



CURSO DE MEDICINA

LUÍZA CAJADO COSTA

**ANÁLISE DAS VARIANTES GENÉTICAS GERMINATIVAS EM *NF1* E *NF2*
CAUSADORAS DE NEUROFIBROMATOSE NA BAHIA**

SALVADOR - BA

2025

LUÍZA CAJADO COSTA

**ANÁLISE DAS VARIANTES GENÉTICAS GERMINATIVAS EM *NF1* E *NF2*
CAUSADORAS DE NEUROFIBROMATOSE NA BAHIA**

Trabalho de Conclusão de Cursos,
apresentado ao curso de graduação em
Medicina da Escola Bahiana de Medicina e
Saúde Pública, para aprovação parcial no 4º
ano do curso de Medicina.

Orientador: Me. Diego Santana Chaves
Geraldo Miguel.

SALVADOR - BA

2025

Dedico o presente trabalho à minha família, aos amigos, ao Grupo de Estudo e Pesquisa Internacional em Genética Médica e ao meu ilustre professor orientador, Me. Diego Miguel, pelo apoio e dedicação ao longo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Dr. Diego Miguel, pelo apoio inestimável, pelas valiosas orientações e pela vasta gama de conhecimentos e oportunidades proporcionadas ao longo desta jornada.

Estendo meus agradecimentos ao grupo de pesquisa EpiGEM, pelo enriquecimento acadêmico e científico que foi determinante para o meu crescimento profissional. À minha família e aos meus amigos, registro minha profunda gratidão pelo apoio, compreensão e encorajamento, que foram indispensáveis para que eu alcançasse este marco.

Agradeço, ainda, às empresas SOPHiA GENETICS e Laboratório DNA, pelo fornecimento dos dados essenciais para a realização desta pesquisa, sem os quais este trabalho não teria sido possível. A todos, o meu sincero muito obrigada!

RESUMO

Introdução: A relação das variantes genéticas patogênicas com as manifestações fenotípicas ainda é, em muitos aspectos, desconhecida no que se refere à neurofibromatose. Nesse contexto, a análise dessas variantes é extremamente relevante, pois se constitui alicerce fundamental para a compreensão e manejo da doença. **Objetivo:** Descrever e relatar as variantes patogênicas germinativas de *NF1* e *NF2* associadas à neurofibromatose na Bahia. **Metodologia:** Trata-se de estudo observacional, tipo corte transversal, de caráter descritivo. A amostra estudada se baseia nos dados genéticos obtidos de painel de sequenciamento de 37 genes associados a cânceres hereditários oriundos de 3.100 probandos encaminhados para este teste genético após serem triados por seus médicos assistentes. Foram selecionadas as características principais das variantes patogênicas e provavelmente patogênicas encontradas no período de agosto de 2017 a maio de 2023 em laboratório privado de médio porte em Salvador/Bahia. Os dados extraídos foram sequenciados a partir da técnica de Sequenciamento de Nova Geração- NGS, pelo exame de painel de risco hereditário de câncer, englobando 37 genes, incluindo *NF1* e *NF2*. Posteriormente, armazenados em banco de dados do *software SOPHIA DDM*, sendo analisados. **Resultados:** Dentre os 3100 indivíduos, foram identificadas variantes patogênicas em heterozigose nos genes *NF1* ou *NF2* em 19 (0,6%), sendo 18 relacionados com *NF1* e apenas um com *NF2*. Foram encontradas 14 variantes distintas de *NF1*, sendo a variante c.5425C>T a de maior prevalência (3 indivíduos). Em *NF2*, foi identificada apenas a variante c.829del, nunca descrita na literatura. Além disso, foram encontrados 4 pacientes com variantes patogênicas novas no gene *NF1*. **Conclusão:** O estudo constatou a frequência amostral de *NF1* de 1:172 probandos, sendo sua prevalência variando de 1:2000-3.500 habitantes, dependendo da população estudada. Além disso, a frequência amostral de *NF2* foi de 1:3100 probandos, sendo sua prevalência mundial estimada em 1:50.000 indivíduos. Essas prevalências encontradas estão dissociadas da realidade mundial, pois a amostra foi selecionada por uma equipe de médicos especialistas que encaminharam apenas os pacientes com forte suspeita clínica para testagem genética. Com isso, faz-se necessário realizar novos estudos para ampliar a amostra e associá-la a variáveis clínicas, a fim de detectar possíveis fatores preditores de prognóstico e resposta terapêutica.

Palavras-Chave: Neurofibromatose; Variantes genéticas; gene *NF1* e *NF2*.

ABSTRACT

Introduction: The correlation between pathogenic genetic variants and phenotypic manifestations remains largely unknown as it relates to neurofibromatosis. **Objective:** In order to elucidate the correlation in question, this study analyses and describes the pathogenic variants associated with neurofibromatosis in Bahia. **Methodology:** This is an analytical cross-sectional observational study of a descriptive nature. The sample studied is based on genetic data obtained from a sequencing panel of 37 genes associated with hereditary cancers from 3,100 probands referred for this genetic test after being screened by their attending physicians. The main characteristics of the pathogenic and probably pathogenic variants found between August 2017 and May 2023 in a medium-sized private laboratory in Salvador/Bahia were selected for analysis. The extracted data were sequenced using Next-Generation Sequencing (NGS) through a hereditary cancer risk panel, encompassing 37 genes, including NF1 and NF2. Subsequently, the data were stored in the SOPHIA DDM software database for analysis. **Results:** Among the 3,100 individuals, pathogenic variants in heterozygosity in the NF1 or NF2 genes were identified in 19 (0.6%), of which 18 were related to NF1 and only one to NF2. Fourteen different NF1 variants were found, with the c.5425C>T variant having the highest prevalence (3 individuals). In NF2, only the c.829del variant was identified, which had not previously been described in the literature. Furthermore, four individuals were identified with new pathogenic variants in the NF1 gene. **Conclusion:** The study identified a sample frequency of NF1 of 1:172 in the population of the state of Bahia referred for the cancer gene panel, while the population frequency of NF1 is 1:2000-5000 live births. Additionally, the sample frequency of NF2 was 1:3100 probands, while the population frequency of NF2 is 1:28,000 live births. These prevalence rates are not consistent with those observed globally, as the sample was selected by a panel of specialist physicians. Further studies are necessary to expand the sample, associate it with clinical variables, and attempt to detect possible predictors of prognosis and therapeutic response.

Keywords: Neurofibromatosis; pathogenic variants; gene *NF1* and *NF2*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Características Clínicas da Neurofibromatose	10
2.1.1 Neurofibromatose tipo 1	10
2.1.2 Neurofibromatose tipo 2.....	10
2.2 Patogênese Molecular	12
2.2.1 Neurofibromatose tipo 1	11
2.2.2 Neurofibromatose tipo 2.....	11
2.3 Classificação das Variantes	13
2.4 Diagnóstico	14
2.4.1 Neurofibromatose tipo 1	14
2.4.2 Neurofibromatose tipo 2.....	14
2.5 Penetrância	15
2.6 Incidência	16
3 METODOLOGIA	17
3.1 Desenho de Estudo	17
3.2 Local e Período	17
3.3 População do Estudo	17
3.4 Instrumentos de Coleta e Fonte de Dados	17
3.5 Materiais	18
3.5.1 Tamanho e seleção amostral.....	18
3.5.2 Variáveis.....	18
3.5.3 sequenciamento e análise das variantes	18

3.6 Plano de Análise	19
3.7 Aspectos Éticos	19
4 RESULTADOS	20
5 DISCUSSÃO	22
6 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26
ANEXO A- PARECER DO CEP.....	31

1 INTRODUÇÃO

A neurofibromatose é um grupo heterogêneo de síndromes cancerígenas hereditárias que não tem predileção por sexo biológico ou raça. Tal doença possui dois tipos principais, sendo a forma mais comum a neurofibromatose tipo 1 seguida pela neurofibromatose tipo 2.¹ A neurofibromatose 1 é uma desordem de caráter multissistêmico de padrão autossômico dominante, com acometimento do sistema nervoso central e/ou periférico, causando alterações dermatológicas características como as máculas café com leite e nódulos de lisch.^{2,3} Ela é causada por variantes patogênicas na linhagem germinativa do gene *NF1* localizado no cromossomo 17q11.2 e possui penetrância aproximadamente completa.

A sua incidência varia de 1:2000-3.500 habitantes a depender da população estudada.^{4,5} Além disso, o gene *NF1* é a um gene supressor de tumor que codifica a neurofibromina, um regulador negativo da via RAS/MAPK, desse modo, sendo considerada uma RASopatia – doenças do desenvolvimento causadas por mutações em genes que controlam a transdução de sinal.⁶

A neurofibromatose tipo 2 (NF2) é caracterizada por *schwannomas* vestibulares bilaterais com padrão autossômico dominante.⁷ Além disso, cursa com lesões múltiplas e progressivas, causando alterações oftalmológicas, cutâneas e do sistema nervoso. Ela é causada por variantes patogênicas na linhagem germinativa do gene *NF2*, localizado no cromossomo 22q, a frequência de NF2 é de 1:28.000 nascidos vivos.⁸ A prevalência mundial estimada de NF2 é de 1:50.000.^{9,10}

Nesse contexto, a análise das variantes genéticas patogênicas é extremamente relevante, pois constitui-se como alicerce fundamental para a compreensão e manejo de doenças como a neurofibromatose.

Assim, o constructo deste estudo vem definir e relatar as variantes patogênicas germinativas encontradas na população baiana. Diante disso, pesquisas, como esta, são indispensáveis para impulsionar os avanços acadêmicos, com o objetivo de alcançar uma compreensão mais aprofundada das doenças genéticas, regionalizando o conhecimento adquirido. Com esse entendimento, esse estudo foi guiado pela seguinte questão de pesquisa: “Quais são as variantes genéticas germinativas patogênicas nos genes *NF1* e *NF2* associadas a neurofibromatose, mais prevalentes na Bahia?”

2 OBJETIVO

Descrever e relatar as variantes patogênicas germinativas de *NF1* e *NF2* associadas a neurofibromatose na Bahia.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Características Clínicas Da Neurofibromatose

3.1.1 Neurofibromatose tipo 1

A neurofibromatose 1 (NF1) é uma doença multissistêmica de amplo espectro. Diante disso, indivíduos que possuam a mesma variante podem diferir fenotipicamente em progressão e gravidade, mesmo sendo membros da mesma família afetados.¹¹⁻¹³

Tabela 1- Frequência das características selecionadas na Neurofibromatose 1.

Recurso	% de pessoas com característica
<i>café-au-lait macules</i> (Máculas café com leite)	>99%
Neurofibromas cutâneos	99%
Anormalidades coroidais	82%-98%
Nódulos de Lisch	>95%
Sardas intertriginosas	85%
Problemas de comportamento	30%-67%
Dificuldades de aprendizagem	50%-60%
Neurofibroma(s) plexiforme (s)	~30%

Fonte: Tabela adaptada do *GeneReviews*.²

3.1.2 Neurofibromatose tipo 2

Detalhes dos achados clínicos típicos na NF2

3.1.2.1 *Schwannoma vestibular*

Os *Schwannomas* são tumores benignos que se desenvolvem nas células de *Schwann*, presentes nas bainhas dos nervos periféricos. Os sintomas iniciais da presença desses tumores incluem zumbido, perda auditiva e disfunção do equilíbrio. O início da deficiência é geralmente insidioso, embora ocasionalmente a perda auditiva possa ocorrer repentinamente.

Com o tempo, os tumores vestibulares se estendem medialmente para o ângulo pontino cerebelar e, se não forem tratados, causam compressão do tronco cerebral e hidrocefalia. *Schwannomas* também podem se desenvolver em outros nervos cranianos e periféricos, com os nervos sensoriais sendo afetados com mais frequência do que os nervos motores.

Crianças e adultos jovens com um *schwannoma* vestibular ou de outro nervo craniano aparentemente isolado deve ser considerado em risco de NF2 “*de novo*” e frequentemente em mosaico.¹⁴

3.1.2.2 Tumores espinhais

Os tumores espinhais, também chamados de Ependiomas, acometem pelo menos dois terços dos indivíduos com NF2.¹⁵ Os tumores espinhais mais comuns são os *schwannomas*, que geralmente se originam dentro do canal intravertebral na raiz dorsal e se estendem medial e lateralmente, assumindo a forma de um "halter". Tumores intramedulares da medula espinhal, como astrocitoma e ependimoma, ocorrem em 5% a 33% dos indivíduos com NF2. A maioria das pessoas com envolvimento da medula espinhal tem tumores múltiplos. Embora tumores múltiplos estejam frequentemente presentes em estudos de imagem, eles permanecem assintomáticos em muitos indivíduos.

3.1.2.3 Meningioma

Aproximadamente metade dos indivíduos com NF2 têm meningiomas em estudos transversais.¹⁶ No entanto, o risco ao longo da vida pode se aproximar de 80%.¹⁷ A maioria é intracraniana, embora ocorram meningiomas espinhais. Os meningiomas NF2 tendem a ocorrer com menos frequência na base do crânio do que supratentorialmente e geralmente são da variedade fibroblástica.^{18,19} Os meningiomas na órbita podem comprimir o nervo óptico e resultar em perda visual. Aqueles na base do crânio podem causar neuropatia craniana, compressão do tronco encefálico e hidrocefalia.

Tabela 2- Frequência das características selecionadas na Neurofibromatose 2.

Recurso	% de pessoas com característica ¹
<i>Schwannomas</i> vestibulares bilaterais	88%
Meningioma	48%
Ependimoma	25%

Fonte: GeneReviews.⁸

3.2 Patogênese molecular

3.2.1 Neurofibromatose tipo 1

O *NF1* codifica a neurofibromina, que ativa a “ras GTPase”, controlando assim a proliferação celular e agindo como um supressor de tumor.^{20,21} A neurofibromina também tem outras funções, incluindo envolvimento na divisão de células somáticas e regulação da atividade da “adenilil-ciclase” e geração de AMP cíclico intracelular.²²

NF1 é um gene grande, e mais de 3.000 variantes causadoras de doenças diferentes já foram descritas.²³ Muitas variantes patogênicas foram observadas repetidamente, mas nenhuma foi encontrada em mais do que uma proporção muito pequena de famílias estudadas. A maioria das variantes causadoras de doenças são novas, e cerca de metade são “*de novo*”, ou seja, que surgiu em um indivíduo pela primeira vez sem associação com hereditariedade.²³ A maioria das variantes patogênicas da linha germinativa no *NF1* descritas parecem causar truncamento grave do produto do gene, frequentemente alterando o *splicing* do mRNA.²³

Mecanismo de patogênese: Perda de função.²

3.2.2 Neurofibromatose tipo 2

NF2 codifica uma grande proteína contendo domínios FERM (proteína 4.1, ezrina, radixina, moesina) conhecidos como *merlin* (paraproteína semelhante à moesina - e zrina - radixina). Embora a função completa da merlin permaneça indefinida, estudos sugerem que a *merlin* coordena a sinalização do receptor do fator de crescimento e a adesão celular. O uso variado dessa atividade organizadora por diferentes tipos de células pode fornecer uma explicação para o espectro único de tumores associados à deficiência de *merlin* em mamíferos.²⁴ No entanto, os mecanismos pelos quais variantes patogênicas na *NF2* causam doenças permanecem obscuros devido em parte às suas múltiplas funções no controle de várias vias de sinalização, incluindo PI3K-AKT, RAC-PAK e EGFR-RAS-ERK. Mais recentemente, um papel crítico na via *Hippo* mediada pela supressão de *Yap* e *Taz* também foi demonstrado.²⁵

Merlin anormal é causado por variantes patogênicas *NF2* somáticas ou constitucionais. Acredita-se que a decadência mediada por *nonsense* pode ser responsável pela falta de produto identificável da maioria dos tipos de variantes; no

entanto, isso não explica por que os fenótipos são mais severos para esses tipos de variantes em comparação com as deleções de genes inteiros.²⁵

Mecanismo de patogênese: Perda de função.⁸

No tocante a Câncer e tumores benignos, têm-se que tumores esporádicos (incluindo *schwannomas* e meningiomas em qualquer local) que ocorrem como tumores únicos, na ausência de quaisquer outros achados de *schwannomatose* relacionada a NF2, frequentemente contêm uma variante patogênica somática em NF2 que não está presente na linha germinativa. Nessas circunstâncias, a predisposição a esses tumores não é hereditária.²⁶

3.3 Classificação das variantes

O Projeto Genoma Humano foi um projeto de pesquisa científica internacional colaborativo que determinou os pares de bases que compõem o DNA humano, sendo capaz de identificar, mapear e sequenciar todos os genes do genoma humano. Diante dessa descoberta, comparando o genoma de um indivíduo com o genoma referência é possível identificar variantes, ou seja, diferenças que são encontradas na sequência do DNA.²⁷

As variantes podem ser classificadas em 4 tipos, considerando a base para polimorfismos: Polimorfismos de nucleotídeo único, Inserção/deleções (indels), variantes no número de cópias e Inversões.²⁸ Assim como, podem ser classificadas em relação a patogenicidade de acordo com o *American College of Medical Genetics and Genomics (ACGM)* em 5 categorias: benignas (que definitivamente não causam doenças), provavelmente benignas (que provavelmente não causam doenças), de significado incerto (que tem efeito desconhecido até o momento), provavelmente patogênicas (que provavelmente causam doença) e patogênicas (que definitivamente causam doenças).²⁹

3.4 Diagnóstico

3.4.1 Neurofibromatose tipo 1

O diagnóstico de Neurofibromatose tipo 1 é estabelecido em um probando, ou seja, indivíduo que iniciou a investigação diagnóstica, com duas ou mais das características descritas na literatura como critérios diagnósticos sugestivos dessa comorbidade.³⁰

Dentre as características clínicas estão:

- Seis ou mais *Café-au-lait macules (CALMs)* >5 mm no maior diâmetro em indivíduos pré-púberes e >15 mm no maior diâmetro em indivíduos pós-púberes
- Sardas nas regiões axilares ou inguinais
- Dois ou mais neurofibromas de qualquer tipo ou um neurofibroma plexiforme
- Glioma da via óptica
- Dois ou mais nódulos de *Lisch* identificados por exame com lâmpada de fenda ou duas ou mais anormalidades coroidais (nódulos brilhantes e irregulares obtidos por tomografia de coerência óptica/imagem de refletância no infravermelho próximo)
- Uma lesão óssea característica, como displasia esfenoidal, arqueamento anterolateral da tíbia ou pseudoartrose de um osso longo
- Um dos pais que preenchem os critérios de diagnóstico para NF1
- Uma variante patogênica da linha germinativa *NF1*

3.4.2 Neurofibromatose tipo 2

O diagnóstico de Neurofibromatose tipo 2 pode ser estabelecido em um probando com um dos seguintes: ⁸

- *Schwannomas* vestibulares bilaterais
- Uma variante patogênica *NF2* idêntica em dois ou mais tumores anatomicamente distintos relacionados a *NF2* (*schwannoma*, meningioma e/ou ependimoma)

Nota: Se a fração do alelo variante (VAF) em um tecido não afetado (por exemplo, sangue) for claramente <50%, o diagnóstico é NF2 mosaico.

- Dois critérios principais
- Um critério principal e dois critérios secundários

Critérios principais

- *Schwannoma* vestibular unilateral
- Um parente de primeiro grau que não seja um irmão com NF2
- Dois ou mais meningiomas
- *Variante patogênica NF2* em um tecido não afetado (por exemplo, sangue)

Nota: Se o VAF for claramente <50%, o diagnóstico é NF2 mosaico.

Critérios menores

- Ependimoma, *schwannoma* (não vestibular)

Nota: Dois ependimomas ou dois *schwannomas* não vestibulares contam como dois critérios menores.

- Um único meningioma

Nota: Dois meningiomas contam como critério principal.

- Catarata subcapsular ou cortical juvenil, hamartoma retiniano, membrana epirretiniana em pessoa com idade <40 anos

Nota: Cada manifestação ocular que ocorre bilateralmente conta apenas como um critério menor.⁸

3.5 Penetrância

A penetrância é definida como a proporção de indivíduos portadores de uma variante genética que apresentam o fenótipo associado. Considera-se penetrância completa quando todos os portadores expressam o fenótipo relacionado, enquanto a penetrância incompleta ocorre quando apenas parte dos indivíduos manifesta o fenótipo, permanecendo os demais assintomáticos.²⁸

Diante desse contexto, estudos de linhagem demonstram que a penetrância do NF1 é quase completa após a infância.³¹ Entretanto, testes moleculares documentaram penetrância incompleta de variantes patogênicas do *NF1* em uma parcela da população do estudo.³²

A penetrância de NF2 é próxima de 100%. Diante disso, praticamente todos os indivíduos que têm uma variante patogênica da linha germinativa desenvolvem a doença ao longo da vida.⁸

3.6 Incidência

Dados epidemiológicos acerca da incidência e prevalência da doença são extremamente difíceis de estarem registrados na comunidade acadêmica. Diante disso, considerando estudos de relevância internacional a incidência estimada de Neurofibromatose tipo 1 é de 1:2000-3.500 nascidos vivos a depender da população estudada.^{4,5} A incidência estimada de Neurofibromatose tipo 2 é de 1:28.000 nascidos vivos na população mundial.^{33,34}

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho De Estudo

Trata-se de um estudo observacional tipo Corte transversal de caráter descritivo que faz parte de um projeto guarda-chuva que avalia pessoas com características tumorais e as variantes germinativas de pacientes com câncer hereditário na Bahia. O projeto reúne uma amostra de indivíduos que realizaram painel genético para avaliação genética germinativa devido à alta suspeita de neurofibromatose.

4.2 Local e período

O estudo foi realizado em um laboratório privado na cidade de Salvador/BA, de porte médio e nível regional, que realizou o painel genético nesses pacientes, no período de agosto de 2017 a fevereiro de 2023.

4.3 População do estudo

A população do estudo baseia-se em indivíduos com suspeita previamente relacionada de forma consistente à doença neurofibromatose que realizaram painel genético para câncer hereditário (sequenciamento de nova geração de 37 genes, mediante preenchimento de protocolo clínico e assinatura do termo de consentimento informado utilizado para fins laboratoriais) no período de agosto de 2017 a maio de 2023.

4.3.1 Critérios de Elegibilidade

Os critérios de inclusão são baseados em indivíduos sem idade ou sexo biológico predefinido que possuam suspeita diagnóstica de neurofibromatose de acordo com O Instituto Nacional de Distúrbios Neurológicos e Derrame (*National Institute of Neurological Disorders and Stroke-NINDS*).

Os critérios de exclusão são baseados em indivíduos com mutação familiar já identificada.

4.4 Instrumentos de coleta e fonte de dados

O banco de dados foi utilizado a partir do *software* SOPHiA DDM™, de posse do laboratório privado que cedeu os dados, o que tornou dispensável a realização de formulário para coleta de dados. O uso desse software facilitou a coleta das variáveis empregadas no estudo sem acesso a identificação dos indivíduos participantes da pesquisa. Diante disso, foi possível acesso à apenas especificidades acerca do

sequenciamento dos genes analisados, visando interpretação melhor das variantes genéticas. Os dados obtidos foram analisados em laboratório privado, o qual realizou o painel genético durante o período supracitado.

4.5 Materiais

4.5.1 Tamanho e seleção amostral

A amostra dos indivíduos foi coligida a partir do processo de amostragem por conveniência. Nesse sentido, as pessoas que foram selecionadas para participação na pesquisa obedecem ao critério de pertencimento ao grupo de pessoas com variantes patogênicas nos genes *NF1* e *NF2*. Essa amostra foi obtida no período de agosto de 2017 a maio de 2023 e o tamanho amostral se refere a esses indivíduos que consentiram em participar da pesquisa.

4.5.2 Variáveis

- Gene: categórica, politômica.
- Variante genética: categórica, politômica.
- Classificação da variante: categórica, politômica.
- Variante conhecida: dicotômica

4.5.3 Sequenciamento e análise das variantes

Inicialmente, houve a coleta do sangue periférico de todos os participantes da pesquisa, sendo extraído apenas o DNA genômico utilizando *QIASymphony*-tecnologia de partículas magnéticas que realiza o isolamento e purificação automatizada de ADN de amostras biológicas- conforme protocolo preestabelecido pelo próprio fabricante, sendo o critério de qualidade o parâmetro mínimo de 50x de profundidade em todas as regiões gênicas analisadas.

A biblioteca de DNA é preparada utilizando-se o kit comercial da *ThermoFischer*TM de PCR multiplex e submetida a sequenciamento de segunda geração (Ion S5). Sequenciamento Sanger é utilizado posteriormente, caso a cobertura de 100% não seja atingida pela técnica anterior. O resultado é uma cobertura de 100% das bases com profundidade acima de 50x nos *exóns* e mínimo de 5pb de região intrônica adjacente. As leituras *paired-end* de 250pb são alinhadas contra o genoma de referência UCSC (hg19) e processadas em dois pipelines de bioinformática validados. As variantes detectadas são classificadas como Patogênicas, Provavelmente Patogênicas, Benignas, Provavelmente Benignas e Variantes de Significado Incerto, de acordo com os critérios do *American College of Medical Genetics*.²⁹

4.6 Plano de análise

Os dados foram armazenados e processados no programa Excel, versão online gratuita, apresentado de forma descritiva com números absolutos e percentuais, através de tabelas e gráficos

4.7 Aspectos éticos

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, através da Plataforma Brasil, sob o CAAE nº 75073223.6.0000.5544, sendo aprovado através do parecer circunstanciado nº 6.459.434. Foram resguardados o sigilo e a confidencialidade das informações individuais coletadas, de acordo com os preceitos da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (MS) e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, que estabelecem diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Além disso, foi utilizado Termo de Anuência de Instituição Parceira assinado pelo laboratório privado e Termo de consentimento informado-TCI, sendo dispensado o uso do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE.

5 RESULTADOS

A pesquisa em questão abrangeu uma amostra de dados genômicos de 19 indivíduos com diagnóstico ou suspeita clínica de neurofibromatose, submetidos a uma testagem molecular genética da linhagem germinativa, através do sequenciamento dos genes *NF1* e *NF2*, no período de agosto de 2017 a maio de 2023.

Diante disso, visando identificar mutações recorrentes que influenciem no tratamento e no manejo clínico adequado, no presente estudo foram coligidos 16 tipos de variantes patogênicas, dentre elas 1 variante relacionada a *NF2* em um único indivíduo e 15 variantes relacionadas a *NF1* em 18 indivíduos. (Tabela 1)

Tabela 1: Número de probandos relacionados com as variantes P/PP encontradas em *NF1* e *NF2* na cidade de Salvador, Bahia, 2024.

Gene/Transcrito	c.DNA	Proteína	Probandos
<i>NF1</i> / NM_000267	c.1721+3A>G	p.(?)	1
	c.1885G>A	p.(Gly629Arg)	1
	c.4402A>G	p.(Ser1468Gly)	1
	c.2540T>C	p.(Leu847Pro)	1
	c.2288T>C	p.(Leu763Pro)	1
	c.5425C>T	p.(Arg1809Cys)	3
	c.4537C>T	p. (Arg1513*)	1
	c.3449C>G	p.(Ser1150*)	1
	c.7285C>T	p. (Arg2429*)	1
	c.7096_7101del	p. (Asn2366_Phe2367del)	1
	c.6791dupA	p. (Tyr2264*)	1*
	c.4983dupT	p. (Asn1662*)	1*
	c.889_889-1dup	p. (Lys297Argfs*21)	1
	c.172del	p. (Leu58Serfs*5)	1
	c.4702dupA	p. (Thr1568Asnfs*33)	2*
<i>NF2</i> / NM_000268	c.829del	p. (Asp277Ilefs*19)	1*

Fonte: Dados dos próprios autores.

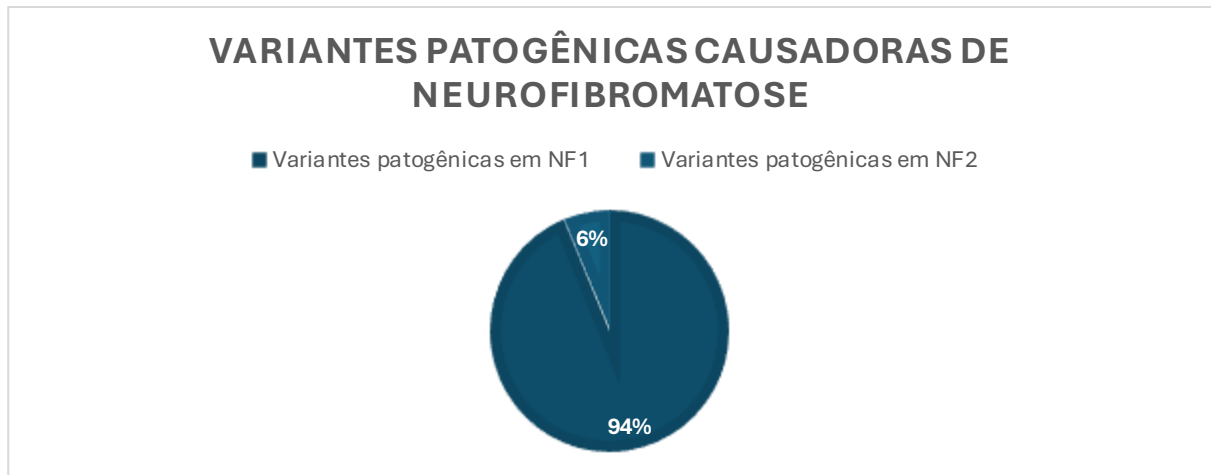
Legenda: *Indivíduos com variantes novas - não previamente descritas na literatura.

Baseado nesse espaço amostral, frente aos indivíduos com variantes patogênicas em *NF1*, constatou-se que dentre as 15 variantes identificadas, três nunca foram descritas na literatura acadêmica. Em relação ao indivíduo com variante patogênica em *NF2*, esta também nunca foi relatada (c.829del). (Figura 1)

Figura 1: Relação entre o número de variantes patogênicas e os genes associados a neurofibromatose na cidade de Salvador, Bahia, 2024.

Fonte: Dados dos próprios autores.

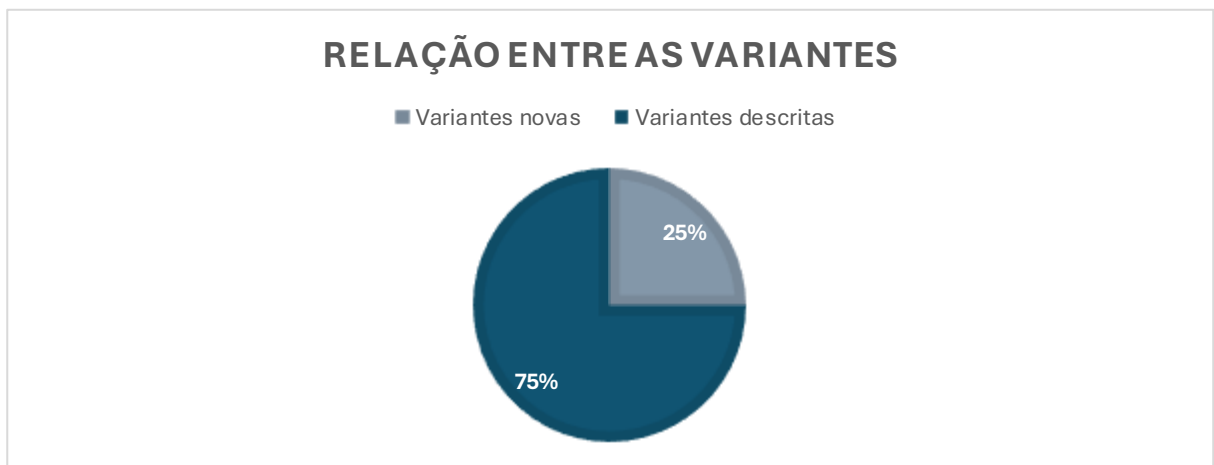
As três variantes patogênicas novas em *NF1* foram encontrados 4 indivíduos. Dentre



eles, dois apresentavam a mesma variante c.4702dupA e os outros dois possuíam variantes diferentes c.889_889-1dup e c.4983dupT. (Figura 2)

Figura 2: Relação entre o número de variantes patogênicas novas e descritas na literatura na cidade de Salvador, Bahia, 2024.

Fonte: Dados dos próprios autores.



O estudo constatou, na população do estado da Bahia encaminhada para a realização do painel genético de câncer, 16 tipos de variantes patogênicas, sendo que 56,25% são do tipo SNP (9 variantes) e 43,75% são do tipo INDEL (7 variantes).⁴⁰ A maioria das variantes já tinha sido descrita na literatura, o que corresponde a 75% (12 variantes). Além disso, considerando os 18 probandos, 38,9% apresentavam mutações *missense*, ~27,7% *nosense*, ~22,2% *frameshift*, ~5,6% *inframe* e ~5,6% intrônica.

As variantes do tipo *missense* foram as mais encontradas em *NF1*, representando ~33,3% delas (5/15 variantes). A substituição p. Arg1809Cys foi a mais prevalente, afetando 16,6% dos probandos (3/18 probandos).

A segunda variante mais frequente encontrada em *NF1* foi c.4702dupA do tipo *frameshift*, nunca descrita na literatura, representando 11,1% dos probandos (2/18 probandos). Essa variante configura uma substituição da Treonina na posição 1568 pela asparagina, resultando em um códon de parada após 33 aminoácidos. A única variante encontrada em *NF2* foi c.829del do tipo *frameshift*, ela gera uma substituição do Ácido aspártico na posição 277 pela isoleucina, resultando em um códon de parada após 19 aminoácidos. Tal variante não foi relatada na literatura acadêmica, sendo, portanto, nova.

6 DISCUSSÃO

A neurofibromatose foi descrita pela primeira vez, há 142 anos, pelo médico *Friederich Daniel Von Recklinghausen*. Apesar disso, diversas informações acerca da sua compreensão permanecem desconhecidas para grande parcela da população, incluindo profissionais da área da saúde. Nesse contexto, o estigma social com relação aos indivíduos portadores de doenças raras genéticas, assim como a neurofibromatose, pode estar associado à causa primária dessa desinformação.³⁵ Diante disso, este estudo foi proposto visando contribuir com a expansão e disseminação do conhecimento sobre essa doença.

A NF1 faz parte de um conjunto de síndromes genéticas humanas denominadas RASopatias, causadas por mutações nos genes codificadores dos componentes da via de sinalização RAS-MAPK, cuja relevância se faz presente no controle do ciclo celular, diferenciação, apoptose e senescência.³⁶ Essa via é fundamental na perspectiva da oncogenética, visto que mutações nela representam a causa base de diversas neoplasias malignas.³⁷ Estudos sugerem que cerca de 30% dos cânceres humanos apresentam mutações nesta via,^{38,39} revelando a importância da temática. Informações acerca dos mecanismos pelos quais as variantes patogênicas no gene *NF2* causam doenças permanecem obscuros. Isso se deve, em parte, aos seus múltiplos papéis no controle de diversas vias de sinalização, por isso, não foi possível descrevê-los.

Ap. Arg1809Cys encontrada em *NF1* [OBJ] foi descrita em 2015 por Pinna, assim [OBJ]⁴¹⁻⁴³[OBJ] divergindo dos dados amostrais encontrados. Tal evidência constitui um alerta sobre os desafios na identificação de associações entre os componentes genéticos e a variabilidade das manifestações clínicas apresentadas. Diante disso, apesar dos esforços de diversos estudos para resolução dessa problemática⁴⁴⁻⁴⁶ alguns entraves continuam presentes, como a grande heterogeneidade e extensão molecular e ausência de *Hotspots* mutacionais.^{45,47}

Sabe-se que esta substituição está relacionada com fenótipos mais leves com manifestações pigmentares- manchas café com leite e nódulos de *Lisch*-, dificuldade de aprendizagem, baixa estatura e estenose pulmonar. Além disso, fenótipos com neurofibromas cutâneos ou neurofibromas plexiformes geralmente estão ausentes.^{41,42,48-50} Esses dados facilitam o aconselhamento genético e descrevem a provável progressão da doença. Além dessa relação da p. Arg1809Cys, apenas mais

três relações genótipo-fenótipo foram descritas, oferecendo biomarcadores para manejo clínico e aconselhamento genético.

A variante intrônica c.1721+3A>G no gene *NF1* foi descrita por dois estudos distintos, utilizando diferentes abordagens metodológicas. Purandare *et al.* utilizou a análise de clivagem de incompatibilidade química e o sequenciamento direto de produtos de PCR amplificados assimetricamente, enquanto Pros *et al.* empregou a abordagem cDNA-SSCP/HD.^{51,52} Ambos os estudos descreveram que essa mutação resulta de uma substituição de A por G três nucleotídeos após o éxon codificador 15 no gene *NF1*, o que causa uma mudança no quadro de leitura translacional, levando à truncação prematura da proteína *NF1* (p. Ala548LeufsX13).

A frequência dos tipos de mutação encontradas no gene *NF1* estão diferentes das outras pesquisas realizadas. No estudo feito por Messiaen e Wimmer foram encontradas as seguintes frequências, em sua série de 1.770 probandos: 27% apresentavam mutações de *splicing*, 26% *frameshift*, 21% sem sentido, 18% *missense* ou 1-multi AA del/dup, 5% deleções grandes, 2% apresentavam alteração no número de cópias intragênicas e 1% tinha mutações complexas únicas.⁵³

Além disso, na pesquisa feita por Sabbagh *et al.*, dentre os 565 casos a distribuição dos diferentes tipos de mutação *NF1* identificados na coorte francesa foi de 7,4% *missense*, 20,9% *nonsense*, 29,0% *Frameshift* de curta deleção e/ou inserção, 1,0% *Inframe* de curta deleção e/ou inserção, 19,6% *Splice frameshift*, 6,54% *Splice inframe*, 3,9% Deleção ou duplicação de único/múltiplos éxon(s), 4,2% deleção completa do gene *NF1*, 3,9% mutações complexas e 3,3% sem mutação.⁴⁵

Na pesquisa Giugliano *et al.* foram identificadas 169 variantes causais diferentes ao longo de *NF1*. Substituições de nucleotídeo único e deleção/inserção única ou muito curta de bases representaram 67,4% (114/169) e 30,2% (51/169) das variantes causais identificadas, respectivamente. Deleções ou duplicações mais amplas no locus *NF1* representaram os 2,4% restantes. Excluindo esta última classe de mutações, as variantes foram distribuídas em quase todos os éxons da *NF1*. As substituições de bases resultaram em 31 variantes *nonsense* (27,2%), 34 variantes *missense* (29,8%) e 42 variantes afetando diferentemente o *splicing* (36,8%).⁵⁴

A única variante encontrada em *NF2* foi c.829del, do tipo *frameshift*, o que configura um achado de grande relevância pelo fato de contribuir para a determinação de uma

possível associação patogênica e favorecer sua descrição molecular. Por isso, tal achado não foi confrontado com referências relacionadas, haja vista que se trata de variante nova.

A amostra estudada se baseia nos dados genéticos oriundos de 3.100 probandos encaminhados para painel de sequenciamento de 37 genes associados a cânceres hereditários. Sabendo disso, as frequências amostrais, tanto de *NF1*, quanto de *NF2* foram calculadas e consideradas mais prevalentes que a frequência populacional descrita na literatura. A frequência amostral de *NF1* foi de 1:172 probandos e a sua prevalência varia de 1:2000-3.500 habitantes a depender da população estudada.^{4,5} Além disso, a frequência amostral de *NF2* foi de 1:3100 probandos e a sua prevalência estimada de 1:50.000 indivíduos. Esse aumento da prevalência pode estar relacionado com a seleção amostral, haja vista que esse processo foi realizado por uma equipe de médicos especialistas que encaminharam apenas os pacientes com forte suspeita clínica para testagem genética.

Além disso, a frequência amostral de *NF2* foi de 1:3100 probandos e a sua prevalência mundial estimada de 1:50.000 indivíduos. Esse aumento da prevalência pode estar relacionado com a seleção amostral, haja vista que esse processo foi realizado por uma equipe de médicos especialistas que encaminharam apenas os pacientes com forte suspeita clínica para testagem genética.

Adicionalmente, a falta de acesso aos dados clínicos impossibilitou a análise da correlação entre mutações específicas e manifestações clínicas, o que se apresenta como uma limitação do estudo. Novas pesquisas são necessárias para expandir a amostra, associando-a a variáveis clínicas, com o objetivo de identificar possíveis fatores preditivos de prognóstico e resposta terapêutica.

7 CONCLUSÃO

Este estudo buscou descrever e relatar as variantes patogênicas germinativas de *NF1* e *NF2* associadas a neurofibromatose na Bahia. Diante da ausência de estudos epidemiológicos nacionais sobre as variantes genéticas patogênicas relacionadas à neurofibromatose, esta pesquisa se destaca por ser pioneiro ao correlacioná-las no Brasil. A pesquisa identificou que as variantes mais prevalentes no estado da Bahia são a c.5425C>T e a c.4702dupA, ambas associadas ao gene *NF1*, sendo que esta última não havia sido previamente descrita na literatura, ressaltando a diversidade genética da população brasileira.

A análise dessas variantes é crucial para o entendimento e manejo da neurofibromatose, possibilitando diagnósticos precoces, aconselhamento genético e um controle terapêutico mais adequado, o que contribui para melhores desfechos clínicos.

REFERÊNCIAS

1. Kresak J, Walsh M. Neurofibromatosis: A Review of NF1, NF2, and Schwannomatosis. *J Pediatr Genet*. 2016 Mar 9;05(02):098–104.
2. Friedman J. Neurofibromatosis 1. In: Adam M, Feldman J, Mirzaa G, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2022.
3. Monroe CL, Dahiya S, Gutmann DH. Dissecting Clinical Heterogeneity in Neurofibromatosis Type 1. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2017 Jan 24;12(1):53–74.
4. Kallionpää RA, Uusitalo E, Leppävirta J, Pöyhönen M, Peltonen S, Peltonen J. Prevalence of neurofibromatosis type 1 in the Finnish population. *Genetics in Medicine*. 2018 Sep;20(9):1082–6.
5. CAREY JC, BATY BJ, JOHNSON JP, MORRISON T, SKOLNICK M, KIVLIN J. The Genetic Aspects of Neurofibromatosis. *Ann N Y Acad Sci*. 1986 Dec 16;486(1):45–56.
6. Ly KI, Blakeley JO. The Diagnosis and Management of Neurofibromatosis Type 1. *Medical Clinics of North America*. 2019 Nov;103(6):1035–54.
7. Yuan R, Wang B, Wang Y, Liu P. Gene Therapy for Neurofibromatosis Type 2-Related Schwannomatosis: Recent Progress, Challenges, and Future Directions. *Oncol Ther*. 2024 May 17;
8. Evans G. NF2-Related Schwannomatosis. In: Adam M, Feldman J, Mirzaa G, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2023.
9. Evans DG, Howard E, Giblin C, Clancy T, Spencer H, Huson SM, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: Estimates from a UK family genetic register service. *Am J Med Genet A*. 2010 Feb 15;152A(2):327–32.
10. Evans DG, Bowers NL, Tobi S, Hartley C, Wallace AJ, King AT, et al. Schwannomatosis: a genetic and epidemiological study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018 Nov;89(11):1215–9.
11. Gutmann DH, Ferner RE, Listernick RH, Korf BR, Wolters PL, Johnson KJ. Neurofibromatosis type 1. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Feb 23;3(1):17004.
12. Monroe CL, Dahiya S, Gutmann DH. Dissecting Clinical Heterogeneity in Neurofibromatosis Type 1. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2017 Jan 24;12(1):53–74.
13. Gianluca T, Legius E, Brems H. Multidisciplinary approach to neurofibromatosis type 1. Gianluca T, Legius E, Brems H, editors. Cham, Switzerland : Springer; 2020.
14. Pathmanaban ON, Sadler K V., Kamaly-Asl ID, King AT, Rutherford SA, Hammerbeck-Ward C, et al. Association of Genetic Predisposition With Solitary

Schwannoma or Meningioma in Children and Young Adults. *JAMA Neurol.* 2017 Sep 1;74(9):1123.

15. Dow G, Biggs N, Evans G, Gillespie J, Ramsden R, King A. Spinal tumors in neurofibromatosis Type 2. Is emerging knowledge of genotype predictive of natural history? *J Neurosurg Spine.* 2005 May;2(5):574–9.
16. Goutagny S, Kalamarides M. Meningiomas and neurofibromatosis. *J Neurooncol.* 2010 Sep 17;99(3):341–7.
17. Smith MJ, Higgs JE, Bowers NL, Halliday D, Paterson J, Gillespie J, et al. Cranial meningiomas in 411 neurofibromatosis type 2 (NF2) patients with proven gene mutations: clear positional effect of mutations, but absence of female severity effect on age at onset. *J Med Genet.* 2011 Apr 1;48(4):261–5.
18. Evans DGR. Neurofibromatosis type 2. *J Med Genet.* 2000 Dec 1;37(12):897–904.
19. Kros J, de Greve K, van Tilborg A, Hop W, Pieterman H, Avezaat C, et al. NF2 status of meningiomas is associated with tumour localization and histology. *J Pathol.* 2001 Jul;194(3):367–72.
20. Rad E, Tee AR. Neurofibromatosis type 1: Fundamental insights into cell signalling and cancer. *Semin Cell Dev Biol.* 2016 Apr;52:39–46.
21. Bergoug M, Doudeau M, Godin F, Mosrin C, Vallée B, Bénédicti H. Neurofibromin Structure, Functions and Regulation. *Cells.* 2020 Oct 27;9(11):2365.
22. Mo J, Moye SL, McKay RM, Le LQ. Neurofibromin and suppression of tumorigenesis: beyond the GAP. *Oncogene.* 2022 Feb 25;41(9):1235–51.
23. Bettgowda C, Upadhayaya M, Evans DG, Kim A, Mathios D, Hanemann CO. Genotype-Phenotype Correlations in Neurofibromatosis and Their Potential Clinical Use. *Neurology.* 2021 Aug 17;97(7_Supplement_1).
24. McClatchey AI, Giovannini M. Membrane organization and tumorigenesis—the NF2 tumor suppressor, Merlin. *Genes Dev.* 2005 Oct 1;19(19):2265–77.
25. Reginensi A, Enderle L, Gregorieff A, Johnson RL, Wrana JL, McNeill H. A critical role for NF2 and the Hippo pathway in branching morphogenesis. *Nat Commun.* 2016 Aug 2;7(1):12309.
26. Mohyuddin A, Ayub Q, Khaliq S, Mansoor A, Mazhar K, Rehman S, et al. HLA polymorphism in six ethnic groups from Pakistan. *Tissue Antigens.* 2002 Jun 11;59(6):492–501.
27. Góes AC de S, Oliveira BVX de. Projeto Genoma Humano: um retrato da construção do conhecimento científico sob a ótica da revista *Ciência Hoje*. *Ciência & Educação (Bauru).* 2014 Sep;20(3):561–77.
28. Mcinnes RR. Thompson & Thompson *Genética Médica*. 8th edição. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan; 2016. 45–54 p.

29. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine* [Internet]. 2015 May 8 [cited 2023 Jun 1];17(5):405–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25741868/>
30. Legius E, Messiaen L, Wolkenstein P, Pancza P, Avery RA, Berman Y, et al. Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. *Genetics in Medicine*. 2021 Aug;23(8):1506–13.
31. Rasmussen SA, Friedman JM. NF1 Gene and Neurofibromatosis 1. *Am J Epidemiol*. 2000 Jan 1;151(1):33–40.
32. Bettgowda C, Upadhyaya M, Evans DG, Kim A, Mathios D, Hanemann CO. Genotype-Phenotype Correlations in Neurofibromatosis and Their Potential Clinical Use. *Neurology*. 2021 Aug 17;97(7_Supplement_1).
33. Evans DG, Howard E, Giblin C, Clancy T, Spencer H, Huson SM, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: Estimates from a UK family genetic register service. *Am J Med Genet A*. 2010 Feb 15;152A(2):327–32.
34. Evans DG, Bowers NL, Tobi S, Hartley C, Wallace AJ, King AT, et al. Schwannomatosis: a genetic and epidemiological study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018 Nov;89(11):1215–9.
35. Domon-Archambault V, Gagnon L, Benoît A, Perreault S. Psychosocial Features of Neurofibromatosis Type 1 in Children and Adolescents. *J Child Neurol*. 2018 Mar 10;33(3):225–32.
36. Rauen KA. The RASopathies. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2013 Aug 31;14(1):355–69.
37. Tidyman WE, Rauen KA. The RASopathies: developmental syndromes of Ras/MAPK pathway dysregulation. *Curr Opin Genet Dev*. 2009 Jun;19(3):230–6.
38. Fernandez-Medarde A, Santos E. Ras in Cancer and Developmental Diseases. *Genes Cancer*. 2011 Mar 1;2(3):344–58.
39. Forbes SA, Bindal N, Bamford S, Cole C, Kok CY, Beare D, et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic Acids Res*. 2011 Jan 1;39(Database):D945–50.
40. National Center for Biotechnology Information. ClinVar. n.d.
41. Pinna V, Lanari V, Daniele P, Consoli F, Agolini E, Margiotti K, et al. p.Arg1809Cys substitution in neurofibromin is associated with a distinctive NF1 phenotype without neurofibromas. *European Journal of Human Genetics*. 2015 Aug 5;23(8):1068–71.
42. Rojnueangnit K, Xie J, Gomes A, Sharp A, Callens T, Chen Y, et al. High Incidence of Noonan Syndrome Features Including Short Stature and Pulmonic

Stenosis in Patients carrying NF1 Missense Mutations Affecting p.Arg1809: Genotype–Phenotype Correlation. *Hum Mutat.* 2015 Nov 21;36(11):1052–63.

43. van Minkelen R, van Bever Y, Kromosoeto JNR, Withagen-Hermans CJ, Nieuwlaat A, Halley DJJ, et al. A clinical and genetic overview of 18 years neurofibromatosis type 1 molecular diagnostics in the Netherlands. *Clin Genet.* 2014 Apr 25;85(4):318–27.

44. Easton DF, Ponder MA, Huson SM, Ponder BA. An analysis of variation in expression of neurofibromatosis (NF) type 1 (NF1): evidence for modifying genes. *Am J Hum Genet.* 1993 Aug;53(2):305–13.

45. Sabbagh A, Pasmant E, Imbard A, Luscan A, Soares M, Blanché H, et al. NF1 molecular characterization and neurofibromatosis type I genotype-phenotype correlation: the French experience. *Hum Mutat.* 2013 Nov;34(11):1510–8.

46. Szudek J, Joe H, Friedman JM. Analysis of intrafamilial phenotypic variation in neurofibromatosis 1 (NF1). *Genet Epidemiol.* 2002 Aug;23(2):150–64.

47. Ars E, Kruyer H, Morell M, Pros E, Serra E, Ravella A, et al. Recurrent mutations in the NF1 gene are common among neurofibromatosis type 1 patients. *J Med Genet.* 2003 Jun;40(6):e82.

48. Upadhyaya M, Huson SM, Davies M, Thomas N, Chuzhanova N, Giovannini S, et al. An Absence of Cutaneous Neurofibromas Associated with a 3-bp Inframe Deletion in Exon 17 of the NF1 Gene (c.2970-2972 delAAT): Evidence of a Clinically Significant NF1 Genotype-Phenotype Correlation. *The American Journal of Human Genetics.* 2007 Jan;80(1):140–51.

49. Santoro C, Maietta A, Giugliano T, Melis D, Perrotta S, Nigro V, et al. Arg1809 substitution in neurofibromin: further evidence of a genotype–phenotype correlation in neurofibromatosis type 1. *European Journal of Human Genetics.* 2015 Oct 13;23(11):1460–1.

50. Bettegowda C, Upadhyaya M, Evans DG, Kim A, Mathios D, Hanemann CO. Genotype-Phenotype Correlations in Neurofibromatosis and Their Potential Clinical Use. *Neurology.* 2021 Aug 17;97(7_Supplement_1).

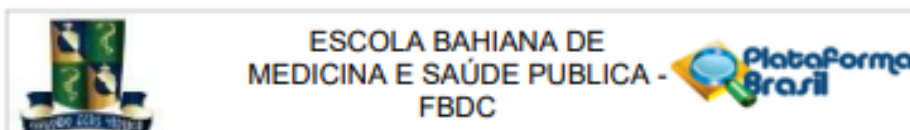
51. Pros E, Gómez C, Martín T, Fábregas P, Serra E, Lázaro C. Nature and mRNA effect of 282 different *NF1* point mutations: focus on splicing alterations. *Hum Mutat.* 2008 Sep;29(9):E173–93.

52. Purandare SM, Lanyon WG, Connor JM. Characterisation of inherited and sporadic mutations in neurofibromatosis type-1. *Hum Mol Genet.* 1994;3(7):1109–15.

53. 'Wimmer K, 'Messiaen L. NF1 mutational spectrum. In: Kaufmann D, editor. *Neurofibromatoses.* Basel: Karger; 2008. p. 63–77.

54. Giugliano T, Santoro C, Torella A, Del Vecchio Blanco F, Grandone A, Onore ME, et al. Clinical and Genetic Findings in Children with Neurofibromatosis Type 1, Legius Syndrome, and Other Related Neurocutaneous Disorders. *Genes (Basel).* 2019 Jul 31;10(8).

ANEXO A – PARECER DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Características tumorais e as variantes germinativas de pacientes com câncer hereditário na Bahia

Pesquisador: CRISTINA SALLES

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 1

CAAE: 75073223.6.0000.5544

Instituição Proponente: Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências - FUNDECI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.459.434

Apresentação do Projeto:

O câncer pode ser descrito como um crescimento celular anormal originado por uma célula que sofre diversas mutações, as quais lhe conferem as marcas registradas do câncer – características comuns às células neoplásicas, como a evasão ao sistema imune, a angiogênese sustentada e a autossuficiência nos sinais de crescimento. Essas marcas encontradas nas células tumorais são responsáveis pela alta capacidade de replicação celular e pela resistência aos mecanismos de defesa e antitumorais do organismo. Em 2020, estima-se que houve cerca de 19 milhões de novos casos de câncer e quase 10 milhões de mortes relacionadas à doença, sendo o continente americano responsável por 20,9% da incidência e 14,2% da mortalidade global. A patologia é a segunda maior causa de morte no mundo, atrás apenas das doenças cardiovasculares. Na população feminina, o Câncer de Mama é o de maior incidência, estimado em 73 mil (30,1%) casos, seguido do Câncer de Cólon e Reto, com 23 mil (9,7%) casos novos estimados. Entre os homens, o Câncer de Próstata será o mais incidente, com 71 mil (30%) casos novos e, em seguida, o Câncer de Cólon e Reto, com quase 22 mil (9,2%) casos. O câncer é uma doença genômica, visto que é resultado de mutações cumulativas no DNA de uma célula normal. A carcinogênese pode envolver centenas de genes e está relacionada, principalmente aos proto-oncogenes, genes supressores de tumor e genes de reparo de DNA. A maioria dessas mutações são somáticas, o que significa que

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274

Bairro: BROTAS

CEP: 40.285-001

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)2101-1921

E-mail: cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: E459-434

ocorrem ao acaso ao longo da vida e estão presentes apenas nas células tumorais, não sendo relacionadas à hereditariedade. Porém, existem, também, as mutações germinativas, que são herdadas verticalmente, ou seja, passadas de pais para filhos, e causam as síndromes de predisposição hereditária ao câncer. O descobrimento e esclarecimento dessas síndromes e dos genes que as causam permitiu uma melhor compreensão do desenvolvimento do câncer, assim como melhoria de desfechos clínicos, por meio da prevenção através de mudança de hábitos e padrões de rastreamento, terapias específicas e indicações de cirurgias profiláticas.

Objetivo da Pesquisa:

Primário:

Descrever as características tumorais, familiares e as variantes genéticas germinativas patogênicas causadoras de câncer hereditário em pacientes do estado da Bahia.

Secundários:

Estimar o impacto da avaliação clínica na suspeição de casos de cânceres hereditários pelos médicos assistentes (oncologistas, mastologistas, geneticistas).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os pesquisadores informam:

Riscos: O principal risco seria o vazamento de informações que permitam a identificação dos indivíduos da amostra. Com relação ao vazamento das informações dos pacientes, a equipe tomará todas as precauções para minimizar este risco, garantindo que o sigilo dos dados do paciente bem como seu anonimato serão resguardados em todas as etapas e após término do estudo. Todas as informações prestadas serão tratadas com alto rigor de confidencialidade e permanecerão compiladas em um banco de dados protegido por senha cujo acesso somente será permitido a equipe de pesquisa. Os dados analisados também já estarão dissociados da identificação dos indivíduos no momento da sua coleta.

Benefícios: Conhecer o perfil das variantes genéticas na população Baiana que estão sabidamente associadas ao aumento de risco de desenvolvimento de câncer, o que possibilita a tomada de medidas populacionais de redução de risco e desenvolvimento de métodos eficazes de rastreamento para detecção precoce do principais tumores hereditários.

Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE): Os pesquisadores solicitam dispensa do TCLE e

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274	CEP: 40.285-001
Bairro: BROTAS	
UF: BA	Município: SALVADOR
Telefone: (71)2101-1921	E-mail: cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: E.459-434

justificam que, o termo de consentimento informado anexado na submissão ao CEP não faz parte do projeto de pesquisa. O documento em questão é utilizado pela instituição parceira (Laboratório que assinou o termo de anuência anexado ao projeto) no momento da assistência aos pacientes, imediatamente antes da coleta dos dados e da amostra biológica. Reiteramos a nossa solicitação de dispensa de termo de consentimento livre esclarecido (TCLE), pois o estudo trata-se de uma revisão de laudos já emitidos pela instituição parceira à pacientes oncológicos cuja identificação já está inacessível aos pesquisadores. Portanto, acreditamos que a necessidade do TCLE trará mais riscos do que benefícios, pois haveria a necessidade de quebra de sigilo da identificação dos indivíduos que possuem diagnóstico de doença oncológica. Seguindo o princípio da não maleficência, o nosso contato muitos meses após a liberação do exame traria malefícios aos pacientes oncológicos, além do fato de que muitos deles já faleceram, e o contato com a família do ente falecido também seria prejudicial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Metodologia:

Desenho de pesquisa: Estudo de Corte transversal – observacional analítico.

Local: Centro Laboratorial de Genética e Biologia Molecular em Salvador, Bahia.

População: pacientes que realizaram painel genético para câncer hereditário (sequenciamento de nova geração de 37 genes, mediante preenchimento de protocolo clínico e assinatura do termo de consentimento informado utilizado para fins laboratoriais) no período de agosto de 2017 a maio de 2023.

Amostra: n=3100 amostra de conveniência. Os dados coletados serão oriundos de todos os pacientes que realizaram os testes genéticos no período citado.

Critério de Inclusão: resultado de exames de indivíduos com síndrome de câncer de mama e ovário hereditário que foram referenciados para avaliação genética a partir de avaliação clínica de seus médicos assistentes (oncologistas, mastologistas e ginecologistas) do estado da Bahia;

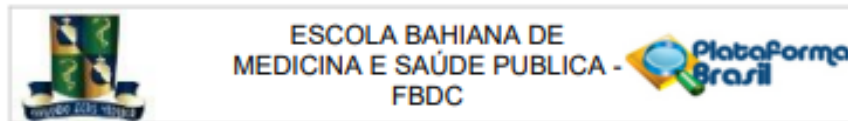
Indivíduos que autorizaram o uso dos dados mediante assinatura do TCI no laboratório privado no momento da coleta dos testes genéticos.

Critério de Exclusão: Pacientes com mutação familiar já identificada.;

Indivíduos que não autorizaram o uso dos dados mediante assinatura do TCI no laboratório privado no momento da coleta dos testes genéticos.

Desenvolvimento

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274	CEP: 40.285-001
Bairro: BRÓTAS	
UF: BA	Município: SALVADOR
Telefone: (71)2101-1921	E-mail: cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: E-458/23M

Os pacientes foram encaminhados para a realização do referido teste por seus respectivos médicos assistentes devido a suspeita clínica de uma Síndrome de Predisposição ao Câncer. Foi realizado sequenciamento de nova geração (NGS) em fragmentos de 100-150 pb (paired-end) obtidos por captura de alvos enriquecidos de 37 genes nucleares do genoma humano. Os dados foram obtidos dos registros em base de dados do laboratório. As variáveis de pesquisa serão: Gene: categórica, politémica. • Variante genética: categórica, politémica. • Classificação da variante: categórica, politémica. • Sexo: categórica, dicotômica. • Idade: quantitativa, descontínua. • História familiar: categórica e dicotômica. • Procedência: categórica, politémica. • Ancestralidade: categórica, politémica. • Diagnóstico: categórica, politémica. • Tipo histológico de câncer: categórica, politémica. Após a divisão em grupos serão realizadas análises descritivas e aplicação de testes estatísticos específicos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

* Folha de rosto: adequadamente apresentada, assinada por pesquisador responsável e responsável institucional da EBMSM;

* Termo de anuência: apresenta anuência da Pró-Reitoria de Pesquisa, Inovação e Pós-Graduação Stricto Sensu da EBMSM; anuência da instituição coparticipante DNA Centro Laboratorial de Genética e Imunologia Molecular LTDA;

* Cronograma: coleta de dados prevista para 01/12/2023 a 01/03/2024. Referem envio de relatório ao CEP;

* TCLE: solicita dispensa e justificam que estudo trata-se de uma revisão de laudos já emitidos pela instituição parceira à pacientes oncológicos cuja identificação já está inacessível aos pesquisadores;

* Orçamento descrito na PB: R\$ 8.500,00 (orçamento anexo R\$9.000,00). Financiamento próprio.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise bioética desse protocolo de pesquisa, de acordo com a Resolução 466/12 do CNS/MS e documentos afins, indicamos aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o CEP-Bahiana, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274
 Bairro: BROTAS CEP: 40.285-001
 UF: BA Município: SALVADOR
 Telefone: (71)2101-1921 E-mail: cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: 6.459.434

466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação deste protocolo de pesquisa dentro dos objetivos e metodologia proposta.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1944949.pdf	18/10/2023 10:40:44		Aceito
Outros	Carta_do_pesquisador_ao_CEP_assinado.pdf	18/10/2023 10:39:30	DIEGO SANTANA CHAVES GERALDO MIGUEL	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTA_DE_ANUENCIA_ESCOLA_BAHIANA_DE_MEDICINA.pdf	12/09/2023 15:34:27	DIEGO SANTANA CHAVES GERALDO MIGUEL	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO_ASSINADA_PESQUISADOR_E_INSTITUICAO.pdf	12/09/2023 15:18:45	DIEGO SANTANA CHAVES GERALDO MIGUEL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DE_PESQUISA_COMPLETO.pdf	18/08/2023 14:09:01	DIEGO SANTANA CHAVES GERALDO MIGUEL	Aceito
Orçamento	orcamento_detalhado.xlsx	18/08/2023 14:08:44	DIEGO SANTANA CHAVES GERALDO MIGUEL	Aceito
Outros	FORMULARIO_CLINICO_PROTOCOLO.pdf	18/08/2023 12:55:49	DIEGO SANTANA CHAVES GERALDO MIGUEL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_INFORMADO_TCI.pdf	18/08/2023 12:54:57	DIEGO SANTANA CHAVES GERALDO MIGUEL	Aceito
Declaração de concordância	TERMO_DE_ANUENCIA_DE_INSTITUICAO_PARCEIRA.pdf	18/08/2023 12:54:42	DIEGO SANTANA CHAVES GERALDO MIGUEL	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274

Bairro: BROTAS

CEP: 40.285-001

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)2101-1921

E-mail: cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: E-459-434

SALVADOR, 25 de Outubro de 2023

Assinado por:
Nilton Jorge Dias
(Coordenador(a))

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274
Bairro: BROTAS CEP: 40.285-001
UF: BA Município: SALVADOR
Telefone: (71)2101-1921 E-mail: cep@bahiana.edu.br