos maiores de 18 anos e em mulheres que não estejam grávidas.

IV – BENEFÍCIOS

A sua participação neste projeto visa encontrar tumores precocemente e definir qual é a melhor estratégia de detecção de tumores em pacientes portadores da Síndrome de Li-Fraumeni/Li-Fraumeni *like*, permitindo que os pacientes venham futuramente a se beneficiar com esta nova metodologia. Os outros exames indicados para portadores desta síndrome, tais

como mamografia e colonoscopia, continuarão a ser realizados de acordo com o sugerido na literatura mundial. Caso seja detectada alguma alteração no exame de PET-CT o senhor (a) realizará outros exames complementares para melhor avaliação e posterior conduta mediante os resultados.

V – RISCOS

Dor discreta no local da punção.

VI - CONFIDENCIALIDADE:

A confidencialidade das suas informações será mantida. Apenas as pessoas envolvidas diretamente nesse estudo poderão verificar as informações se necessário. Seu nome e informações pessoais não serão incluídos em nenhum outro estudo de pesquisa.

A sua participação neste estudo é voluntária, tendo o direito de retirar-se do estudo a qualquer momento. Sua recusa ou desistência não irá prejudicar o tratamento.

A sua identidade será preservada, sendo que somente os membros da equipe médica e da Comissão de Ética terão acesso aos registros.

Qualquer dúvida sobre o estudo, você poderá entrar em contato com a Dra. Sônia Nogueira (tel. 8086-9327). Se o pesquisador não fornecer as informações/esclarecimentos suficientes, por favor, entre em contato com o Coordenador do Comitê de Ética do Hospital do Câncer – SP, pelo telefone 2189-5020.

VII - CONSENTIMENTO LIVRE E PÓS-INFORMADO

Declaro que fui esclarecido: sobre os procedimentos, riscos e benefícios deste estudo; que tenho liberdade em retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto traga prejuízo à continuidade do meu tratamento; que não haverá remuneração financeira para este estudo; a minha identidade será preservada, mantendo-se todas as informações em caráter confidencial. Concordo em participar deste estudo.

NOME DO PACIENTE: _____

RGH: _____ CPF: _____

São Paulo, ____ de _____ de ____.

Assinatura do paciente ou responsável/representante legal

DECLARAÇÃO DO MÉDICO OBTENDO O TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

Declaro que expliquei este procedimento, com todos os detalhes necessários para o(a) paciente (ou seu responsável legal) _____

No meu julgamento o paciente teve acesso e compreensão sobre todas as informações disponíveis, incluindo-se os riscos e benefícios para que se possa fazer uma decisão informada.

Assinatura do pesquisador Responsável

Assinatura do pesquisador que aplicou o TCLE

Anexo 2 – Carta de Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa (CEP)



Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP

São Paulo, 30 de Novembro de 2009.

À

Dra. Maria Isabel Alves de Souza Waddington Achatz

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1330/09

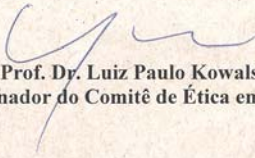
“Avaliação da detecção precoce das neoplasias em pacientes portadores da síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni *like* com o uso de PET-CT com ¹⁸F-FDG”.

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 24/11/2009, após analisarem as respostas aos questionamentos realizados em reunião de 20/10/2009, **aprovaram** a realização do projeto em referência datado de 09 de novembro de 2009, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tomaram conhecimento dos seguintes documentos:

- Folha de Rosto para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos;
- Termo de Compromisso do Pesquisador com as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde;
- Declaração sobre o plano de Recrutamento dos Sujeitos de Pesquisa, Circunstâncias e Responsáveis pela obtenção do TCLE;
- Declaração sobre os Dados Coletados, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Declaração de Infra Estrutura e Instalações do Departamento de Imagem;
- Declaração de Infra Estrutura e Instalações do Departamento de Oncogenética;
- Orçamento Financeiro Detalhado;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Oncogenética;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Imagem.

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas à assistente do CEP dentro de 06 meses.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO

Projeto: 1330/09

Título: "Avaliação da detecção precoce das neoplasias em pacientes portadores da síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni *like* com o uso de PET-CT com ^{18}F -FDG"

Pesquisador Responsável: Dra. Maria Isabel Alves de Souza Waddington Achatz

Co-Pesquisador: Dr. Eduardo Nóbrega Pereira Lima

Aluna: Sônia Tereza dos Santos Nogueira (mestrado)

Patrocinador: não há

Comentários gerais:

O projeto é interessante e envolve tema pouco abordado na literatura nacional, de interesse crescente pela incidência alta da síndrome em famílias brasileiras. O departamento de Oncogenética detém a maior casuística mundial de pacientes com a síndrome em acompanhamento clínico (estratégias de rastreamento e aconselhamento genético).

Pendências apontadas em parecer anterior:

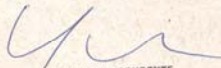
1. Como o cronograma prevê prazo de 1 ano para coleta de dados do estudo, seria interessante alinhar com o objetivo;
2. Verificar a contribuição adicional do exame na determinação da prevalência de neoplasias no primeiro exame ou na detecção precoce de novos tumores (incidência) através de exames seriados;
3. Não fica claro no estudo e no TCLE como serão conduzidas as investigações dos achados do exame de PET-CT e se esses resultados poderão gerar testes ou intervenções adicionais aos pacientes.

Comentários Finais:

Após análise das respostas aos questionamentos apontados em parecer anterior, consideramos que todas as pendências foram atendidas. Portanto, decidimos pela aprovação final do projeto em referência.

Parecer Final:

Projeto Aprovado.


FUNDAÇÃO ANTONIO PRUDENTE
Hospital do Câncer A. C. Camargo
Comitê de Ética em Pesquisa
Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski
Presidente

Anexo 3 - Certificado de apresentação do projeto na categoria tema livre na Jornada Paulista de Radiologia (JPR) 2010



Certificado TI. 1106

Certificamos que

NOGUEIRA S.T.S.; ACHATZ M.L.W.; LIMA E.N.P.; NOBREGA A.F.; CAVICCHIOLI M.; TORRES I.G.M.

constam como autores do Tema Livre "PET-CT / 18F-FDG COMO FERRAMENTA DE DETECÇÃO PRECOCE DE NEOPLASIAS NOS PACIENTES PORTADORES DA SÍNDROME DE LI - FRAUMENI : ESTUDO PILOTO", apresentado durante a 40ª JORNADA PAULISTA DE RADIOLOGIA – JPR'2010 / I CONGRESSO BRASIL-ITÁLIA DE RADIOLOGIA, realizada de 29 de Abril a 02 de Maio de 2010, no Transamerica Expo Center, em São Paulo – SP.

São Paulo, 02 de Maio de 2010.

Dr. Tufik Bauab Jr.
Presidente

Dr. Marcos Roberto de Menezes
Secretaria Geral



Apoia
SIEMENS

Av. Paulista, 491 - Conj. 41/42 - CEP 01311-000 - São Paulo - SP
Fone: (11) 3284-3988 - Fax (11) 3284-3152 - www.spr.org.br

Anexo 4 - Carta recebida por e-mail comunicando prêmio a ser receber no RSNA 2010

Dear Sonia T. Nogueira MD:

Congratulations! I am pleased to inform you that you have been chosen by the RSNA Scientific Program Committee to receive an RSNA Travel Award for the paper entitled, "**18F-FDG PET-CT for Early Detection of Malignancies in Patients with Li-Fraumeni Syndrome**". This award category is new in 2010. Each year the RSNA highlights an international region to present a scientific session featuring the latest in radiology research. This year China and Latin America are being presented in 2010. The award is based off the highest grades received from all abstracts submitted from the regions being highlighted during the RSNA Annual Meeting.

The date, time and location of your presentation were included in the acceptance notice recently e-mailed to you. At the time of your presentation, you will receive a check for \$1000 payable to you.

Prizewinners are encouraged to submit a manuscript for consideration for publication in Radiology, RadioGraphics, or Medical Physics. The award winner must be the first, senior or sole author. Manuscripts must conform to the Guidelines for Authors of the respective journals. The manuscripts will undergo the same peer view process as all other manuscripts; preferential treatment will not be given to award winners.

Enclosed is an IRS W-8 form. Tax regulations require that this be on file for any individual to whom we pay more than \$500.00. Please return this form by October 1 to:

RSNA Program Services
Attn: Lauren Wojcik
820 Jorie Blvd
Oak Brook, IL 60523
or
fax to 630-590-7705

RSNA will be publicizing the award winners at the meeting. We are asking each winner to supply us with a high resolution digital photograph (passport type) of at least 300dpi to accompany the display at the booth. Your picture, name, title, and presentation time will be displayed. If you do not send a photograph, only your text copy will be shown. We need your photograph no later than October 1. Please e-mail your picture to lwojcik@rsna.org.

If you have any questions, please do not hesitate to call the Society office at 1-877-776-2227 (within the US) or 1-630-590-7774.

Again, congratulations!

Sincerely,

George S. Bisset III, MD
Chair, 2010 RSNA Board of Directors

Anexo 5 – Certificado de apresentação oral no RSNA



820 Jorie Blvd
Oak Brook, IL 60523
TEL 1-630-571-2670
FAX 1-630-571-7837
RSNA.org

December 1, 2010

To Whom It May Concern:

The individual named below presented the following work(s) at the RSNA 96th Scientific Assembly and Annual Meeting, November 28 - December 3, 2010, McCormick Place, Chicago, IL:

Name of Individual: Sonia Tereza Dos Santos Nogueira, MD

Title: 18F-FDG PET-CT for Early Detection of Malignancies in Patients with Li-Fraumeni Syndrome

Public ID No: SSk13-04

Date: Wednesday 12/1/2010 11:00-11:10 AM

For additional information, please see the online version of the official program on RSNA Link, www.rsna.org. Final updates resulting from changes occurring during the Annual Meeting are available online.

Please contact the RSNA Program Services Department at (877) 776-2227 within the US, or 630-590-7774 outside of the US, or email programs@rsna.org for further assistance.

Sincerely,

Hedvig Hricak, MD PhD, Dr (hc)

Hedvig Hricak, MD PhD, Dr (hc)
2010 RSNA President

APÊNDICES

Apêndice 1 - Capítulo do Manual de condutas diagnósticas e terapêuticas em oncologia do Hospital A.C. Camargo quarta edição a ser publicado. Tema Oncogenética

ONCOGENÉTICA – AVALIAÇÃO DAS SÍNDROMES DE PREDISPOSIÇÃO HEREDITÁRIA AO CÂNCER

Maria Isabel W. Achatz, Sonia Tereza Nogueira, Maria Nirvana DA Cruz Formiga

Atualmente o câncer é reconhecido como uma doença genética. Pode ser originado a partir do acúmulo de mutações no núcleo da célula, provenientes de erros na replicação celular ou mesmo danos pela ação de agentes químicos e radiação, que levam a reprodução celular desordenada. Cerca de 5 a 10% dos tumores apresentam agrupamento familiar importante que sugerem uma predisposição hereditária ao câncer.¹ No Brasil, as estimativas para 2010, também válidas para 2011, apontam que ocorrerão 489.270 casos novos de câncer. Assim, pode-se estimar que entre 25 e 50 mil casos novos de tumores de provável origem hereditária ocorram no país em 2011.

A ocorrência de agrupamentos familiares de tumores levou à identificação clínica de síndromes genéticas ligadas ao câncer (Quadro 1). Nesses casos, o atendimento oncogenético identifica as famílias que apresentam alto risco para o desenvolvimento de neoplasias. A partir da avaliação clínica detalhada dos casos de câncer ocorridos nas famílias, é possível diagnosticar as síndromes genéticas ligadas ao câncer e fornecer o aconselhamento genético a essas famílias, a fim de serem determinados os riscos, os prognósticos e as possibilidades de manejo e acompanhamento da doença.

Quadro1 - Síndromes de predisposição hereditária ao câncer.

Síndrome	Neoplasias associadas	Gene	Posição	Incidência	Referência
Câncer de Mama e ovário Hereditários	Mama, ovário, próstata	<i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i>	17q21 13q12-13	<1/400	Whittemore et al. 2004
Li Fraumeni	SPM, SO, mama, SNC, ADR, CCR	<i>TP53</i>	17q13	<1/5.000-10.000	Laloo et al. 2003 Sidransky et al. 1992
Câncer colorretal hereditário não-polipose (HNPCC)ou Lynch	CCR, endométrio, estômago, delgado, ovário, vias urinárias, mama	<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i>	3p21.3, 2p22- p21, 2p16, 7p22	<1/300-3.000	Katballe et al. 2002; De La Chapelle 2005.
Polipose Adenomatosa Familiar (FAP)	CCR, tumor desmoide, tireóide	<i>APC</i>	5q21-q22	<1/10.000-30.000	Sifri et al. 2004; Benito e Díaz-Rubio 2006
Cowden	Mama, tireóide, endométrio, renal	<i>PTEN</i>	10q23.3.	<1/200.000	Nelen et al. 1999
Peutz - Jeghers	Gastro-intestinais	<i>STK11</i>	19p13.3	<1/280.000	Hemminki et al. 1998
Câncer Gástrico Familiar	Estômago, lobular de mama	<i>CDH1</i>	16q22.1	1/10.000	Campeau et al. 2008
Melanoma Familiar	Melanoma, pâncreas	<i>CDKN2A</i>	9p21	1,5/100.000	Carli e Salvini 2004; Pho et al. 2006
Neoplasia Endócrina Múltipla Tipo 2	Carcinoma medular de tireóide, feocromocitoma	<i>RET</i>	10q11.2	1/30.000	Lindor et al. 2008
Doença de Von Hippel-Lindau	Renal, SNC	<i>VHL</i>	3p25-26	1/40.000	Lindor et al. 2008
Retinoblastoma Hereditário	Retinoblastoma, SO	<i>RB</i>	13q14	1/13.500	Lindor et al. 2008

Legenda: SPM: Sarcoma de Partes Moles; SO: Sarcoma Ósseo; ADR: Carcinoma adrenocortical; CCR: carcinoma colorretal; SNC: Câncer do sistema nervoso central. **Fonte:** ACHATZ (2008).

Hoje é possível definir um grupo expressivo de síndromes de predisposição hereditária ao câncer, que têm fatores etiológicos e critérios diagnósticos bem definidos. Outras vezes, podem ser reconhecidos agrupamentos familiares não tão específicos, verificando-se agregação familiar para alguns tipos de tumores em que concorrem componentes ambientais e genéticos na sua etiologia. Assim, múltiplos determinantes genéticos podem incluir susceptibilidades familiares aumentadas a danos causados ao DNA

pelos agentes ambientais ou reparos defeituosos a essas lesões. Nestas famílias supõe-se uma etiologia poligênica ou multifatorial aos tumores e a elas podem estar relacionados polimorfismos em genes modificadores de risco ou mutações de baixa penetrância em genes de predisposição ao câncer ².

6 MODELOS DE HERANÇA

Sabe-se que na imensa maioria dos distúrbios em que existe um componente genético envolvido na sua patogênese, ocorre uma associação causal entre fatores ambientais e genéticos, embora o peso relativo destes fatores possa variar de um extremo ao outro. Desta maneira, pode-se classificá-los em distúrbios cromossômicos, monogênicos ou multifatoriais.⁴ As alterações cromossômicas são causadas por erros mais grosseiros que afetam a totalidade ou parte de um cromossomo. As alterações monogênicas, por outro lado, são causadas por alterações em genes específicos, podendo-se estudar de maneira mais acurada o tipo do erro causal e como ele segrega nas famílias. A segregação dos erros monogênicos nas várias gerações sucessivas apresenta padrões típicos, que são denominados padrões de herança monogênica ou padrões de herança mendeliana, visto que foi Gregor Mendel o responsável por sua fundamentação ⁵. As alterações multifatoriais parecem ser causadas por uma combinação de variações em genes que conjuntamente com fatores ambientais produzem ou predisõem a defeitos e, embora exista uma tendência familiar de recorrência, não é possível estabelecer padrões característicos de herança ⁴.

Os padrões de herança monogênica são definidos pela combinação de dois modos de classificação: de acordo com a localização nos cromossomos, como autossomos, quando ocorrem nos cromossomos de 1 a 22, como sexuais, quando ocorrem nos cromossomos X ou Y ou de acordo com sua expressão, como dominantes ou recessivos. Os padrões de herança dominantes, expressos quando somente um cromossomo de um par porta o alelo mutante, ou recessivos, expressos somente quando ambos os cromossomos de um par portam o alelo mutante ⁴.

Na herança autossômica dominante, o fenótipo aparece em todas as gerações, sendo que os afetados podem ter pais afetados e qualquer filho de um genitor afetado tem um risco de 50% de herdar a característica. Além disso, membros normais geralmente não transmitem o fenótipo e, desta forma, homens e mulheres têm a mesma probabilidade de transmissão para seus descendentes. Exceções a essas regras incluem casos de mutação nova, casos de não penetrância, penetrância incompleta ou expressividade variável ⁴.

Na herança autossômica recessiva, observam-se poucos casos de afetados na família, usualmente entre a irmandade do probando e não entre seus progenitores ou descendentes. Existe uma maior frequência de consangüinidade entre os progenitores, especialmente quando se trata de alelos raros na população. Nas heranças ligadas aos cromossomos sexuais, estuda-se principalmente aqueles causados por caracteres determinados por genes no cromossomo X, cromossomo este que está sujeito à inativação nas mulheres. Nas heranças recessivas ligadas ao X, o padrão é expresso em termos fenotípicos em todos os homens, mas ocorre apenas nas mulheres que são homocigotas para a mutação. Nas heranças dominantes, os homens afetados não têm filhos afetados, nem filhas normais ⁴.

7 AVALIAÇÃO ONCOGENÉTICA

Os tumores de origem hereditária frequentemente estão reagrupados em famílias que apresentam múltiplos casos de câncer em idades atípicas. A ocorrência de tumores em idade jovem, multifocalidade ou bilateralidade (como no caso dos tumores de mama ou tumores renais) e a presença de múltiplos tumores primários em um mesmo indivíduo também são indicativos de hereditariedade. Alguns tipos histológicos específicos também chamam atenção para hereditariedade como os tumores de mama que apresentam um painel imunohistoquímico de receptores hormonais negativos, incluindo estrógeno e progesterona, além de *erb-B2*, estão relacionados em 11,3% dos casos a mutações germinativas no gene *BRCA1* ⁶. Outro exemplo é o carcinoma medular de tireóide multifocal ou bilateral que está frequentemente relacionado a mutações germinativas no proto-oncogene *RET* e devem ser avaliadas ⁷.

É de grande importância o reconhecimento de famílias com agregação de tumores. Frente a tumores com estas características ou frente a agrupamentos familiares os pacientes deverão submeter-se a consulta oncogenética. No quadro abaixo, encontram-se alguns motivos pelos quais o paciente deve ser encaminhado a uma avaliação oncogenética.

– Quando encaminhar para o oncogeneticista por suspeita de câncer hereditário?

- | | |
|----|---|
| 1) | Agregação familiar de câncer |
| 2) | Paciente com câncer em idade mais precoce que o usual |
| 3) | Paciente com tumores múltiplos ou bilaterais |
| 4) | Tipos histológicos específicos |

A consulta oncogenética inicia-se a partir de uma anamnese detalhada, que é realizada buscando informações sobre antecedentes pessoais, incluindo doenças prévias,

internações ou cirurgias realizadas. É importante questionar o paciente sobre a ocorrência de lesões benignas, tais como pólipos, cistos ou nódulos, que podem trazer informações importantes no momento do diagnóstico. Todos os pacientes devem ser interrogados quanto a origem étnica, devido a ocorrência de mutações mais prevalentes em certas populações. Este é o caso da população dos Judeus Ashkenazi, que apresentam em 2% de sua população três diferentes mutações nos genes *BRCA1* - 185delAG - 5382insC e *BRCA2* - 6174delT⁸. O mesmo ocorre nas síndromes do câncer colorretal hereditário, sendo encontrado um maior número de mutações 1906C>G no gene *MSH2*⁹. Apesar de não ser bem estabelecida a relação entre exposição ambiental e câncer, todos os pacientes são questionados sobre o contato com radiação em altas doses, pesticidas ou venenos.

Os pacientes que comparecem à primeira consulta devem ser submetidos ao exame físico, com foco na detecção de dismorfias que possam estar relacionadas às síndromes genéticas ligadas ao câncer, como o *habitus marfanóide* verificado em alguns pacientes portadores da síndrome da neoplasia endócrina múltipla 2B (MEN2B)¹⁰.

A história familiar será o ponto central da consulta de oncogenética. Neste momento serão avaliados todos os tipos de tumores ocorridos nas famílias que buscam o aconselhamento. Frente às informações fornecidas, o heredograma (pedigree) da família será construído, contendo as informações sobre todos os membros da família no maior número de gerações possível. O heredograma auxilia a visualização da ocorrência e a idade de diagnóstico dos casos de câncer na família. Todos os tumores referidos, benignos ou malignos, deverão ser comprovados a partir de laudos histopatológicos, relatório médico ou atestado de óbito, para possibilitar um diagnóstico mais acurado. Todas as informações são confidenciais e ficam guardadas em arquivos separados devido a questões éticas¹¹. Em estudo recente realizado no departamento de Oncogenética do Hospital do Câncer, envolvendo 45 famílias com o diagnóstico clínico da síndrome de Li-Fraumeni e que foram submetidas ao teste molecular, 48,3% dos tumores relatados foram comprovados com dados histopatológicos, relatório médico ou atestado de óbito¹².

A maior parte dos critérios clínicos para o diagnóstico das síndromes genéticas ligadas ao câncer já estão bem estabelecidos. No entanto algumas famílias não preenchem todos os critérios para as síndromes, mas apresentam tumores característicos. Geralmente são famílias pequenas e também devem seguir os protocolos de rastreamento. Outro grupo importante inclui famílias com múltiplos casos de câncer que acometem mais de uma geração, mas que não preenchem critérios para nenhuma síndrome. Estas famílias são classificadas como agrupamento familiar de tumores, não havendo rastreamento específico. Tumores únicos na família, atípicos e em idades precoces são considerados como

esporádicos, porém podem indicar a necessidade de acompanhamento oncogenético, como os tumores adrenocorticais na infância.

A possibilidade de identificar familiares de elevado risco para o desenvolvimento de câncer torna possível o emprego de uma abordagem preventiva e de detecção precoce do câncer. Os indivíduos considerados de alto risco devem ser encaminhados para o aconselhamento genético onde receberão todas as informações sobre a doença diagnosticada, informações sobre a herança e suporte para o rastreamento precoce¹³.

8 SÍNDROMES DE PREDISPOSIÇÃO HEREDITÁRIA AO CÂNCER

Até o momento, um grande número de síndromes genéticas ligadas ao câncer já foram descritas. Algumas destas síndromes já tiveram seu espectro bem definido e, em alguns casos, os genes relacionados descritos. Algumas destas síndromes serão descritas aqui, porém é importante ressaltar que representam apenas uma visão parcial das síndromes genéticas ligadas ao câncer. As síndromes relacionadas ao câncer colorretal hereditário são freqüentes e importantes no grupo das síndromes genéticas ligadas ao câncer e serão descritas em um capítulo a parte.

8.1.1 Síndrome de Câncer de Mama e Ovário Hereditários

Estima-se que 5-10% dos casos de câncer de mama são hereditários, assim como 7% dos casos de câncer de ovário, e aproximadamente 60 a 80% dessas mutações ocorrem nos genes supressores de tumor *BRCA1* e *BRCA2*, comumente mutados na Síndrome de câncer de mama e ovário hereditários (HBOC, do inglês *Hereditary Breast and Ovarian Cancer*, OMIM #114480), uma herança autossômica dominante, onde são detectadas mutações germinativas deletérias nos genes *BRCA1* (cromossomo 17) ou *BRCA2* (cromossomo 13).¹

A prevalência da mutação *BRCA* é mais alta entre as mulheres descendentes de judeus Ashkenazi, onde 2% de todas as mulheres e 12% das mulheres com câncer de mama apresentam mutação em um desses dois genes. As mutações mais comuns nesta população são: *185 delAG* e *5382 insC* em *BRCA1*, e *6174 delT* em *BRCA2*.²

Pacientes portadoras de mutação *BRCA1* têm um risco cumulativo estimado de câncer de mama de 56-84% e 36-67% de câncer de ovário. Já as pacientes portadoras de mutação em *BRCA2* têm um risco de câncer de mama 15-45%, ao longo da vida, e 10-27% risco de câncer de ovário.³ Outros tumores associados a mutações em *BRCA1* são o câncer de tuba uterina, câncer de próstata e tumor de Wilms⁴. Há que se lembrar também do risco de câncer de mama masculino em pacientes portadores de mutação *BRCA2* (6,9%, enquanto a

incidência na população geral é de 1:1000), além de risco aumentado de câncer de próstata, melanoma, câncer de pâncreas, câncer de estômago e vias biliares.

Tabela 1 - Estimativas de risco cumulativo de desenvolver câncer até os 70 anos em portadores(as) de mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*.

Risco cumulativo para:	Portadores(as) de mutações em <i>BRCA1</i>	Portadores(as) de mutações em <i>BRCA2</i>
Câncer de mama	70-85%	Mulheres 70-85% Homens 5-10%
Câncer de ovário	20-60%	10-20%
Câncer de cólon	6%	
Câncer de pâncreas	-	Homens 2% Mulheres 1,5%
Câncer de próstata	8%	7% (20% até 80 anos)
Outros (exceto mama, ovário, próstata, pâncreas e pele não-melanoma)	-	20% (estômago, melanoma, cólon, vias biliares)
Câncer de mama contralateral	40-60%	52%

Genes *BRCA1* e *BRCA2*

Em 1990 foi mapeado o gene *BRCA1* com susceptibilidade para o câncer de mama, localizado no braço longo do cromossomo 17, no intervalo 17q 12-21. O gene supressor de tumor *BRCA1* é composto de 22 éxons distribuídos em cerca de 100kb de DNA que codificam uma proteína de 1863 aminoácidos. O gene *BRCA2*, localizado no cromossomo 13, apresenta 26 éxons codificantes e origina uma proteína de 3418 aminoácidos. A função de ambos os genes está relacionada a aspectos centrais do metabolismo celular, tais como reparo de danos ao DNA, regulação da expressão gênica e controle do ciclo celular. O gene *BRCA1* atua no processo de apoptose relacionado à proliferação das células epiteliais em resposta à estimulação hormonal, no controle da recombinação e manutenção da integridade do genoma. Já o gene *BRCA2* tem atividade relacionada à ativação da transcrição e sistema de reparo do DNA. Dessa forma, mutações em *BRCA1/2* conferem um alto risco de câncer, pois esses genes atuam como “cuidadores do genoma” (caretakers) e, quando inativados, deixam de preservar a estabilidade genômica, permitindo o acúmulo de mutações em múltiplos genes.

Aconselhamento Genético

O objetivo principal do aconselhamento genético oncológico é a identificação dos indivíduos portadores da HBOC e o planejamento das medidas de vigilância ou prevenção aplicáveis às diferentes situações de alto risco de desenvolvimento de câncer. Em seguida, é fundamental a identificação de familiares portadores assintomáticos, que são indivíduos em alto risco para o desenvolvimento de câncer e que necessitam de rastreamento adequado.

A dinâmica do processo de aconselhamento genético envolve: (1) coleta de informação: pessoal e familiar, através da elaboração de heredograma com pelo menos três gerações, com posterior confirmação das informações fornecidas por meio de atestado de óbito ou histopatologia dos tumores referidos na família; (2) diagnóstico: a definição do diagnóstico é fundamental para conhecer o prognóstico (evolução natural, definição de riscos, estabelecimento de condutas e indicação de teste genético); (3) estimativa de risco: a definição dos riscos associados ao desenvolvimento da doença, assim como riscos reprodutivos, isto é, associação à transmissão da mutação; (4) transmissão da informação: transmissão das informações relevantes na evolução, transmissão, condutas de vigilância e redução de risco; (5) avaliação psicológica: deve ser realizada antes e após a realização do teste genético; (6) suporte e seguimento: orientação antecipatória, encaminhamento a grupos de pacientes, estratégias de seguimento.

Diagnóstico Clínico e Modelos de Risco

Pacientes com história de múltiplos tumores de mama e/ovário na família, padrão de transmissão vertical, diagnóstico de câncer de mama em idade jovem (<45 anos), câncer de mama bilateral, câncer de mama em homem ou câncer de mama e ovário numa mesma paciente devem ser encaminhados para avaliação em serviço de Oncogenética, onde serão avaliados o histórico familiar de câncer e as idades de diagnóstico dos tumores (com construção e interpretação de heredograma), assim como características moleculares dos tumores.

Algumas famílias apresentam uma estrutura limitada, o que dificulta o diagnóstico a partir de critérios da HBOC. Um padrão de herança autossômico dominante de câncer de mama pode não estar claro devido à existência de poucos indivíduos nas diferentes gerações ou à transmissão masculina da mutação, sexo no qual a expressão gênica das alterações em *BRCA1* e *BRCA2* é mais limitada. Nesses casos, mutações nos genes *BRCA* podem ser até duas vezes mais frequentes do que nos casos de estrutura familiar adequada (13,7% versus 5,2%). A avaliação de pacientes provenientes de famílias com estrutura limitada, na qual não

se consegue definir a existência de fenótipos clássicos da síndrome, pode ser muito difícil, assim como a decisão pela indicação do teste molecular.⁷

Na ausência de história familiar positiva para câncer de mama e ovário, há algumas características moleculares dos tumores que podem estar associadas a mutações em *BRCA*. Pacientes com diagnóstico de câncer de mama triplo negativos (sem expressão de receptores de estrógeno, progesterona e *Her2*), com ≤ 40 anos, podem mostrar mutações deletérias em *BRCA 1* ou *2* em aproximadamente 11%, de acordo com uma série de 54 pacientes.⁸ Já em uma análise retrospectiva do *MD Anderson Cancer Center* onde foram analisadas 77 pacientes com câncer de mama triplo negativos, sem história familiar de câncer, foi demonstrada uma incidência de mutação *BRCA1* ou *2* em 19,5%.⁹

Os critérios preconizados para diagnóstico clínico HBOC pela ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) e pelo NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*), estão descritos abaixo:

Quadro 1 - Critérios da ASCO para diagnóstico clínico de pacientes HBOC¹⁰

-
1. ≥ 3 casos de câncer de mama + 1 caso de câncer de ovário em qualquer idade ou;
 2. ≥ 3 casos de câncer de mama ≤ 50 anos ou;
 3. Par de irmãs (ou mãe e filha) com um dos seguintes critérios (≤ 50 anos):
 - 2 casos de câncer de mama; ou
 - 2 casos de câncer de ovário; ou
 - 1 caso de câncer de mama + 1 caso de câncer de ovário
-

Quadro 2. Diretrizes do NCCN para indicação do teste em pacientes com suspeita de HBOC ¹¹

1. Família com mutação detectada em *BRCA1* ou *BRCA2*
2. História pessoal de câncer de mama associada a um ou mais dos seguintes:
 - diagnóstico antes dos 40 anos
 - diagnóstico antes dos 50 anos ou 2 tumores primários de mama (bilateral ou ipsilateral) associado com um ou mais casos de câncer de mama ≤ 50 ou um caso de câncer de ovário
 - diagnóstico em qualquer idade, com 2 familiares próximos com câncer de mama e/ou ovário em qualquer idade
 - familiar do sexo masculino com câncer de mama
 - história pessoal de câncer de ovário
 - ascendência étnica associada a uma alta frequência de mutações deletérias (ex. ascendência Ashkenazi)
3. História pessoal de câncer de ovário
4. História pessoal de câncer de mama em homem particularmente se um ou mais dos seguintes:
 - familiar do sexo masculino com câncer de mama
 - familiar com do sexo feminino com câncer de mama e/ou ovário.

Diagnóstico Molecular

O seqüenciamento direto do DNA é o método padrão na identificação de mutações patogênicas no DNA. Mais de 200 mutações foram descritas em cada gene. A seleção das pacientes é importante para otimizar o teste. A pesquisa de mutações germinativas em *BRCA1* e *BRCA2* é um processo de alta complexidade, laborioso e caro. Essa dificuldade resulta do tamanho desses genes e da extensa heterogeneidade molecular observada na síndrome (*Breast Cancer Information Core*, <http://research.nggri.nih.gov/bic>).

Dois estratégias principais são utilizadas para identificação de mutações germinativas pontuais em seqüências codificadoras dos genes *BRCA*: (1) seqüenciamento dos éxons codificadores de ambos os genes e análise comparativa da seqüência obtida com uma seqüência de referência (ex. GenBank) e (2) rastreamento de mutações utilizando uma de diversas técnicas: *Denaturing High Performance Liquid Chromatography* (DHPLC), *Single Strand Conformation Polymorphism* (SSCP), *Protein Truncation Test* (PTT) ou *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* (DGGE); e apenas os éxons que apresentarem um padrão variante são submetidos a seqüenciamento.

Mutações patogênicas fundadoras em *BRCA1* e *BRCA2* foram descritas em populações específicas, como por exemplo, judeus Ashkenazi nos quais as mutações 185 delAG e 5382insC (*BRCA1*) e 6174delT (*BRCA2*) correspondem a mais de 90% de todas as mutações patogênicas de famílias HBOC. Portanto, probandos de origem Ashkenazi podem ser inicialmente testados para mutações fundadoras, somente. Se o resultado for negativo, se

procede ao teste de mutações ao longo de toda a seqüência codificadora de ambos os genes.

12

Se não forem identificadas mutações pontuais, recomenda-se prosseguir com investigação de grandes rearranjos gênicos em *BRCA1* e *BRCA2*, que pode ser realizada por técnicas como: (1) *Multiplex Ligation Probe-dependent Amplification - MLPA*; (2) PCR de longo alcance (Payne *et al.*, 2000); (3) Southern Blot, entre outras. A combinação de uma técnica de identificação de mutações pontuais com uma técnica de rastreamento de rearranjos aumenta a sensibilidade do teste.¹³

Rearranjos correspondem a cerca de 30% das mutações deletérias de *BRCA1* nos Países Baixos e no norte da Itália. Em contraste, famílias Dinamarquesas e Finlandesas com a síndrome HBOC apresentam uma freqüência bem menor de rearranjos entre as mutações patogênicas do gene, indicando uma freqüência população-específica para tais mutações. Acredita-se que a maioria dos rearranjos detectados em *BRCA1* esteja relacionada a eventos de recombinação desigual entre elementos *Alu*, seqüências repetitivas de DNA.¹⁴ Poucos rearranjos têm sido descritos em *BRCA2*, o que pode ser explicado pela menor densidade de repetições *Alu* do que observado em *BRCA1*. Aparentemente, rearranjos em *BRCA2* são mais comuns em famílias HBOC com câncer de mama masculino e em certas populações, por efeito fundador.¹⁵

Mesmo utilizando estratégias complementares para identificação de mutações germinativas nos genes *BRCA*, resultados negativos ou inconclusivos (presença de variantes de seqüência de significado incerto, que ocorrem em 10-20% dos casos) são relativamente comuns e devem ser interpretados com cautela. Variantes de significado incerto podem ser melhor caracterizadas por estudos de associação e segregação, análises *in silico* e estudos funcionais.

O diagnóstico molecular da pesquisa dos genes *BRCA1* e *BRCA2* tem sido realizado em nosso hospital, no departamento de Biologia Molecular. Para obtenção do diagnóstico, o método utilizado é o do sequenciamento de DNA para *BRCA1/BRCA2*. Quando o paciente entra em nosso serviço sem as informações de aconselhamento genético prévias, toda a seqüência gênica é examinada. Inclui-se também a pesquisa da deleção de *CHECK2*, gene de predisposição ao câncer de mama. Este teste em *CHECK2* visa a detecção de deleção de uma única base C, pontual, denominada *CHECK2-c.1100delC*. Caso o paciente já tenha informações do *BRCA*, pode ser efetuada apenas a pesquisa em *CHECK2*.

Vigilância e Acompanhamento Clínico

Pacientes portadoras de mutação em BRCA devem ser acompanhadas para instituição de medidas de rastreamento para diagnóstico precoce de câncer, além da discussão de intervenções cirúrgicas profiláticas ou quimioprofilaxia.

A realização de mamografia está associada à redução da mortalidade por câncer de mama, embora a sensibilidade do exame para pacientes jovens seja menor. A sensibilidade da mamografia associada ao exame clínico é de aproximadamente 45%, no entanto quando associamos as 4 estratégias: auto-exame, mamografia, ultra-som de mamas e ressonância magnética, alcançamos uma sensibilidade de 95%.^{16,17}

Para rastreamento de câncer de ovário, não há métodos efetivos, portanto indicamos a realização de ultra-som transvaginal e dosagem sérica de CA125, semestralmente a partir dos 35 anos ou 10 anos antes da idade de diagnóstico mais precoce. Não há recomendação de rastreamento para câncer de pâncreas. Para pacientes portadores de mutação em BRCA2, recomendamos exame anual da pele por dermatologista.¹⁸

Os pacientes que não realizaram teste genético, mas apresentam critérios clínicos de HBOC devem ser acompanhados com exames na mesma periodicidade.

Tabela 2 – Recomendações de rastreamento de câncer em portadores(as) de mutação em BRCA1 e BRCA2

Tipo de câncer	Recomendação	Intervalo	Nível de Evidência (†)
Mama	Auto-exame das mamas	Mensal a partir dos 18 anos de idade	III
	Exame clínico das mamas	Anual ou semestral a partir dos 25 anos	III
	Mamografia	Semestral a partir dos 25 anos	III
	Ressonância Magnética	Seis meses após mamografia a partir dos 25 anos	III
Ovário	Ecografia Transvaginal + CA 125	Semestral a partir dos 35 anos ou 5-10 anos antes da idade do diagnóstico mais precoce	III
Próstata	Toque retal + PSA	Anual a partir dos 40	III

(†) De acordo com Physician Data Query (PDQ) Screening and Prevention Statement Levels of Evidence Quimioprofilaxia

Opções de intervenção não-cirúrgica incluem a quimioprevenção e a modificação dos fatores de risco. O desenvolvimento de moduladores seletivos dos receptores de estrogênio, tais como o tamoxifeno, resultou em aumento de sobrevivência em pacientes com diagnóstico ?? (diagnóstico de câncer de mama??) e redução da ocorrência primária em pacientes de risco. Tamoxifeno foi a primeira droga aprovada pelo FDA norte-americano para o uso preventivo no câncer de mama em mulheres de alto risco.¹⁹ Metanálise de estudos clínicos em prevenção primária com tamoxifeno demonstrou uma redução geral da incidência de câncer de mama de 38%; e de 48% para tumores com expressão de estrogênio. No entanto, esse tipo de prevenção deve ser reservado para pacientes de risco moderado e alto risco devido aos riscos associados ao tratamento (câncer de endométrio e eventos tromboembólicos).²⁰

O raloxifeno reduz o risco apenas de carcinomas invasivos, mas não de lesões *in situ*. Para pacientes portadoras de mutação de *BRCA*, apenas tamoxifeno tem mostrado benefício em reduzir risco de câncer de mama. Ainda há que se lembrar que a redução do risco é maior nas portadoras de mutações de *BRCA2*, uma vez que a maioria das pacientes com mutação de *BRCA1* tem tumores com receptores de estrogênio negativos. De qualquer forma, a duração da quimioprofilaxia e a idade ideal em se começar ainda não foram estabelecidas.

Recomendamos, portanto, discutir com paciente os riscos e possíveis benefícios do uso de tamoxifeno a partir dos 30 anos, por um período de 5 anos, embora ainda faltem dados confirmatórios.

A outra classe de anti-estrogênicos, os inibidores de aromatase, que são usados na adjuvância dos tumores de mama que expressam receptores hormonais e no tratamento da doença metastática, ainda faltam estudos confirmando seu papel na quimioprofilaxia para população de alto risco de câncer de mama e que se encontram na pós-menopausa.

Cirurgias Redutoras de Risco

A mastectomia profilática tem mostrado redução do risco de câncer de mama nas pacientes portadoras de mutação *BRCA 1/2* em 90%, assim como da mortalidade por câncer de mama. A mastectomia bilateral profilática deve ser considerada uma opção redutora de risco, especialmente quando há história prévia de hiperplasia atípica e mamas de difícil avaliação pelos exames de imagem. Diferentemente do rastreamento para câncer de ovário, o rastreamento intensivo de câncer de mama permite uma detecção precoce, embora não reduza o risco de desenvolver câncer de mama.^{21,22}

A salpingooforectomia bilateral (SOB) profilática reduz em até 90% o risco de câncer de ovário e tubas uterinas, além de reduzir o risco de câncer de mama nas pacientes portadoras de mutação *BRCA 1 e 2* que estão na pré-menopausa.²³

Em pacientes portadoras de mutação em *BRCA1*, a SOB profilática reduz em 70% o risco de câncer de ovário nas pacientes sem diagnóstico prévio de câncer de mama e reduz em 85% o risco de câncer de ovário nas pacientes que já tiveram câncer de mama. A mortalidade câncer de mama específica é reduzida em 76% e a mortalidade câncer de ovário específica em 95% quando realizada SOB profilática nas pacientes portadoras de mutação

O benefício da profilaxia é maior quanto mais precoce for realizada a salpingooforectomia bilateral. No entanto, como a média de idade de câncer de ovário nestas pacientes é em torno de 45 anos, discute-se sua realização após prole constituída. Devido à inexistência de medidas eficazes de rastreamento para câncer de ovário, a salpingooforectomia bilateral deve ser recomendada nas pacientes portadoras de mutação. Por não eliminar o risco de carcinoma primário de peritônio, as pacientes devem continuar sendo avaliadas com ultra-som transvaginal e CA 125.^{24,25}

Métodos para avaliação de risco do câncer de mama

O risco do desenvolvimento de câncer de mama ou da presença de mutações em famílias com padrão hereditário de casos de câncer pode se avaliado através de ferramentas matemáticas. Algumas estão descritas abaixo:

Modelo de Gail²⁷: Calcula o risco de câncer de mama baseado na idade da mulher, idade da menarca, idade ao nascimento do primeiro filho, antecedente de biópsias de mama, o número de biópsias e resultados, a presença de hiperplasia atípica história de câncer de mama em parentes de primeiro grau. No entanto este modelo não considera a ocorrência de câncer de mama em familiares que não sejam de 1º grau. Outro fator que não é considerado é a densidade da mama vista na mamografia, sendo estes fatores que tem grande relevância na determinação de risco. Recentemente foi publicado um novo modelo de cálculo de risco que, considera o resultado da mamografia, além de outros fatores como, por exemplo, o índice de massa corpórea e o uso de reposição hormonal. Este estudo, que avaliou mais de 2 milhões de mamografias demonstrou que a alta densidade da mama é um fator de risco porém não esclarece se a diminuição da densidade também diminui o risco²⁸. Assim, Palomares et al.²⁹ sugerem que o modelo de Gail deveria levar em consideração a densidade da mama nas mamografias para que o risco possa ser calculado de maneira mais exata.

Modelo de Claus ³⁰: Calcula o risco de câncer de mama baseado em tabelas com a incidência cumulativa da doença de acordo com a idade. Considera na análise a idade das mulheres e parentes de primeiro e segundo grau, e estima melhor o risco em famílias com parentes de segundo grau acometidas ou com história de câncer na família paterna.

BRCAPRO (Berry-Parmigiani-Aguilar Model) ³¹: Este modelo é usado para o cálculo da probabilidade de um indivíduo ser portador de mutação nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. O cálculo é baseado na análise dos parentes de primeiro e segundo grau, afetadas ou não, ascendência de Judeus Ashkenazi, idade do início da doença nos familiares e idade das pessoas não afetadas (sem câncer). Foi baseado nos princípios mendelianos e nos valores de penetrância e frequência. Não infere o risco de desenvolvimento de câncer de mama, mas avalia o risco de presença de mutações com cerca de 15% de falso negativos.

Penn Model ³²: Foi a primeira ferramenta matemática desenvolvida para análise do risco de mutação no *BRCA1*. Não é adequado para famílias com câncer de ovário.

Myriad Model ³³: Modelo desenvolvido pela Myriad Genetics, empresa responsável pela realização de grande parte dos testes genéticos nos Estados Unidos baseado em sua própria estatística de prevalência de mutações.

Síndrome de Li-Fraumeni

A síndrome de Li-Fraumeni (LFS) é uma síndrome rara de predisposição ao câncer. Tem caráter autossômico dominante e alta penetrância: estima-se que pacientes com essa síndrome apresentem 50% de chance de desenvolver tumores antes dos 30 anos de idade, comparados a 1% na população geral, e que 90% dos portadores venham a desenvolver câncer até os 70 anos de idade. Pacientes com LFS que desenvolveram câncer na infância são mais suscetíveis ao desenvolvimento de tumores secundários.

Diversos tipos de tumores malignos estão relacionados à LFS, como sarcomas de partes moles e ósseos, leucemias, tumores do sistema nervoso central (SNC), tumores adrenocorticais e tumores de mama em mulheres na pré-menopausa. Mais de trinta tipos de câncer já foram descritos em famílias com LFS, incluindo melanoma, tumores de células germinativas, tumores gástricos, tumor de Wilms, de pâncreas, de pulmão, de laringe, de próstata e linfomas. Tumores malignos de tireóide e renais foram descritos em famílias brasileiras portadoras da LFS. (Quadro 1)

Quadro 1 - Tumores mais frequentemente associados à SLF e LFL.

Tumores infantis	<input type="checkbox"/> Sarcomas de partes moles e ósseos <input type="checkbox"/> Sistema nervoso central <input type="checkbox"/> Câncer adrenocortical <input type="checkbox"/> Linfoma / Leucemia <input type="checkbox"/> Tumor de células germinativas <input type="checkbox"/> Tumor de Wilms
Tumores em adultos	<input type="checkbox"/> Câncer de Mama <input type="checkbox"/> Sarcomas de partes moles e ósseos <input type="checkbox"/> Sistema nervoso central <input type="checkbox"/> Câncer de pulmão <input type="checkbox"/> Linfoma / Leucemia <input type="checkbox"/> Câncer gástrico <input type="checkbox"/> Câncer colorretal <input type="checkbox"/> Câncer de cabeça e pescoço <input type="checkbox"/> Câncer de próstata <input type="checkbox"/> Câncer de pâncreas <input type="checkbox"/> Câncer de ovário <input type="checkbox"/> Câncer de endométrio <input type="checkbox"/> Câncer de tireóide e câncer renal (BRASIL)

O diagnóstico da síndrome inicialmente é clínico, realizado a partir da observação e anotação dos diversos casos relatados pelas famílias avaliadas. Os critérios para o diagnóstico clínico foram inicialmente descritos por Li e Fraumeni em 1969. Visando definir o diagnóstico clínico das famílias que não tinham a expressão completa do fenótipo clássico da síndrome, mas que apresentavam tumores típicos em idade precoce, um critério diagnóstico adicional ao da LFS clássica foi proposto, sendo denominado Li-Fraumeni variante ou Li-Fraumeni-*like* (LFL) (LI et al. 1988; BIRCH et al. 1994; EELES 1995; FREBOURG et al. 2001). Recentemente o critério de Chompret foi revisto, por TINAT et al. (2009), sendo denominado critério de Chompret modificado versão 2009. (Quadro 2)

Quadro 2 - Critérios diagnósticos da síndrome de Li Fraumeni.

Clássico Li Fraumeni	<ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma na infância ou em idade jovem (antes dos 45 anos) E • Familiar de primeiro grau com qualquer câncer em idade jovem (antes dos 45anos) E • Familiar de primeiro ou segundo grau que tenha o diagnóstico de câncer em idade jovem (antes dos 45 anos) ou sarcoma em qualquer idade.
Variante Birch	<ul style="list-style-type: none"> • Câncer na infância ou sarcoma, SNC ou ADR antes dos 45 anos E • Familiar de primeiro grau ou segundo grau com câncer típico da Síndrome de Li-Fraumeni *(sarcoma, câncer de mama, SNC, ADR ou leucemia) em qualquer idade E • Familiar de primeiro ou segundo grau com qualquer câncer antes dos 60 anos.
Eeles	<ul style="list-style-type: none"> • LFL-E1 presença de dois familiares de primeiro ou segundo grau com tumor típico em qualquer idade (sarcoma, câncer de mama, tumor SNC, leucemia, ADR, melanoma, câncer de próstata, câncer pancreático). • LFL-E2: sarcoma em qualquer idade no paciente índice com dois dos seguintes tumores (podendo estar presentes no mesmo indivíduo) câncer de mama <50 anos e/ou tumor SNC, leucemia, ADR, melanoma, câncer de próstata, câncer pancreático aos <60 anos ou sarcoma em qualquer idade.
Chompret	<ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma, SNC, câncer de mama ou ADR antes dos 36 anos E • Familiar de primeiro grau ou segundo grau com câncer antes dos 46 anos OU • Familiar com múltiplos tumores primários em qualquer idade OU • Múltiplos tumores primários, incluindo dois tumores que sejam do tipo sarcoma, SNC, câncer de mama ou ADR, com o primeiro tumor diagnosticado antes dos 36 anos, independente da história familiar OU • ADR em qualquer idade e independente da história familiar.
Chompret modificado	<ul style="list-style-type: none"> • Paciente-índice com câncer típico da Síndrome de Li-Fraumeni (sarcoma de partes moles, osteosarcoma, câncer de mama pré-menopausal, SNC, ADR, leucemia e carcinoma brônquio-alveolar de pulmão) antes dos 46 anos E • Familiar de primeiro ou segundo grau com câncer típico da Síndrome de Li-Fraumeni antes dos 56 anos (exceto câncer de mama caso o probando tenha câncer de mama) ou múltiplos tumores OU • Paciente-índice com múltiplos tumores, sendo pelo menos dois do espectro LFS e o primeiro antes dos 46 anos OU • Paciente com carcinoma ADR ou tumor de plexo coróide independentemente da história familiar.

O gene envolvido na LFS e LFL é o gene supressor de tumor *TP53*, que codifica a proteína p53. Mutações germinativas no gene *TP53* foram encontradas em, aproximadamente, 77% da LFS clássica e entre 40 e 20% das famílias com LFL, podendo chegar a (acho que faltou alguma frase aqui!!). A exposição à radiação ionizante, radiação gama, raios ultravioleta (UV), agentes oxidantes, drogas citotóxicas e agentes químicos causadores de câncer aumenta o risco de tumores. Outros agentes mutagênicos e carcinogênicos são fontes atuais de estudos.

O papel do gene *TP53* na regulação do ciclo celular e sua participação direta no controle da apoptose é determinante, recebendo, por isso, a denominação de “guardião do genoma”. O *TP53* é um gene supressor de tumor localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1), com 20 kb e 11 éxons, sendo o primeiro não codificador. O gene *TP53* humano codifica uma proteína de 393 aminoácidos, a p53 (Figura 35.2). (inserir figura 35.2) (CF numeracao dos arquivos)

O teste genético, feito por meio do seqüenciamento do gene *TP53*, é indicado para pacientes que preencham os critérios diagnósticos clínicos da LFS e da LFL. Após detecção da mutação, o exame deve ser oferecido aos familiares previamente submetidos ao aconselhamento oncogenético. No entanto, até o presente, o seqüenciamento do gene *TP53* não é feito rotineiramente, e o seu estudo é oferecido apenas em alguns centros de pesquisa. Em um trabalho de pesquisa, atualmente em desenvolvimento na Unifesp, notou-se uma incidência aumentada dessa síndrome na população brasileira, se comparada à sua frequência na população mundial. Notou-se, ainda, a predisposição a um espectro tumoral mais amplo que o apresentado previamente, sendo verificados tumores de tireoide e renais.

O acompanhamento de famílias com história sugestiva de LFS deve ser realizado visando à redução de risco para o desenvolvimento de tumores de difícil acompanhamento por apresentarem um espectro tumoral amplo e diversificado. A viabilização de um rastreamento sistemático e precoce para esses indivíduos é um dos maiores desafios em razão da multiplicidade de sítios em que podem ocorrer neoplasias. Até o momento, existem poucas estratégias de rastreamento reconhecidamente eficazes. O rastreamento de lesões em mama, pela mamografia com início aos 25 anos idade, é uma estratégia efetiva no acompanhamento desses pacientes. Mulheres portadoras da mutação no gene *TP53* devem considerar a possibilidade da realização da mastectomia profilática bilateral para redução do risco de desenvolvimento de câncer de mama. O exame de colonoscopia deve ser realizado a cada 2 a 5 anos, com início aos 25 anos de idade, em todos os indivíduos em risco.

Melanoma hereditário

O melanoma é o tumor cutâneo mais grave que têm origem em melanócitos epidérmicos. É um tumor com grande capacidade de produzir metástases e o diagnóstico tardio tem resultados devastadores, com mortalidade de até 50% dos pacientes.

O maior fator de risco para melanoma é a presença de história familiar que inclua a ocorrência de melanoma em familiares de 1º ou 2º grau. A história familiar de melanoma duplica o risco para familiares de 1º grau. Na Europa e na América do Norte, entre 8 e 14%

de todos os pacientes portadores de melanoma têm história familiar positiva para a doença. Grupos de estudo ligados ao GenoMEL, um consórcio mundial para o estudo do melanoma, tiveram participação determinante no estudo de alterações cromossômicas relacionados aos melanomas.

Mutações germinativas no gene *CDKN2A* foram identificadas em famílias portadoras do melanoma hereditário. Esse mesmo *locus* codifica dois genes, o *CDKN2A* (ou p16) e o *CDKN2B* (ou p15), e, a partir da leitura alternativa do éxon 1, produz a proteína p14ARF. As proteínas p16 e a proteína 14ARF (*alternative reading frame*) atuam no controle do ciclo celular e na apoptose. A ausência desse mecanismo funcionando facilita o crescimento celular descontrolado e o desenvolvimento tumoral.

Mutações de *CDKN2A* têm sido relatadas como as mais comumente relacionadas a melanomas familiares na Europa e na Austrália. A presença de mutações germinativas em portadores de melanomas e história positiva para esses tumores ou câncer de pâncreas em, pelo menos, um parente de 1º grau define a síndrome do melanoma familiar.

Pacientes com alto risco para o desenvolvimento de melanoma devem ser orientados quanto à diminuição de exposição à luz solar, ao uso de protetores solares diariamente e à vigilância intensiva de lesões hiperpigmentadas na pele, a partir de uma consulta semestral ao dermatologista, com registro fotográfico das lesões. Portadores da mutação têm risco aumentado para desenvolvimento de um novo melanoma primário e ocorrência de câncer de pâncreas. A detecção da mutação em um indivíduo portador possibilita a busca da mesma mutação em membros assintomáticos da família. Portadores da mutação germinativa assintomáticos devem ter a mesma atenção visando à detecção precoce de lesões potencialmente malignas. Aqueles que não dispuserem do teste genético devem ser acompanhados da mesma forma.

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹ Offit K. Clinical cancer genetics: risk counseling and management. Wiley-Liss: New York; 1998.

² Shields PG, Harris CC. Cancer risks and low-penetrance susceptibility genes in gene environment interactions. *J Clin Oncol* 2000;18:2309-15.

³ Draper GJ, Sanders BM, Brownbill PA, et al. Patterns of risk of hereditary retinoblastoma and applications to genetic counseling. *Br J Cancer* 1992; 66:211-19.

⁴ Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genética Médica. Guanabara-Koogan: Rio de Janeiro, 2002, 6ª. Ed.

⁵ Vogel F & Motulsky AG. Human genetics. Problems and approaches. New York: Springer, 1997

⁶ Kandel MJ, Stadler Z, Masciari S, Gendelan R, Collins L, Schnitt S, Harris L, Miron A, Richardson A, Garber JE. Prevalence of BRCA1 mutations in triple negative breast cancer. ASCO 2006, Abstract No 508

⁷ Dvorakova S, Vaclavikova E, Sykorova V, Duskova J, Vlcek P, Ryska A, Novak Z, Bendlova B. New multiple somatic mutations in the RET proto-oncogene associated with a sporadic medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2006 Mar;16(3):311-6.

⁸ Antoniou AC, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, Olsson H, Johannsson O, Borg A, Pasini B, Radice P, Manoukian S, Eccles DM, Tang N, Olah E, Anton-Culver H, Warner E, Lubinski J, Gronwald J, Gorski B, Tulinius H, Thorlacius S, Eerola H, Nevanlinna H, Syrjakoski K, Kallioniemi OP, Thompson D, Evans C, Peto J, Lalloo F, Evans DG, Easton DF. Breast and ovarian cancer risks to carriers of the BRCA1 5382insC and 185delAG and BRCA2 6174delT mutations: a combined analysis of 22 population based studies. *J Med Genet*. 2005 Jul;42(7):602-3.

⁹ Sun S, Greenwood CM, Thiffault I, Hamel N, Chong G, Foulkes WD. The HNPCC associated MSH2*1906G-->C founder mutation probably originated between 1440 CE and 1715 CE in the Ashkenazi Jewish population. *J Med Genet*. 2005 Oct;42(10):766-8.

¹⁰ Fassbender WJ, Krohn-Grimberghe B, Gortz B, Litzlbauer D, Stracke H, Raue F, Kaiser HE. Multiple endocrine neoplasia (MEN)--an overview and case report--patient with sporadic bilateral pheochromocytoma, hyperparathyroidism and marfanoid habitus. *Anticancer Res.* 2000 Nov-Dec;20(6C):4877-87.

¹¹ Daull F. Ethical issues in oncogenetics. *Ann Med Interne (Paris)*. 2001 Sep;152(5):332-6.

¹² Achatz MI, Olivier M, Calvez FL, Martel-Planche G, Lopes A, Rossi BM, Ashton-Prolla P, Giugliani R, Palmero EI, Vargas FR, Rocha JC, Vettore AL, Hainaut P. The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. *Cancer Lett.* 2006 Feb 20; [Epub ahead of print]

¹³ Ashton-Prolla P, Vargas FR, Rocha JCC,. Câncer familiar. Elaboração Final: 13 de Agosto de 2001. Disponível em: <URL:http://www.projtodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/027.pdf> [2005 nov 12].

¹⁴ Welsh PL, Owens KN, King MC. Insights into the functions of BRCA1 and BRCA2. *Trends Genet* 2000; 16:69-74

¹⁵ Hodgson SV, Maher ER. A practical guide to human cancer genetics. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press;1999. p.81-100: Reproductive system.,

¹⁶ Lakhani SR, Vujver MJV, Jacquemier J, Anderson TJ, Osin PP, McGuffog L et al. The pathology of familial breast cancer: Predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2 and p53 in patients with mutation in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol* 2002; 20:2310-8.

¹⁷ Gayther AS, Foy KAF, Harrington P, Pharoah P, Dunsmuir WD, Edwards SM et al. The frequency of germ-line mutations in the breast cancer predisposition genes BRCA1 and BRCA2 in familiar prostate cancer. *Canc Research* 2000;60:4513-8.

¹⁸ Frank TS, Deffenbaugh AM, Reid JE, Hulick M, Ward BE, Lingenfelter B et al. Clinical characteristics of individuals with germline mutations in BRCA1 and BRCA2:analysis of 10.000 individuals. *J Clin Oncol* 2002;20:1480-90.

¹⁹ Hanh AS, Greenhalf B, Ellis I, Sina-Frey M, Rieder H, Korte B et al. BRCA2 germline mutations in familial pancreatic carcinoma. *J Nat Cancer Inst* 2003;95:214-21.

- ²⁰ Jatoi I. MRI in breast cancer management: potential for benefit and harm. Int J Fertil Womens Med. 2005;50:281-4.
- ²¹ Samuel JC, Ollila DW. Prophylaxis and screening options: recommendations for young women with BRCA mutations. Breast Dis. 2005-2006;23:31-5.
- ²² Calderon-Margalit R, Paltiel O. Prevention of breast cancer in women who carry BRCA1 or BRCA2 mutations: a critical review of the literature. Int J Cancer. 2004;112:357-64.
- ²³ Finch A, Beiner M, Lubinski J, Lynch HT, Moller P, Murphy J, Rosen B, Ghadirian P, Friedman E, Foulkes WD, Kim-Sing C, Wagner T, Tung J, Couch F, Stoppa-Lyonnet D, Ainsworth P, Daly M, Pasini B, Gershoni-Baruch R, Eng C, Olopade OI, McLennan J, Karlan B, Weitzel J, Sun P, Narod SA; Salpingo-oophorectomy and the risk of ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancers in women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. JAMA. 2006;296:185-92.
- ²⁴ Domchek SM, Stopfer JE, Rebbeck TR. Bilateral risk-reducing oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. J Natl Compr Canc Netw. 2006;4:177-82.
- ²⁵ Bao T, Prowell T, Stearns V. Chemoprevention of breast cancer: tamoxifen, raloxifene, and beyond. Am J Ther. 2006;13:337-48.
- ²⁶ Geller BA, Vogel VG. . Chemoprevention of breast cancer in postmenopausal women. Breast Dis. 2005-2006;24:79-92
- ²⁷ Gail MH, Brinton LA, Byar DP, et al. Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. J Nat Cancer Inst 1989; 81:1879-86.
- ²⁸ Barlow WE, White E, Ballard-Barbash R, Vacek PM, Titus-Ernstoff L, Carney PA, Tice JA, Buist DS, Geller BM, Rosenberg R, Yankaskas BC, Kerlikowske K. Prospective breast cancer risk prediction model for women undergoing screening mammography. J Natl Cancer Inst. 2006;98:1204-14.
- ²⁹ Palomares MR, Machia JR, Lehman CD, Daling JR, McTiernan A. Mammographic density correlation with Gail model breast cancer risk estimates and component risk factors. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006;15:1324-30.

- ³⁰ Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD, Risch NJ. The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. *Cancer* 1996; 77:2318-24.
- ³¹ Berry DA, Iversen ES Jr, Gudbjartsson DF, Hiller EH et al. BRCAPRO validation, sensitivity of genetic testing of BRCA1/BRCA2, and prevalence of other breast cancer susceptibility genes. *J Clin Oncol.* 2002;20:2701-12
- ³² Couch FJ, DeShano ML, Blackwood MA, Calzone K, Stopfer J, Campeau L, Ganguly A, Rebbeck T, Weber BL. BRCA1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer. *N Eng J Med* 1997; 336: 409-15.
- ³³ www.myriadtests.com/provider/brca-mutation-prevalence.htm
- ³⁴ Friedman JM, Gutmann DH, MacCollin M, Riccardi VM (eds). *Neurofibromatosis: phenotype, natural history, and pathogenesis.* 3rd ed. John Hopkins University Press: Baltimore, 1999.
- ³⁵ Upadhyaya M & Cooper DN (eds) *Neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype.* Bios Scientific Publishers: Washington, 1998.
- ³⁶ Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF Jr, Nelson CE, Kim DH et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science*, 250:1233-8, 1990.
- ³⁷ Birch JM, Alston RD, McNally RJ, et al. Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations. *Oncogene* 2001; 20:4621-8.
- ³⁸ Varley JM, Evans DG, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome—a molecular and clinical review. *Br J Cancer* 1997;76:1-14.
- ³⁹ Crawford LV, Pim DC, Gurney EG, Goodfellow P, Taylor-Papadimitriou J. Detection of a common feature in several human tumor cell lines—a 53,000-dalton protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78:41-5.
- ⁴⁰ Hainaut P. The tumor suppressor protein p53: a receptor to genotoxic stress that controls cell growth and survival. *Curr Opin Oncol* 1995; 7:76-82.

- ⁴¹ Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P. The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat* 2002; 19:607-14.
- ⁴² Varley JM. Germline TP53 Mutations and Li-Fraumeni Syndrome. *Human Mutation*, 21:313-20, 2003.
- ⁴³ Varley JM, Evans DG, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome-a molecular and clinical review. *Br J Cancer*, 76:1-14, 1997.
- ⁴⁴ Rosser T, Panigrahy A, McClintock W. The diverse clinical manifestations of tuberous sclerosis complex: a review. *Semin Pediatr Neurol* 2006;13:27-36.
- ⁴⁵ Ess KS. The neurobiology of tuberous sclerosis complex. *Semin Pediatr Neurol* 2006;13:37-42.
- ⁴⁶ Roach ES, DiMario FJ, Kandt RS, Northrup H. Tuberous Sclerosis consensus conference: recommendations for diagnostic evaluation. *J Child Neurol* 1999; 14: 401-7.
- ⁴⁷ Hemminky K, Eng C. Clinical genetic counselling for familial cancers requires reliable data on familial cancer risks and general action plans. *J Med Genet* 2004;41:801-7.
- ⁴⁸ American Society of Human Genetics Board of Directors, American College of Medical Genetics Board of Directors. Points to consider: ethical, legal, and psychosocial implications of genetic testing in children and adolescents. *Am J Hum Genet* 1995;57:1233-41.
- ⁴⁹ Vargas FR Avaliação de risco e aconselhamento genético oncológico. IN: Ferreira CG & Rocha JC. *Oncologia molecular*. Atheneu: Rio de Janeiro, 2004, p.307-14.

Apêndice 2 - Comprovante de artigo submetido ao *Journal of Clinical Oncology*

-----Original Message-----

From: jcomps@asco.org [mailto:jcomps@asco.org]

Sent: 15 May 2011 10:52

To: Pierre Hainaut

Cc: Maria-Isabel Waddington Achatz

Subject: JCO/2011/370254 Manuscript Payment Electronic Receipt

MS TITLE: High prevalence of malignant lesions revealed by 18F-FDG-PET/CT in germline TP53 mutation carriers with no apparent signs of cancer.

Corresponding Author: Maria-Isabel Waddington Achatz

Dear Dr Pierre Hainaut,

Thank you for your online payment of \$60.00 for the Journal of Clinical Oncology manuscript submission and handling fee. This letter serves as your official receipt.

Payment Receipt:

Payment Date: 15 May 2011

Payment Amount: 60.00 USD

Payment Processed by: Pierre Hainaut

Payment Type: Submission Fee

Yours sincerely,

Journal of Clinical Oncology

Privacy Notice:

The contents of this electronic message, including any prior messages, files, or attachments transmitted with it, are CONFIDENTIAL and are intended solely for the use of the individual(s) to whom the message is addressed. This message may contain legally protected or privileged information. Do not read, copy, disclose or forward this message without authorization from the originator of this message. If you have received this message in error, please notify the sender immediately and delete all copies from your system.

ESMP

Apêndice 3 - Artigo submetido ao *Journal of Clinical Oncology (JCO)*

High prevalence of malignant lesions revealed by ¹⁸F-FDG-PET/CT in germline *TP53* mutation carriers with no apparent signs of cancer.

Sônia Tereza S. Nogueira MD, Eduardo Nóbrega P. Lima MD, PhD, Amanda França Nóbrega, Ivone do Carmo G. Torres MD, Marcelo Cavicchioli MD, Pierre Hainaut, MD, PhD and Maria Isabel Waddington Achatz MD, PhD

STSN, AFN, MIWA: Department of Oncogenetics, and

ENPL, IdCGT, MC: Nuclear Medecine, Hospital AC Camargo Hospital: rua Professor Antonio Prudente 211 Liberdade CEP:01509-00, São Paulo , Brazil

PH: Molecular Carcinogenesis Group, International Agency for Research on Cancer, 150 Cours Albert Thomas 69372 Lyon France.

Corresponding author:

Maria Isabel Waddington Achatz, MD, PhD

Department of Oncogenetics, Hospital AC Camargo Hospital: rua Professor Antonio Prudente 211 Liberdade CEP:01509-00, São Paulo , Brazil

Email: miachatz@hcancer.org.br

Phone : +55- 11-21895181

Running title: Surveillance of TP53 mutation carriers by 18F-FDG-PET/CT

Key Words: TP53, LFS, 18F-FDG-PET/CT, cancer surveillance

Abstract

Purpose:

To evaluate the effectiveness of ^{18}F -FDG-PET/CT for detecting early cancer in carriers of germline *TP53* mutation, the genetic defect underlying Li-Fraumeni and related syndromes (LFS/LFL) which predisposes to many forms of cancer throughout life.

Patients and Methods

A total of 30 adult patients from 6 families with germline *TP53* mutations were recruited. These patients did not have a diagnosis of cancer in the 24 months preceding the study. Anomalous concentrations from whole-body ^{18}F -FDG-PET/CT were assessed by two independent experts. Suspicious lesions were excised and subjected to pathological examination.

Results

A total of 6/30 patients showed abnormal ^{18}F -FDG-concentration.. Confirmation studies revealed three cases of cancer, including one adenocarcinoma of the lung, one ovarian cancer and one disseminated invasive ductal breast cancer. The 3 other patients had non-malignant lesions (a Bartholin's cyst and two cases of reactive lymph nodes).

Conclusions

^{18}F -FDG-PET/CT is effective in detecting cancer in subjects who are asymptomatic using current screening guidelines. These results further suggest that ^{18}F -FDG-PET/CT may be an appropriate strategy for surveillance of cancer risk in *TP53* mutation carriers.

Introduction

Li-Fraumeni syndrome (LFS) is an autosomal-dominant hereditary cancer predisposition syndrome associated with germline mutations in *TP53* gene (1,2). *TP53* mutation carriers have a 50% risk for development of a wide spectrum of malignant tumors by age 30 (3). Several clinical definitions of LFS have been proposed, identifying incomplete forms termed Li-Fraumeni-like (LFL) (4,5). According to current recommendations (6), referral of a subject for *TP53* mutation testing should be considered if: (i) a proband with a typical LFS/LFL tumor (soft tissue sarcoma, osteosarcoma, brain tumor, pre-menopausal breast cancer, adrenocortical carcinoma, leukemia or bronchioloalveolar adenocarcinoma) before 46 years with at least one close relative with a LFS/LFL tumor before age 56; (ii) a proband with multiple tumors, two of which belong to LFS spectrum and the first one diagnosed before age 46; (iii) a proband with adrenocortical carcinoma or choroid plexus tumor irrespective of family history (9). Germline *TP53* mutations are detected in 29 % of the cases fulfilling these criteria (6).

The clinical heterogeneity of LFS raises complex challenges for the management of cancer risk. The guidelines of the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) propose a risk reduction strategy based on clinical examination, and early detection by imaging with ultrasonography, mammography and breast nuclear magnetic resonance imaging (MRI) for breast cancer screening and colonoscopy for colorectal cancer.

However, this strategy addresses only some of the many cancer types that may occur in LFS families. Thus, alternative screening methods are needed, that may detect a larger spectrum of LFS cancers. A pilot study of screening with ¹⁸F-

Fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography (^{18}F -FDG-PET/CT) has been reported in 15 adult carrying germline *TP53* mutations (8). This study detected three prevalent cases of malignant lesions (20%), suggesting that ^{18}F -FDG-PET/CT may help in improving surveillance of cancer risk in LFS/LFL

In the present study, we describe the use ^{18}F -FDG-PET/CT for cancer detection in 30 clinically asymptomatic *TP53* mutation carriers undergoing continuous follow-up according to NCCN guidelines (2009 version) and with no diagnosis of cancer within two years preceding the study. The study was conducted in a population of patients from Southern Brazil, where LFS is particularly common due to a founder *TP53* mutation, p.R337H (9).

Material and Methods

Patients and selection criteria

Institutional Review Board approval was obtained and all patients included in this study provided informed consent. Thirty patients who carried a *TP53* germline mutation were selected at the Department of Oncogenetics, Hospital A.C. Camargo, São Paulo. Individuals who fulfilled criteria for *TP53* mutation testing were included. Upon positive testing, a total of 30 subjects were consecutively recruited. All patients matched clinical criteria for LFS or LFL (Table 1) and did not receive a cancer diagnosis within two years preceding inclusion in the study. Exclusion criteria were age under 18, refusal to participate in the study and history of metastatic cancer. The study was carried out from March 2009 to March 2011.

¹⁸F-FDG-PET/CT (F¹⁸-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography)

¹⁸F-FDG-PET/CT whole Body scans were performed at the Nuclear Medicine division of the Image Department, Hospital A.C. Camargo, with PET-CT GEMINI Philips equipment. Patients were fasting for 6 hours before undergoing examination. Venous injection of 5.2 MBq/Kg of ¹⁸F-FDG was made after a 30 minutes rest and blood glucose level verification.

Exam protocol started with no contrast CT and was followed by the PET acquisition, from the head up to the medium third of the thigh 90 minutes after injection.

Images were analyzed and interpreted by one out of the 3 nuclear physicians and confirmed by a second.

The criteria used for the evaluation of the examinations were the existence of visually abnormal sites of ¹⁸F-FDG concentration and the quantitative measurement of the SUV (standardize uptake value).

Lesions were better evaluated by a combination of imaging and pathological examination techniques.

Results

A total of 30 patients were included (18 women, 12 men; mean age: 43 years \pm 16.5; age range, 19–76 years), representing a total of 6 families with a diagnosis of Li-Fraumeni or Li-Fraumeni-like Syndrome. The Brazilian founder p.R337H *TP53* mutation was present in 90% of the patients (27/30, belonging to 4 apparently unrelated families). Prior to testing for *TP53*, all patients were already under

surveillance according to NCCN guidelines (7), based on their familial history. None of them showed signs of cancer disease.

Sites with abnormal concentration of ^{18}F -FDG were observed in 20% (6/30) of all patients (Table 1). Among the six patients, findings were further accessed. One lesion was identified in a pelvic location as a Bartholin's cyst and patient was returned to clinical follow-up according to NCCN guidelines (7). In the second case, a woman aged 40, with previous history of breast cancer at age 38 performed ^{18}F -FDG-PET/CT and images were suggestive with diffuse bone metastasis (intramedullary) and liver metastasis of a invasive ductal breast cancer (Figure 1 A). The lesions were not assessed by histopathology.

Of note, this patient underwent chest CT and whole body bone scintigraphy a month before ^{18}F -FDG-PET/CT, with no signs of metastasis.

The four remaining patients were submitted to excision biopsies. In two patients, lesions were confirmed as malignant tumors by pathological examination (PE) (Table 2). An apical left lung lesion was detected in a woman aged 67 with a history of bilateral breast cancer at 51 and 61 years, thyroid cancer at 62 and non-melanoma skin cancer at 65, PE revealed a mixed adenocarcinoma with acinar and bronchioloalveolar features. The patient was staged as IIIB (Figure 1B). She underwent standard chemotherapy and was in remission one year after diagnosis. She relapsed 24 months post-diagnosis, with development of brain metastases. Another patient aged 62 years with no previous history of malignant disease presented with concentrations of ^{18}F -FDG in the abdominal and pelvic area that identified a pelvic mass, peritoneal carcinomatosis and multiple peri-bowel and peri-hepatic implants. PE confirmed a diagnosis of adenocarcinoma of the ovary, stage IV. Among the two

remaining patients, one presented with a remarkably high ^{18}F -FDG- concentration at the mesenteric root and the other showed an axillary lesion. In both cases, biopsy revealed a non-malignant hyperplasia of lymph nodes, of probable reactive origin.

The 27 patients with negative ^{18}F -FDG-PET/CT status or with non-malignant findings were returned to surveillance according to NCCN guidelines. In summary, ^{18}F -FDG-PET/CT imaging detected malignant lesions in three of 30 patients who were non-symptomatic in screening according to NCCN guidelines.

Discussion

The surveillance of patients with germline *TP53* mutations is complex due to the wide range of cancer types related to Li-Fraumeni Syndrome, as well as to lifelong predisposition to cancer. The NCCN guidelines for patient surveillance recommend follow-up using a combination of clinical examination, , breast imaging and colonoscopy (7). However, there is concern that this panoply is insufficient to capture at an early stage the wide range of malignant lesions these patients may develop. In the present study, we have used ^{18}F -FDG-PET/CT to monitor the status of 30 patients belonging to six families with *TP53* mutations and matching at least one of the diagnosis criteria of LFS/LFL. All patients were included in routine LFS/LFL follow-up according to NCCN guidelines and did not show any evidence of cancer at the time of enrolment in the study. We found anomalous ^{18}F -FDG concentration in six of 30 cases with germline *TP53* mutations. Further investigations with imaging techniques and/or pathological examination confirmed a diagnosis of malignant lesions in three cases (10%), while three other patients showed non-cancer lesions. These results demonstrate a high prevalence of

malignant lesions in apparently asymptomatic mutation carriers. They suggest that ^{18}F -FDG-PET/CT may represent a powerful tool for more timely and accurate detection of cancer in *TP53* germline mutation carriers.

Our results are compatible with those of the previous study by Masciari et al. in 2009 (8), which analyzed by ^{18}F -FDG-PET/CT a group of 15 *TP53* mutation carriers (or obligate carriers) with no diagnosis of cancer within five years prior to recruitment. They found malignant lesions in three of them (20%) (two thyroid cancers, stages II and III, and one adenocarcinoma of the esophagus, stage II). These authors also detected abnormal ^{18}F -FDG concentration in five patients, which were found to be non-malignant. Thus, together with these previous results, our study provides evidence for the usefulness of ^{18}F -FDG-PET/CT for cancer surveillance in LFS/LFL.

The analysis of cumulative rates of occurrence of cancers in *TP53* mutation carriers compiled in the IATC *TP53* database (<http://www-p53.iarc.fr>) (10) suggests that, in adulthood, between 1 and 2% of mutation carrier develop cancer by year of age. Our results and those of Masciari et al. (2009) (8) identified that 10 and 20%, respectively, of the subjects had a prevalent cancer. This observation suggest that malignant lesions in *TP53* mutation carriers may occur at a higher rate than expected on the basis of the data compiled in the IARC database. Further studies on the risk of cancer per year of age in *TP53* mutation carriers are needed to understand this discrepancy.

Our observations raise the question of whether ^{18}F -FDG-PET/CT is adequate for detection of very early lesions in *TP53* mutation carriers. It was striking to note that the malignant lesions detected in our study were all at advanced stage, this

observation suggests that, to be effective, ^{18}F -FDG-PET/CT should be repeated at relatively short time intervals of approximately one year. Such a strategy would raise a number of questions with respect to cost-effectiveness and, in particular, to the need of limiting exposure to ionizing radiation in patients with germline *TP53* mutations (11). Common practice discourages the use of radiation in LFS/LFL subjects because they are at risk for the development of second malignancies (12). . To date, there is no evidence that ^{18}F -FDG-PET/CT levels of radiation may represent an additional risk factor in *TP53* germline mutation carriers. However, this question deserves careful, further assessment of the exact nature and level of the risk.

In conclusion, our results add to previous data suggesting that ^{18}F -FDG-PET/CT may be an appropriate means for surveillance of cancer risk in *TP53* mutation carriers. They also suggest that the use of ^{18}F -FDG-PET/CT in research programs is warranted to gain a better understanding of the risk of developing cancer and of the actual rate of cancer development in carriers of *TP53* mutations. Further studies are needed to assess the conditions of use of ^{18}F -FDG-PET/CT in LFS/LFL surveillance strategies.

Acknowledgements

We thank all the patients who participated in this study and also the collaboration of physicians and health professionals from A.C. Camargo Hospital for their help.

References

1. Palmero EI, Achatz MI, Ashton-Prolla P, Olivier M, Hainaut P. Tumor protein 53 mutations and inherited cancer: beyond Li-Fraumeni syndrome. *Curr Opin Oncol*; 22: 64-69.
2. Li FP, Fraumeni JF, Jr. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A familial syndrome? *Ann Intern Med*; 71: 747-752.
3. Birch JM, Alston RD, McNally RJ, Evans DG, Kelsey AM, Harris M, Eden OB, Varley JM. Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations. *Oncogene*; 20: 4621-4628.
4. Olivier M, Goldgar DE, Sodha N, Ohgaki H, Kleihues P, Hainaut P, Eeles RA. Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. *Cancer Res*; 63: 6643-6650.
5. Birch JM, Hartley AL, Tricker KJ, Prosser J, Condie A, Kelsey AM, Harris M, Jones PH, Binchy A, Crowther D, . Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. *Cancer Res*; 54: 1298-1304.
6. Tinat J, Bougeard G, Baert-Desurmont S, Vasseur S, Martin C, Bouvignies E, Caron O, Bressac-de PB, Berthet P, Dugast C, Bonaiti-Pellie C, Stoppa-Lyonnet D, Frebourg T. 2009 version of the Chompret criteria for Li Fraumeni syndrome. *J Clin Oncol*; 27: e108-e109.
7. National Comprehensive Cancer Network. Genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian. <http://www.nccn.org>;

8. Masciari S, Van den Abbeele AD, Diller LR, Rastarhuyeva I, Yap J, Schneider K, Digianni L, Li FP, Fraumeni JF, Jr., Syngal S, Garber JE. F18-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography screening in Li-Fraumeni syndrome. *JAMA*; 299: 1315-1319.
9. Achatz MI, Hainaut P, Ashton-Prolla P. Highly prevalent TP53 mutation predisposing to many cancers in the Brazilian population: a case for newborn screening? *Lancet Oncol*; 10: 920-925.
10. Petitjean A, Achatz MI, Borresen-Dale AL, Hainaut P, Olivier M. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene*; 26: 2157-2165.
11. Boyle JM, Spreadborough AR, Greaves MJ, Birch JM, Varley JM, Scott D. Delayed chromosome changes in gamma-irradiated normal and Li-Fraumeni fibroblasts. *Radiat Res*; 157: 158-165.
12. Limacher JM, Frebourg T, Natarajan-Ame S, Bergerat JP. Two metachronous tumors in the radiotherapy fields of a patient with Li-Fraumeni syndrome. *Int J Cancer*; 96: 238-242.

Tabela 1 - Families, mutations and diagnosis criteria for patients recruited for 18F-FDG PET-CT imaging.

Family	Mutation	Number of patients	Diagnosis criteria ¹	cDNA position
Y12	p.R337H	23	LFS	c.1010G>A
Y27	p.R337H	1	LFL(B)	c.1010G>A
Y99	p.R337H	2	LFL(C)	c.1010G>A
Y97	p.R337H	1	LFS	c.1010G>A
Y79	p.T125T	2	LFL(c)	c.375G>A
Y131	IV8+G>A	1	LFS	Not available

Table 2 Characteristics of patients with positive FDG-PET/CT findings

Patient number	Gender/ age	Previous history of cancer (age)	Concentration area	TP53 Mutation	SUV max	Histopathological or imaging diagnosis
04/	F/67	Breast(51, 61)Thyroid (62) Skin (63)	Lung	p.R337H	1,7	Mixed acinar/bronchiolo-alveolar carcinoma
11	F/62	No	Pelvis	p.T125T	5,1	Adenocarcinoma of the ovary
07	F/40	Breast (38)	Bones	p.R337H	5,8	Metastases of breast cancer
01	F/29	No	Pelvis	p.R337H	2,02	Bartholin cyst
16	F/60	No	Mesenteric root	p.T125T	7,0	Lymph nodes; reactive hyperplasia
20	M/56	thyroid (54)	Right axillary	p.R337H	2,0	Single lymph node; reactive hyperplasia

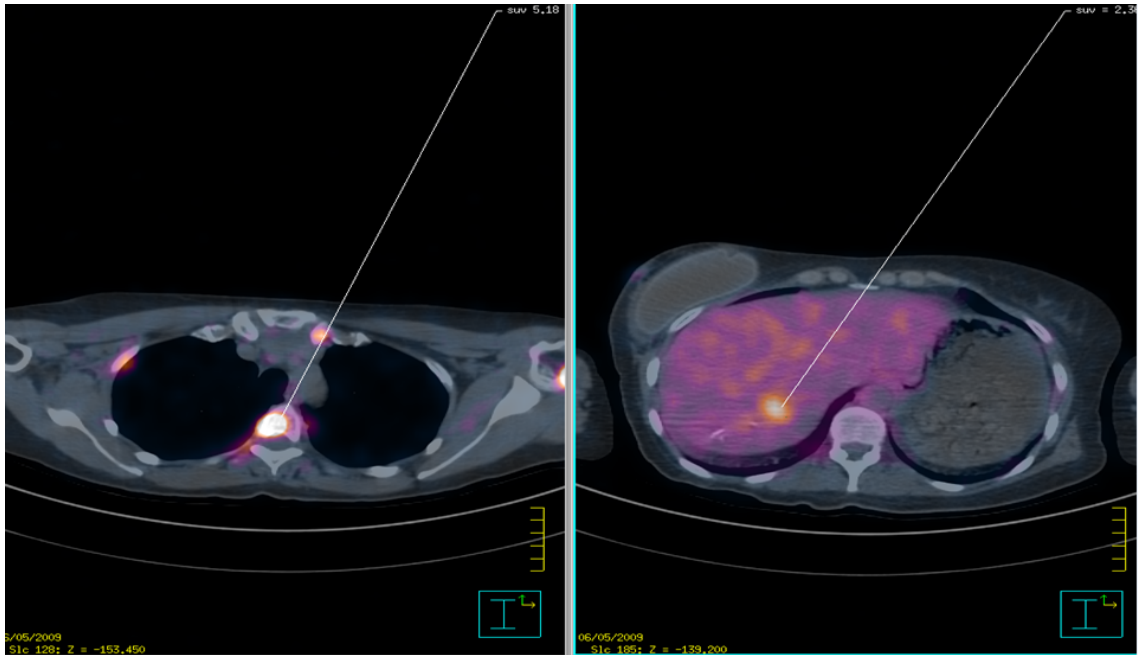


Figure 1A: ^{18}F -FDG-PET/CT imaging consistent with medullary and liver metastasis of a diffusely scattered breast cancer.

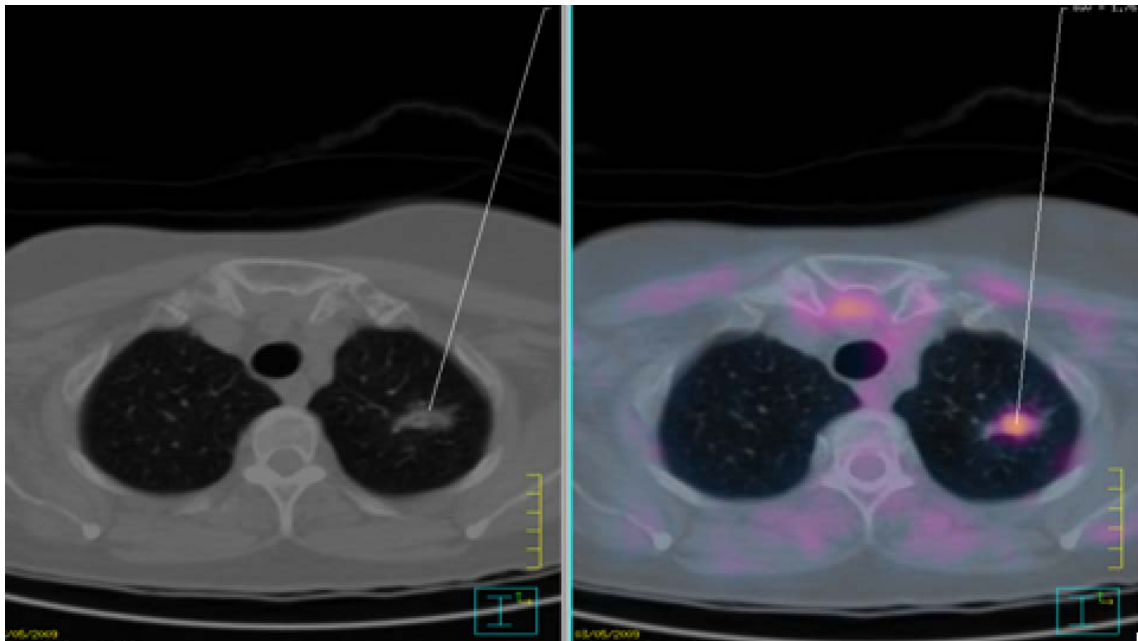


Figure 1B: ^{18}F -FDG uptake in apical left lung lesion was detected in a woman with LF.