

Análise de haplótipo em portadores da variante BRCA1:c.3331_3334del em uma amostra proveniente do estado da Bahia, Brasil

Haplotype analysis in carriers of the BRCA1:c.3331_3334del variant in a sample from the state of Bahia, Brazil

Tassila Santana Araujo^{1,2}, Maria Betânia Pereira Toralles^{1,2}, Taisa Manuela Bonfim Machado Lopes²

¹Biomédica, Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia – UFBA; ²Médica, Mestre, Doutora em Medicina e Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA, Professora Titular de Genética Clínica, Faculdade de Medicina da Bahia, Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia – UFBA; ³Bióloga, Mestre, Doutora, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Bióloga, Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular – LABIMUNO, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia – UFBA.

Resumo

Introdução: o câncer de mama é o tipo mais comum entre as mulheres e corresponde a cerca de 30% de todos os diagnósticos de câncer feminino. O câncer de ovário representa cerca de 3%. Estima-se que entre 5% e 10% dos casos de câncer de mama e ovário estejam relacionados a fatores hereditários. O gene *BRCA1*, diretamente envolvido no reparo do DNA e com papel crucial na manutenção da estabilidade genômica, é um dos genes mais associados à síndrome de predisposição a câncer de mama e a câncer de ovário hereditários (HBOC). Mutações germinativas nesse gene podem resultar em um risco cumulativo médio de 55% a 70% para o desenvolvimento de câncer de mama e cerca de 39% para câncer de ovário ao longo da vida. **Objetivo:** deste estudo foi associar haplótipos identificados no gene *BRCA1* com uma possível origem comum para a mutação c.3331_3334del, na Bahia. **Metodologia:** foram avaliados 6 marcadores microssatélites (STRs) ao longo do cromossomo 17 (THRA1, D17S1327, D17S800, D17S855, D17S1323, D17S1323), através da técnica de análise de fragmentos em 12 pacientes com HBOC não aparentados. **Resultados:** revelaram um haplótipo mais frequente entre os pacientes, com a combinação dos seguintes alelos: THRA1-164 (83,33%), D17S800-240 (50%), D17S855-150 (58,33%), D17S1327-150 (91,67%) e D17S1323-130 (83,33%). Apenas o marcador D17S579 apresentou um perfil mais heterogêneo. Contudo, 5 dos 12 pacientes (33,33%) apresentavam o alelo 120pb. **Conclusão:** a presença de um haplótipo comum entre os pacientes avaliados pode estar associada a um efeito fundador e pode indicar origem única para a dadarecorrência da variante *BRCA1*: c.3331_3334del na população da Bahia. A investigação dessa mutação pode ser considerada para a implantação de triagem mutacional nos pacientes com suspeita de HBOC, nessa população.

Palavras-chave: Marcadores STR; HBOC; efeito fundador.

Abstract

Introduction: Breast cancer is the most common type of cancer among women and accounts for approximately 30% of all female cancer diagnoses. Ovarian cancer accounts for approximately 3%. It is estimated that between 5% and 10% of breast and ovarian cancer cases are related to hereditary factors. The *BRCA1* gene, directly involved in DNA repair and playing a crucial role in maintaining genomic stability, is one of the genes most associated with hereditary breast cancer and ovarian cancer (HBOC) predisposition syndrome. Germline mutations in this gene can result in an average cumulative lifetime risk of 55% to 70% for developing breast cancer and approximately 39% for ovarian cancer. **Objective:** associating haplotypes identified in the *BRCA1* gene with a possible common origin for the c.3331_3334del mutation in Bahia. **Methodology:** Six microsatellite markers (STRs) along chromosome 17 (THRA1, D17S1327, D17S800, D17S855, D17S1323, D17S1323) were evaluated through fragment analysis in 12 unrelated patients with HBOC. **Results:** A more frequent haplotype was revealed among patients, with the combination of the following alleles: THRA1-164 (83.33%), D17S800-240 (50%), D17S855-150 (58.33%), D17S1327-150 (91.67%) and D17S1323-130 (83.33%). Only marker D17S579 presented a more heterogeneous profile. However, 5 of the 12 patients (33.33%) presented the 120-bp allele. **Conclusion:** The presence of a common haplotype among the evaluated patients may be associated with a founder effect and may indicate a single origin for the recurrence of the *BRCA1* variant: c.3331_3334del in the Bahia population. Investigation of this mutation can be considered for the implementation of mutational screening in patients suspected of having HBOC in this population.

Keywords: STR markers; HBOC; founder effect.

INTRODUÇÃO

O câncer de mama (CM) é o tipo mais comum entre as mulheres, sendo uma doença extremamente complexa, heterogênea e multifatorial, caracterizada por interações de fatores genéticos e não genéticos. Em 2023, foram registrados 73.610 novos casos da

Correspondente/ Corresponding: Maria Betânia Pereira Toralles – Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Universidade Federal da Bahia. – End: Av. Reitor Miguel Calmon, s/n Vale do Canela. CEP:40110-100. Salvador (BA). – E-mail: m.toralles@uol.com.br

doença no Brasil, correspondendo a 30,1% de todos os diagnósticos de câncer feminino. Já o câncer de ovário apresentou 7.310 novos casos no mesmo ano, representando cerca de 3% do total de diagnósticos oncológicos em mulheres. Em relação à mortalidade, em 2021, o câncer de mama foi responsável por 18.139 óbitos entre mulheres no país, o que equivale a 16,8% de todas as mortes por câncer nesse grupo¹.

Estima-se que entre 5% e 10% dos casos de câncer de mama e de ovário estejam relacionados a fatores hereditários²⁻⁴. O gene *BRCA1* (MIM 113705) está diretamente envolvido no reparo do DNA, desempenhando um papel crucial na manutenção da estabilidade genômica e atuando em processos como transcrição gênica, reparo de quebras de fita dupla e recombinação homóloga⁵. Mutações germinativas nesse gene podem resultar em um risco cumulativo médio de 55% a 70% para o desenvolvimento de câncer de mama e cerca de 40% para câncer de ovário, ao longo da vida. Esse risco pode variar de acordo com o tipo específico de mutação, com o histórico familiar e com fatores ambientais⁶.

As mutações no gene *BRCA1* são responsáveis por uma parcela significativa dos casos de câncer de mama hereditário, apresentando variações marcantes conforme a origem étnica e geográfica⁷. Tais alterações estão associadas à síndrome do câncer de mama e de ovário hereditária (HBOC), sendo a mutação c.3331_3334del (também conhecida como: 3450del4⁸ uma das mais relevantes e recorrentes no gene *BRCA1*⁹. Quanto a sua distribuição, ela é amplamente encontrada na Europa, na América Latina, no Oriente Médio e no Norte da África, em diversas populações ao redor do mundo, especialmente entre famílias com HBOC10-13. Estudos realizados por Tuazon et al.¹⁰ (2020) sugerem que essa mutação teve origem na Península Ibérica, sendo posteriormente introduzida na Colômbia e em outras regiões da América do Sul durante o período da colonização europeia.

A mutação c.3331_3334del já foi constatada anteriormente no Nordeste do Brasil, onde estudos apontam uma elevada prevalência de variantes recorrentes, sendo essa mutação a mais comum. Em outro estudo conduzido no Brasil, a variante foi identificada como recorrente entre pacientes com câncer de mama não aparentados e com ascendência africana¹⁴⁻¹⁵. Para investigar a origem dessa variante recorrente na população da Bahia, foi realizada a análise do perfil de haplótipos em pacientes portadores da mutação *BRCA1*:c.3331_3334del.

METODOLOGIA

População estudada

Foram selecionados 28 pacientes acompanhados no Ambulatório de Oncogenética do Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular (LABIMUNO), no Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia. Todos os indivíduos selecionados eram heterozigotos para a variante patogênica c.3331_3334del no gene *BRCA1*,

genótipo confirmado pelo sequenciamento de Sanger. Desses, foram selecionados 12 para análise de haplótipo. Todos aceitaram participar do estudo e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O presente projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, com o Parecer nº:1.382.884.

Anamnese

Todos os pacientes foram submetidos ao aconselhamento genético. Durante a consulta de aconselhamento, foi realizada a coleta de dados pessoais, clínicos, de auto-denominação racial (de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), de perfil anatomopatológico e de imuno-histoquímica.

Seleção de marcadores moleculares

A mutação *BRCA1*:c.3331_3334del está localizada na posição 43092197-43092203 (GRCh38 – hg38). Em vista disso, foram selecionados 6 marcadores do tipo microssatélites (STR) ao longo do cromossomo 17: THRA1(40091145), D17S800 (40900006), D17S855 (43052713), D17S1323 (43086027), D17S1327 (43223439) e D17S579 (44729444). Sua localização está representada na Figura 1. A seleção desses marcadores se baseou em estudos prévios disponíveis na literatura e em informações do banco de dados UCSC Genome Browser (<https://genome.ucsc.edu/>)¹⁶. As sequências dos iniciadores (*primers*) são informações sumarizadas na Tabela 1.

Para o DNA mitocondrial (mtDNA), foi selecionada a região hipervariável 1, uma vez que essa região gênica apresenta a maior parte da variação de sequência entre indivíduos. O pequeno tamanho e a variabilidade interpessoal relativamente alta das regiões HVS-1 são características muito úteis para fins de testes forenses¹⁷.

Extração de DNA

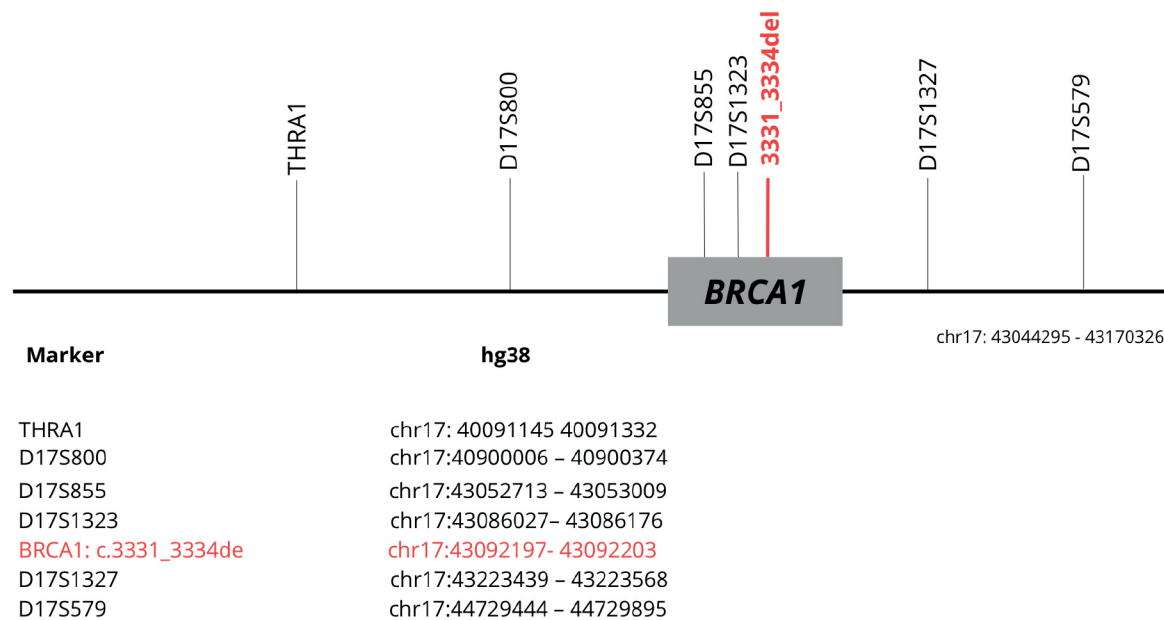
Para o processo de extração de DNA das amostras analisadas, foi utilizado o *kit* do BIOPUR. Todas as etapas foram realizadas seguindo-se a recomendação do protocolo de execução do *kit* comercial BIOPUR MINI SPIN PLUS (BP101-250) da Mobius Life Science.

Amplificação das regiões-alvo de análise no DNA através da técnica da PCR

Para todos os marcadores, a PCR foi padronizada com os seguintes componentes: Tampão (buffer) 5x, MgCl₂ – 25mM, par de primer – 2,5 mM, mix de dNTPs – 1,25mM e Taq DNA Polimerase (Gold Promega). A reação iniciou-se a partir de 100 ng/μL de DNA genômico de cada paciente. Foi utilizado um protocolo de ciclagem *touchdown* para a realização das amplificações, seguindo-se a seguinte programação: desnaturação inicial por 2min, a 95°C, seguida de 20 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s, anelamento a 58°C (com decréscimo de 0,5°C a cada ciclo) por 30s, e extensão a 72°C por 50s. Seguiram-se mais 20 ciclos de

desnaturação a 94°C por 30s, anelamento a 50°C por 30s, e os fragmentos gerados estão sumarizados na Tabela 1. e extensão a 72°C por 50s. A reação foi finalizada com uma extensão final de 5min a 72°C. Os *primers* utilizados

Figura 1 – Representação gráfica da localização dos marcadores e da mutação estudada



Fonte: as autoras.

Tabela 1 – Caracterização dos marcadores STRs utilizados

STR	PRIMER	TAMANHO DOS FRAGMENTOS
THRA1	F: CGGGCAGCATAGCATTGCCT R: CTGCGCTTTGCACTATTGGG	162 – 174 bps
D17S800	F: ATAGACTGTGTACTGGGCATTGA R: GGAGCCATGAATGATTTACA	237 – 275 bps
D17S855	F: ACACAGACTTGTCTACTGCC R: GCATGGCCTTTAGAAAGTGG	134 – 150 bps
D17S1323	F: TAGGAGATGGATTATTGGTG R: AAGCAACTTTGCAATGAGTG	128 – 170 bps
D17S1327	F: TTCACAACCTAAGGTAAGATAGG R: CTAAGGAGTTTCTCTGGAC	130 – 158 bps
D17S579	F: CAGTTTCATACCAAGTTCCT R: AGTCCTGTAGACAAAACCTG	108 – 127 bps

Fonte: as autoras.

Amplificação do DNA através da técnica da PCR DNA mitocondrial

As amplificações iniciais por PCR foram realizadas utilizando-se um par de *primers*: 5'-CAC CAT TAG CAC CCA AAG CAT-3', localizado na posição 15978, e 5'-TGA TTT CAC GGA GGA TGG TG-3', localizado na posição 16420 da região hipervariável 1 (HVS1). As amplificações foram realizadas em 48 µL de volume final da reação, contendo 2 µL para cada iniciador (2,5mM), 4 µL de dNTP (1,25mM), 0,4 µL de Taq DNA polimerase (Promega®), 5 µL Buffer 20mM e 35 µL água ultrapura livre de DNase e RNase. Em cada tubo de PCR, foram adicionados 2 µL

de amostra de DNA. Para as amostras com o valor da concentração abaixo de 50ng/µL, foram adicionados 3 µL por reação. O programa de amplificação executou uma etapa inicial de desnaturação de 4 minutos a 94°C, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 47°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 1:10 minutos.

Eletroforese em gel

A verificação da eficácia da PCR foi realizada através de eletroforese em gel de agarose 2%, corada com brometo de etídio na concentração de 10mg/mL, sendo utilizado

0,3µL na composição de cada gel e usando-se o tampão TBE 1X para as corridas de eletroforese.

Purificação do produto amplificado da PCR de DNA mitocondrial

Para a purificação, utilizaram-se 2 µL do reagente e 5 µL do produto de reação de PCR, totalizando um volume de 7 µL. Para degradar os *primers* e nucleotídeos restantes, o purificado foi incubado a 37°C por 15 minutos no termociclador, e mais 15 minutos no mesmo ciclo, a 80°C, para inativar o reagente. O ExoSAP-IT™ tem como finalidade tratar produtos sem perda de amostra pela remoção de *primers* e nucleotídeos não utilizados.

Eletroforese capilar para análise de fragmento para os marcadores STR

A reação de análise de fragmentos foi realizada após a confirmação da amplificação através da eletroforese em gel. O volume final total da reação foi de 10 µL. Para cada amostra avaliada, foram adicionados 1 µL do produto da PCR, 0,3 µL do padrão de peso molecular GeneScan™ LIZ 500 (ThermoFisher®) e 8,7 µL de formamida Hi-Di. A reação foi submetida à desnaturação em termociclador (95°C por 5 minutos); em seguida, foi feito o choque térmico, por 1 minuto, para a manutenção da configuração do DNA em fita única. A separação dos fragmentos foi realizada através de eletroforese capilar no sequenciador de modelo SeqStudio (ThermoFisher®).

Sequenciamento da região HVS-I do mtDNA

As reações de sequenciamento foram realizadas em 9,5 µL de volume final, contendo 0,5 µL de BigDye, 4 µL de Buffer, 0,5 µL de *primer*: 5'-CAC CAT TAG CAC CCA AAG CAT-3', localizada na posição 15978. e 5'-TGA TTT CAC GGA TGG TG-3', localizada na posição 16420, para a região hipervariável 1 (HVS1), e 4,5 µL de água ultrapura, livre de DNase e RNase. Em cada poço, foram adicionados 3,5 µL do produto purificado. O programa de amplificação executou uma etapa inicial de desnaturação de 1 minuto a 95°C e 10 segundos a 96°C, anelamento a 50°C por 10 segundos e extensão a 60°C por 4 minutos, seguida de 34 ciclos de desnaturação a 96°C por 10s. A próxima etapa, precipitação, consistiu na adição de 80µL de isopropanol 70% ao produto de sequenciamento em toda placa e centrifugação a uma velocidade de 3.700 rpm por 45 minutos. O sobrenadante foi descartado e, com a placa invertida, foi centrifugado a 1 minuto, na velocidade de 900 rpm. Para secagem, foi executada, no termociclador, uma programação de 75°C por 5 minutos. Na última etapa de sequenciamento, na desnaturação, para ressuspensão da placa precipitada, foram utilizados 10µL de formamida Hi-Di, e, para manter as moléculas do DNA gerado na reação de sequenciamento em fita simples, procedeu-se com choque térmico a partir do programa, por 5 minutos, à temperatura de 95°C, e, de-

pois, 1 minuto, no *freezer*.

Análise de bioinformática

Para identificar os tamanhos dos alelos das regiões de microssatélites, foi utilizado o *software* GeneMarker® (Versão Demo 2.6.2), conforme protocolo manual da Soft-Genetics18. A visualização dos picos correspondentes aos fragmentos gerados permitiu a definição do tamanho do fragmento em pares de bases e a consequente definição dos alelos nos marcadores STR. Na análise de mtDNA, foi utilizado BioEdit para a avaliação do padrão de qualidade das sequências e da cópia das sequências geradas. Na identificação de haplogrupos do mtDNA, foi utilizada a ferramenta Mitomaster para a determinação dos haplogrupos a partir da análise de sequências de DNA mitocondrial humano. Esse instrumento é utilizado para a comparação de uma determinada sequência de nucleotídeos do DNA mitocondrial de um indivíduo com uma sequência de referência contida no banco de dados disponível no *site* <https://www.mitomap.org/MITOMAP19>.

RESULTADOS

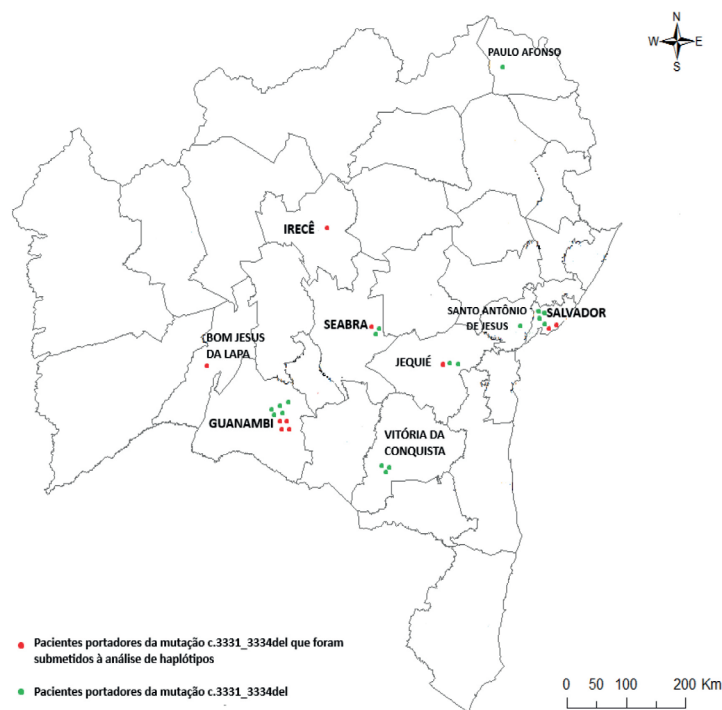
Até a presente data, já foram atendidos 2118 indivíduos, sendo 975 probandos e, desses, aproximadamente 10% (95/975) apresentaram mutações no gene *BRCA1* (dados do Serviço de Oncogenética do LABIMUNO da UFBA, em comunicação pessoal). A variante *BRCA1*:c.3331_3334del foi encontrada em 28 (~3%) famílias não aparentadas, provenientes de diferentes cidades da Bahia, na região Nordeste do Brasil, entre os pacientes atendidos com suspeita de HBOC. É a mutação mais frequentemente encontrada no gene *BRCA1*, correspondendo a 29,4% das mutações nesse gene, para a população estudada. A distribuição geográfica dessas famílias pode ser observada na Figura 2. Embora todos os pacientes atendidos sejam residentes na Bahia, em duas dessas famílias, os probandos eram naturais de outros estados, sendo 1 caso proveniente de Palmas (TO), na região Norte, e o outro de Cuiabá (MT), na região Centro-Oeste do país.

A caracterização clínica e epidemiológica dos 28 probandos com a variante em *BRCA1* mostrou: 46,4% de indivíduos com câncer de mama (13/28); 17,8% com câncer de ovário (5/28); 10,7% com câncer de mama e ovário (3/28); 7,2% com câncer de mama bilateral (2/28); 10,7% (3/28) sem diagnóstico de câncer; e, em 7,2% (2/28), não havia informações sobre ocorrência de doença. A idade ao diagnóstico variou de 26 a 60 anos, com uma média de 41 anos. Considerando todas as pacientes com diagnóstico de câncer de mama, incluindo aquelas com câncer de mama e ovário e mama bilateral (18 pacientes), o tipo histológico mais prevalente foi o carcinoma ductal infiltrante, que ocorreu em 83,3% (15/18) dos casos. 1 paciente teve diagnóstico de carcinoma retroareolar de mama, e, para 2 pacientes, a informação sobre a anatomia patológica do tumor não estava disponível. A análise do perfil de imuno-histoquímica mostrou predominância

de tumores triplos negativos, ou seja, com receptor de estrógeno, receptor de progesterona e HER2 negativos em 50% (9/18) das pacientes, seguidos de 22,2% (4/18) do perfil com receptores hormonais positivos e HER2 negativo. 16,7% (3/18) tinham receptores hormonais negativos e HER2 positivo. Importante é destacar que,

em uma das pacientes com câncer de mama bilateral, em uma das mamas, o tumor foi triplo positivo e, na mama contralateral, o tumor foi triplo negativo. Em duas pacientes (11,1%), os dados de imuno-histoquímica não estavam disponíveis.

Figura 2 – Mapa do estado da Bahia, na região Nordeste do Brasil, dividido em microrregiões, com a distribuição geográfica dos pacientes portadores da mutação BRCA1:c.3331_3334del.



Legenda – pontos vermelhas: pacientes com análise molecular de haplótipos; pontos verdes: pacientes com mutação, não incluídos na análise de haplótipos. Fonte: Adaptado de: Mapas Para Colorir; [citado 2025 jul 10]. Fonte: Mapas para colorir²⁰ (2005).

Entre todos os casos de câncer de ovário, 75% (6/8) apresentaram o tipo histológico de adenocarcinoma seroso. Uma paciente tinha diagnóstico de adenocarcinoma seropapilífero e, para uma paciente, não havia dados sobre a histopatologia disponível.

Todos os indivíduos atendidos no Ambulatório de Oncogenética responderam um questionário sobre autotransclassificação de raça ou cor, seguindo-se os critérios de classificação do IBGE21, além de fornecerem informações sobre a ocorrência de ascendência europeia, africana e ameríndia. Essa análise mostrou que 60,7% (17/28) se autodeclararam pardos, seguidos de 28,6% (8/28) dos participantes que se autodeclararam brancos. Não foram obtidos dados de autotransclassificação para 3 participantes do estudo. Dentre aqueles que conheciam dados sobre ascendência familiar, os relatos de ascendência europeia foram predominantes (10 famílias), com relatos de origem portuguesa, francesa, espanhola e alemã em suas famílias. Uma família relatou ascendência africana, e duas famílias apresentaram relatos de influência ameríndia predominante.

A investigação da ancestralidade genética e (ou) origem geográfica é de grande importância para a ava-

liação dos haplótipos e inferências sobre a origem da variante. Neste estudo, não foi possível avaliar marcadores biparentais informativos de ancestralidade genética. Mas dados sobre ancestralidade materna, através de haplogrupos de DNA mitocondrial, estavam disponíveis (em comunicação pessoal) para os participantes deste estudo e foram sumarizados na Tabela 4. Os dados do mtDNA corroboram a miscigenação dessa população, uma vez que foram identificados 4 (44,4%) haplogrupos de origem africana, 4 (44,4%) de origem asiática ou ameríndia, e 1 (11,2%) de origem europeia.

A análise de haplótipos do cromossomo 17 foi possível em 12 representantes das 28 famílias com a variante BRCA1:c.3331_3334del. Foi observado 1 haplótipo mais frequente com os seguintes alelos: THRA1 – 164 (76,92%), D17S800-240 (46,15%), D17S855-150 (46,15%), D17S1327-150 (92,31%) e D17S1323-130 (76,92%). Apenas o marcador D17S579 apresentou um perfil mais heterogêneo, com 4 dos 12 pacientes (38,46%) apresentando o alelo 120. Os dados dos alelos identificados estão disponíveis na Tabela 2.

Tabela 2 – Perfil molecular de haplótipo e mtDNA dos portadores da mutação *c.3331_3334del*.

		<i>BRCA1</i>											
Haplogrupo mtDNA		THRA1	D17S800	D17S855	D17S1327	D17S1323	D17S579						
		<i>c.3331_3334del</i>											
CM0031	L2a (L2a1)	164	164	**	**	148	148	150	150	130	130	**	**
CM0201	**	164	162	**	**	142	150	150	150	130	160	**	**
CM0223	H2a	164	164	240	240	148	148	150	150	130	130	120	127
CM0312	L3d (L3d1d)	164	168	240	240	142	150	150	156	130	162	120	120
CM0615	A2q	164	168	**	**	**	**	150	150	130	155	**	**
CM0701	C1	168	168	**	**	140	150	150	150	130	130	**	**
CM0790	B4	164	164	240	246	140	150	150	150	130	128	114	114
CM0875	L1c	168	168	240	240	140	140	150	150	128	128	119	119
CM0899	L3d	164	176	240	240	154	150	150	154	130	128	112	119
CM0943	**	164	172	240	240	148	148	150	150	130	156	119	119
CM1167	G1a (G1a1)	164	164	237	237	150	150	150	150	128	128	120	120
CM1235	**	164	157	239	239	140	150	148	150	130	128	120	120

Legenda – Em destaque, os haplótipos compartilhados entre os indivíduos; ** indica alelos não identificados.

Fonte: as autoras.

DISCUSSÃO

A mutação *BRCA1:c.3331_3334del* tem se destacado como uma variante recorrente em diversos estudos populacionais ao redor do mundo. Originalmente, foi descrita em uma família da América do Norte, onde a mutação foi identificada em uma paciente diagnosticada com câncer de mama aos 28 anos, e, posteriormente, com câncer de ovário aos 34 anos, com 3 outros casos, na mesma família, também diagnosticados com câncer de mama, aos 26, 29 e 40 anos²². Essa mutação foi relatada em diferentes países da Europa, África e América do Sul^{10,13,23}, o que pode sugerir uma origem antiga e ampla dispersão geográfica. Estudos prévios também confirmam a alta prevalência da variante *BRCA1:c.3331_3334del* no Nordeste brasileiro. Uma pesquisa, realizada no estado do Ceará, identificou essa mutação como a mais frequente entre as variantes patogênicas do *BRCA1*, correspondendo a 38,7% das alterações detectadas¹⁴. Outro estudo, realizado com pacientes com câncer de mama não relacionados e com ascendência africana, também demonstrou a recorrência dessa variante¹⁵. Esses achados, combinados com os do presente estudo, fortalecem a hipótese de que a mutação tenha sido introduzida na região por meio da colonização europeia e amplificada por processos de miscigenação.

O presente estudo foi realizado em uma coorte de 28 famílias não aparentadas, da região Nordeste do Brasil. A análise de haplótipos foi possível em 12 famílias, e foi observado um perfil haplotípico homogêneo em cinco dos seis marcadores STR analisados: THRA1, D17S800, D17S85, D17S1327 e D17S1323. Apenas o marcador D17S579 apresentou maior heterogeneidade alélica, o que pode estar relacionado com sua maior distância física em relação à mutação no genoma²⁴. A homogeneidade observada nos demais marcadores pode sugerir a presença de um efeito fundador, o que pode indicar que a

mutação foi introduzida por um ancestral comum e perpetuada ao longo das gerações, na população estudada²⁵.

A hipótese de origem europeia é amplamente sustentada por estudos internacionais. Na Espanha, por exemplo, essa mutação foi identificada em 18 famílias da região das Astúrias, todas compartilhando um haplótipo comum ancestral 11.1 (37160446–48258140), com haplótipo mínimo 0,59 (40870802–4163821) e com idade estimada de surgimento de aproximadamente 27,6 gerações¹⁰. No Chile, estudo realizado em famílias das regiões central e sul também apresentaram um haplótipo característico, associado à mutação *BRCA1 c.3331_3334del*²⁶.

Estudo conduzido com 119 famílias de ancestralidade portuguesa revelou que a mutação *BRCA1:c.3331_3334del* foi identificada em 15 famílias (12,6%), sendo caracterizada como uma variante fundadora originária do norte de Portugal. Ao comparar os perfis alélicos entre as coortes portuguesa e brasileira (Tabela 3), nota-se que, com base nos 5 marcadores em comum em ambos os estudos (D17S800, D17S855, D17S1323, D17S1327, D17S579), um haplótipo comum foi encontrado na coorte portuguesa D17S800-170, D17S855-149, D17S1323-152, D17S1327-128 e D17S579-117²⁷. O perfil haplotípico encontrado foi diferente, se comparado aos resultados encontrados na nossa coorte brasileira.

Complementando essa perspectiva e comparando os perfis alélicos entre as coortes chilena e brasileira, observa-se que, com base nos 3 marcadores comuns aos 2 estudos (D17S855, D17S1323 e D17S1327), os perfis dos alelos encontrados são diferentes (Tabela 3). Na coorte chilena, foram observados os alelos D17S855-148, D17S1323-152 e D17S1327-132²⁶, enquanto, na nossa coorte brasileira, foram encontrados os alelos D17S855-150, D17S1323-130 e D17S1327-150. Essas diferenças podem ser atribuídas a eventos fundadores distintos e (ou) a pressões evolutivas

regionais, apesar da origem europeia comum da variante^{10,28}. Um estudo anterior, realizado com a população iraniana, identificou um perfil com diferença significativa em dois alelos de D17S855, alelo 146 ($p = 0,02$) e 150 ($p =$

0,006), e dois alelos de D17S1322, alelo 121 ($p=0,015$) e 142 ($p=0,043$), em comparação com o grupo de controle. O haplótipo D17S855 (150) é compartilhado com nossa coorte, o que representa um achado interessante²⁹.

Tabela 3 – Comparação entre os haplótipos para a mutação BRCA1:c.3331_3334del em diferentes estudos populacionais.

	BRCA1 c.3331_3334del					
	THRA1	D17S800	D17S855	D17S1327	D17S1323	D17S579
Brasil (nosso estudo)	164	240	150	150	130	120
Portugal		170	149	128	152	117
Chile			148	132	152	
Irã			146 /150		121/142	

Fonte: as autoras.

Embora a mutação BRCA1:c.3331_3334del seja recorrente em ambos países, as diferenças nos perfis alélicos para esses marcadores microssatélites podem indicar que, apesar da origem comum europeia da mutação, os fundadores europeus que introduziram a variante foram provenientes de regiões distintas, o que é corroborado por dados históricos e genéticos^{10,27}. O processo de colonização subsequente contribuiu para a introdução de variações genéticas secundárias ao longo do tempo. Considerando esse contexto, é plausível inferir que a mutação tenha sido introduzida na população brasileira durante os séculos XVI e XVII, pois evidências genéticas e históricas mostram que a população brasileira é composta por uma complexa diversidade de haplótipos globais, moldada por acasalamento não aleatório, com o auge da miscigenação. Dentro dessa diversidade, observa-se uma distribuição desigual de haplótipos específicos de ancestralidade, refletindo os diferentes fluxos migratórios e processos demográficos que marcaram a formação do povo brasileiro³⁰.

Em estudo realizado no arquipélago da Madeira, localizado no Oceano Atlântico Norte, com a distância de Portugal de aproximadamente 970~1205km, a mutação BRCA1:c.3331_3334del foi identificada em 6 de 19 pacientes analisados, correspondendo a uma frequência de 31,6%. Essa mutação foi observada em indivíduos de diferentes etnias e nacionalidades, incluindo Europa, Rússia, Colômbia, América Latina, populações nativo-americanas, Egito e Caribe. A alta frequência local e a ampla distribuição étnico-geográfica da mutação reforçam a hipótese de se tratar de uma variante fundadora, previamente descrita como originária do norte de Portugal. Esses achados fortalecem a possibilidade de um efeito fundador histórico, especialmente considerando que aproximadamente 54% dos primeiros colonizadores da ilha da Madeira, no século XVI, eram provenientes do norte de Portugal³¹.

Na Colômbia, a mutação também é reconhecida como fundadora colombiana, especialmente encontrada nas populações miscigenadas da região central e em pacientes afro-colombianos com câncer de mama

precoce. Foi identificada em 121 famílias hispânicas e representa uma das mutações mais frequentes no país²³. A ancestralidade genética dessas populações, que inclui componentes europeus, africanos e indígenas, espelha a composição genética encontrada em populações do Nordeste brasileiro¹⁵. Um estudo abrangente, realizado por Tuazon et al.¹⁰ (2020), reforçou a hipótese de uma origem comum da mutação. Ao analisar a diversidade de haplótipos ao redor da c.3331_3334del, os autores identificaram uma região compartilhada de 264,4 kb entre indivíduos de seis países distintos (Brasil, Colômbia, Portugal, Espanha, Chile e Angola), o que sustenta a existência de um ancestral comum europeu e sua dispersão posterior por meio da colonização ibérica e do tráfico de pessoas escravizadas¹⁰. Além da Península Ibérica e da América do Sul, a mutação também foi relatada em uma família da Tunísia, no norte da África, com uma frequência de 6%. A localização geográfica da Tunísia, na confluência entre o Mediterrâneo Oriental e Ocidental, a torna um ponto estratégico de rotas migratórias históricas, reforçando a hipótese de uma dispersão geograficamente ampla e antiga dessa mutação¹³. Embora isolado, esse achado sugere que a mutação pode ter migrado para a região, ou mesmo surgido de forma independente, dada sua localização em um possível *hotspot* mutacional. A vasta distribuição geográfica da variante BRCA1:c.3331_3334del levanta a possibilidade de origens múltiplas, ou recombinação genômica ao longo do tempo¹¹.

No contexto brasileiro, a diversidade genética da população é marcada por contribuições europeias (70,6%), africanas (14,5%) e indígenas (8,0%), o que reforça a importância de se considerar o histórico de miscigenação na análise da distribuição de variantes patogênicas como a BRCA1:c.3331_3334del³². O fato de a mutação estar presente em diferentes estados do país e representar uma parcela significativa das alterações patogênicas do BRCA1 pode sugerir que o rastreamento dessa variante seja um alvo prioritário em estratégias de triagem genética, especialmente em regiões como o Nordeste, onde sua recorrência já está bem documentada. A identificação de perfis haplotípicos regionais também pode ser útil no

desenvolvimento de protocolos de triagem populacional mais específicos, particularmente em áreas com alta ocorrência de câncer hereditário.

Reconhecemos duas limitações relevantes nesta pesquisa. Não conseguimos amplificar com sucesso algumas regiões do DNA em todas as 12 famílias incluídas na análise molecular de haplótipos. Isso significa que pode haver informações genéticas relevantes que não foram incluídas nesta análise. Além disso, a ausência de um grupo de controle, composto por indivíduos não portadores da mutação, poderia permitir uma comparação mais robusta dos haplótipos identificados. Outra limitação do estudo se refere à análise da ancestralidade baseada no mtDNA, que é herdado exclusivamente por via materna, refletindo, portanto, apenas uma fração restrita da ancestralidade total de um indivíduo. A ampliação deste estudo, para completar a investigação haplotípica em todas as famílias acometidas pela variante *BRCA1:c.3331_3334del*, bem como a inclusão da investigação em um grupo de controle, sem a mutação, será de extrema importância para elucidar a possível origem comum dessa variante na população da Bahia.

CONCLUSÃO

Este estudo sugere a existência de um possível ancestral comum entre os pacientes portadores da mutação *BRCA1:c.3331_3334del*, provavelmente originário da Península Ibérica e possivelmente disseminado no Brasil por meio do processo de colonização europeia. Embora significativos, os resultados obtidos indicam a necessidade de estudos adicionais que integrem dados genéticos, históricos e geográficos para uma compreensão mais aprofundada do padrão de disseminação e da ancestralidade dessa variante. Ressalta-se, ainda, que a escassez de dados sobre o perfil de ancestralidade genética, em populações miscigenadas afetadas por câncer de mama e (ou) câncer de ovário, reforça a importância dos achados apresentados.

AGRADECIMENTO

O presente estudo contou com apoio financeiro do CNPQ, através do projeto aprovado 40445/2021-7, contemplado na Chamada CNPq/MCTI/FNDCT N^o18/2021 – UNIVERSAL, e da CAPES através de bolsa de estudo na modalidade mestrado.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer – INCA. Estatísticas de câncer [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2022 [citado 2025 jul 3]. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>
2. Instituto Nacional de Câncer – INCA. Hereditariedade e câncer [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde/INCA; 2022 maio [citado 2025 jul 3]. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/causas-e-prevencao-do-cancer/hereditariedade>
3. Silva SR, Mello LM, Silva AS, Nunes AA. Impact of the pneumococcal 10-valent vaccine on reducing hospitalization for community-

-acquired pneumonia in children [Internet]. Rev Paul Pediatr. 2016 Oct-Dec [citado 2025 jul 3];34(4):418–24 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5176061/> doi: 10.1016/j.rppede.2016.03.008

4. Vicente R, Costa DA, Vitorino M, Mendes AD, Santos C, Fontes-Sousa M. Padrões de mutação em famílias portuguesas com síndrome hereditária de cancro da mama e do ovário [Internet]. Cancers (Basel). 2022 Sep 28 [citado 2025 Jul 3];14(19):4717. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9564125/> doi: 10.3390/cancers14194717
5. Georgieva D, Wang N, Taglialatela A, Jerabek S, Reczek CR, Lim PX, et al. BRCA1 and 53BP1 regulate reprogramming efficiency by mediating DNA repair pathway choice at replication-associated double-strand breaks [Internet]. Cell Rep. 2024 Apr 23 [citado 2025 Jul 3];43(4):114006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5176061/> doi: 10.1016/j.celrep.2024.114006.
6. Szentmartoni G, Mühl D, Csanda R, Szasz AM, Herold Z, Dank M. Valor preditivo e significado terapêutico da mutação somática do gene BRCA em tumores sólidos [Internet]. Biomedicines. 2024 Feb 29 [citado 2025 jul 3];12(3):679. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10967875/> doi: 10.3390/biomedicines12030679
7. Rebbeck TR, Friebel TM, Friedman E, Hamann U, Huo D, Kwong A, et al. Mutational spectrum in a worldwide study of 29,700 families with BRCA1 or BRCA2 mutations [Internet]. Cell Genomics. 2022 [citado 2025 jul 3];2(7):100153. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S266700542200093X> doi:10.1016/j.xgen.2022.100153
8. Pinto P, Peixoto A, Santos C, Rocha P, Pinto C, Pinheiro M, et al. Analysis of founder mutations in rare tumors associated with hereditary breast/ovarian cancer reveals a novel association of BRCA2 mutations with ampulla of Vater carcinomas. PLoS One. 2016;11(8):e0161438. doi:10.1371/journal.pone.0161438
9. Breast Cancer Information Core – BIC. Base de dados de mutações BRCA1 exón 11; nt 3448; base_change delAGCA [Internet]. Bethesda (MD): National Human Genome Research Institute (US). [citado 2025 jul 10]. Disponível em: https://research.nhgri.nih.gov/projects/bic/Member/cgi-bin/bic_query_result.cgi?table=brca1_exons&nt=3448&base_change=del%20AGCA
10. Tuazon AMD, Lott P, Bohorquez M, Ramelli G, Royer R, Robledo M, et al. Haplotype analysis of the internationally distributed BRCA1 c.3331_3334delCAAG founder mutation reveals a common ancestral origin in Iberia. Breast Cancer Res. 2020;22(1):108. doi:10.1186/s13058-020-01341-3
11. Peixoto A, Santos C, Pinto P, Pinheiro M, Rocha P, Lima J, et al. Germline mutation spectrum in BRCA1 and BRCA2 in Portuguese families with inherited breast and ovarian cancer, and evidence for genetic anticipation. Fam Cancer. 2006;5(4):379–87. doi:10.1007/s10689-006-0009-5
12. Costa ECG da, Silva EM da, Santos ACG dos, Carvalho MA, Pimentel MMG. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. Cancers (Basel). 2022;14(19):4717. doi:10.3390/cancers14194717
13. Mahfoudh W, Bouaouina N, Ben Ahmed S, Gabbouj S, Shan J, Mathew R, et al. Hereditary breast cancer in Middle Eastern and North African (MENA) populations: identification of novel, recurrent and founder BRCA1 mutations in the Tunisian population. Mol Biol Rep. 2012 Feb;39(2):1037–46. doi:10.1007/s11033-011-0829-8
14. Gifoni ACLVC, Gifoni MAC, Wotroba CM, Palmero EI, Costa ELVC, Santos W dos, et al. Hereditary breast cancer in the Brazilian state of Ceará (the CHANCE cohort): higher-than-expected prevalence of recurrent germline pathogenic variants. Front Oncol. 2022;12:932957. doi:10.3389/fonc.2022.932957

15. Felix GES, Guindalini RSC, Zheng Y, Ferreira FL, Paula AE de, Lima RS, et al. Mutational spectrum of breast cancer susceptibility genes among women ascertained in a cancer risk clinic in Northeast Brazil. *Breast Cancer Res Treat.* 2022 Jun;193(2):485–94. doi:10.1007/s10549-022-06560-0
16. UCSC Genome Browser [Internet]. Santa Cruz (CA): University of California, Santa Cruz. [cited 2025 Jul 19]. Available from: <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg38&position=-chr17:43092192-43092205>
17. Amorim A, Fernandes T, Taveira N. Mitochondrial DNA in human identification: a review. *PeerJ.* 2019 Aug 13;7:e7314. doi: 10.7717/peerj.7314
18. Soft Genetics LLC. *GeneMarker*® User Manual. State College (PA): SoftGenetics LLC. [cited 2025 Jul 15]. Available from: https://www.softgenetics.com/PDF/GeneMarker_UserManual.pdf
19. Lott MT, Leipzig JN, Derbeneva O, Xie HM, Chalkia D, Sarmady M, et al. mtDNA variation and analysis using mitomap and mitomaster. *Current protocols in bioinformatics.* 2013;44(123):1-26.
20. Mapas para Colorir. Microrregiões da Bahia [Internet]. [citado 2025 jul 10]. Disponível em: <https://www.mapasparacolorir.com.br/mapa/estado/ba/estado-bahia-microrregioes.png>
21. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Pesquisa das características étnico-raciais da população: classificações e identidades. Rio de Janeiro: IBGE; 2013 [citado 2025 jul 10]. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv63405.pdf>
22. Durocher F, Tonin P, Shattuck-Eidens D, Skolnick M, Narod SA, Simard J. Mutation analysis of the BRCA1 gene in 23 families with cases of cancer of the breast, ovary, and multiple other sites. *J Med Genet.* 1996 Oct;33(10):814–9. doi:10.1136/jmg.33.10.814
23. Torres D, Rashid MU, Gil F, Umana A, Ramelli G, Robledo JF, et al. High proportion of BRCA1/2 founder mutations in Hispanic breast/ovarian cancer families from Colombia. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;103(2):225–32. doi:10.1007/s10549-006-9370-1
24. Beckmann MW, Picard F, An HX, van Roeyen CR, Dominik SI, Mosny DS, et al. Clinical impact of detection of loss of heterozygosity of BRCA1 and BRCA2 markers in sporadic breast cancer. *Br J Cancer.* 1996 May;73(10):1220–6. doi:10.1038/bjc.1996.234
25. Harari-Arakilji S, Metta-Harari T, Espino-Gutiérrez I, Taja-Chayeb L, González-Barríos R, Zatarain-Barrón ZL, et al. Founder variants in the Mexican population: A systematic review. *Arch Med Res.* 2025;56(5):103209. doi:10.1016/j.arcmed.2025.103209
26. Alvarez C, Tapia T, Perez-Moreno E, Gajardo-Meneses P, Ruiz C, Rios M, et al. BRCA1 and BRCA2 founder mutations account for 78% of germline carriers among hereditary breast cancer families in Chile. *Oncotarget.* 2017 Jun 29;8(43):74233–43. doi:10.18632/oncotarget.18815
27. Peixoto A, Santos C, Pinto P, Pinheiro M, Rocha P, Pinto C, et al. The role of targeted BRCA1/BRCA2 mutation analysis in hereditary breast/ovarian cancer families of Portuguese ancestry. *Clin Genet.* 2015 Jan;87(1):62–7. doi:10.1111/cge.12441
28. Tournebize R, Chu G, Moorjani P. Reconstructing the history of founder events using genome-wide patterns of allele sharing across individuals. *PLoS Genet.* 2022 Jun 23;18(6):e1010243. doi: 10.1371/journal.pgen.1010243
29. Miresmaeili SM, Kordi Tamandani DM, Kalantar SM, Moshtaghioun SM. Haplotype analysis of BRCA1 intragenic markers in Iranian patients with familial breast and ovarian cancer. *Iran J Basic Med Sci.* 2016 Jun;19(6):640–5.
30. Nunes K, E Silva MAC, Rodrigues MR, Lemes RB, Pezo-Valderrama P, Kimura L, et al. Admixture's Impact on Brazilian Population Evolution and Health. *Sci.* 2025 May 15;388(6748):eadl3564. doi: 10.1126/science.adl3564
31. Isália M, Rodrigues F, Fragoso S, Freixo J, Clara A, Luís A, et al. Hereditary breast cancer and ancestry in the Madeira archipelago: an exploratory study. *Ecancermedicalscience.* 2021;15:1261. doi:10.3332/ecancer.2021.1261
32. Fernandes GC, Michelli RAD, Galvão HCR, Paula AE, Pereira R, Andrade CE, et al. Prevalence of BRCA1/BRCA2 mutations in a Brazilian population sample at-risk for hereditary breast cancer and characterization of its genetic ancestry. *Oncotarget.* 2016;7:80465–80481. doi:10.18632/oncotarget.12610

Sub: 03/03/2025
Aceite: 23/07/2025