

ALTERAÇÕES GENÉTICAS E POTENCIAIS MODIFICADORES DE FENÓTIPO NO ADENOCARCINOMA COLORRETAL

AMAZONAS, MK¹(DO); GUEDES, MT²; STEFANOFF, CG²; MARTINS, I³; ACCIOLY, MT³; LIMA, MA¹; EVANGELISTA, AC¹; MOREIRA, MAM¹; VARGAS, FR^{1,4}.

¹ Programa de Genética, Instituto Nacional de Câncer, INCA, RJ

² Banco Nacional de Tumores E DNA, Instituto Nacional De Câncer, INCA, RJ

³ Divisão de Patologia, Instituto Nacional de Câncer, INCA, RJ

⁴ Laboratório de Epidemiologia de Malformações Congênitas, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, RJ

INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR), é um dos três maiores responsáveis pela mortalidade por essa patologia no mundo. No Brasil, sem considerar os tumores da pele não melanoma, o CCR é o segundo mais frequente na região Sudeste. Aproximadamente 80% dos pacientes desenvolvem o CCR esporádico e 20% apresentam uma predisposição hereditária. Na forma hereditária mais comum, a síndrome de Lynch, a principal característica genética é a perda de função de genes que codificam proteínas de reparo do mal pareamento do DNA (*Mismatch Repair*) e a instabilidade de microssatélites (MSI) é considerada um indicativo de alterações nestes genes. Já as síndromes Li-Fraumeni e sua variante *Li-Fraumeni Like*, causadas por mutações germinativas em *TP53*, embora tenham o CCR como um tumor ocasional, um estudo brasileiro (Achatz *et al.*, 2008) mostrou alta frequência dos tumores colorretais nas famílias estudadas e ainda alta prevalência da mutação R337H neste gene no Sul do Brasil. Outro gene relevante no estudo do CCR é o *BRAF* em que a mutação pontual "V600E" é uma das alterações somáticas mais prevalentes no CCR e fornece subsídios a respeito da etiologia e agressividade tumoral uma vez que pacientes com essa mutação têm menor sobrevida livre de progressão. Além do gene *BRAF*, mutações somáticas em *TP53* também estão associadas a um pior prognóstico para os pacientes com CCR.

OBJETIVO PRINCIPAL

Caracterizar alterações moleculares em CCR, e correlacioná-las com dados clínico-patológicos a fim de identificar casos hereditários e potenciais biomarcadores de prognóstico.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Avaliar a viabilidade e sensibilidade do uso do marcador CAT25 (isolado e em conjunto com BAT25 e BAT26) na detecção de MSI quando comparados aos marcadores do painel de Bethesda (BAT25, BAT26, D2S123, D5S346 e D17S250);
- Avaliar a sensibilidade dos testes de rastreio (MSI, IHQ e PREMM1,2,6) a partir dos resultados do sequenciamento dos genes de reparo;
- Investigar a mutação germinativa R337H, em *TP53*, em pacientes com CCR;
- Avaliar se a mutação somática V600E em *BRAF* está associada ao prognóstico em pacientes com CCR no INCA.

MATERIAL

332 pacientes consecutivos, com adenocarcinoma colorretal, 104 destes com amostras pareadas (normal e tumoral) e os demais com amostras apenas tumorais ou apenas normais. Ainda foram incluídos 216 controles.

MÉTODOS

(1) Genotipagem das amostras controle – BAT25, BAT26 e CAT25; (2) Genotipagem das amostras pareadas dos casos – BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250 e CAT25; (3) IHQ para os casos – MLH1, MSH2, MSH6; (4) RFLP das amostras de sangue dos casos – R337H *TP53*; (6) Sequenciamento das amostras tumorais dos casos – *BRAF* V600E;

RESULTADOS

MSI foi observada em 8,65% (9/104) dos pacientes, sendo MSI-H observada em 7/104 e MSI-L em 2/104. E, ao contrário dos marcadores BAT25 e BAT26, o marcador CAT25 revelou-se monomórfico nas amostras controle analisadas, o que potencialmente possibilita seu uso em amostras tumorais para pesquisa de MSI, sem necessidade de comparação com tecido normal.

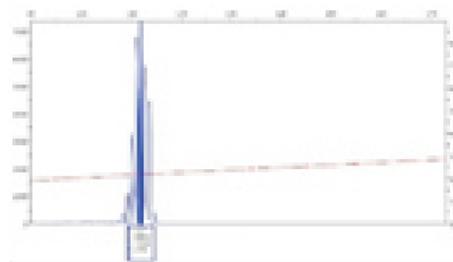


Figura 1: Genotipagem em amostra normal com marcador CAT25



Figura 2: Genotipagem em amostra tumoral com MSI, com marcador CAT25

A partir da IHQ foi verificada a ausência de expressão da proteína MLH1 em 1/77 paciente, enquanto os demais apresentaram expressão normal tanto de MLH1 quanto MSH2 e MSH6.

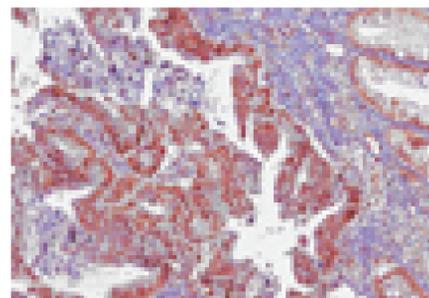


Figura 3: Adenocarcinoma evidenciando imuno-positividade para a proteína MLH1

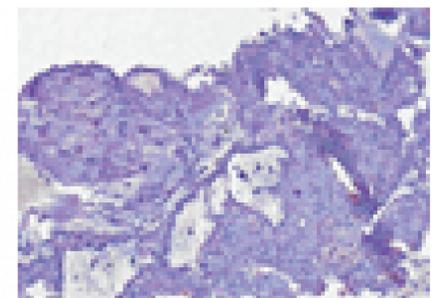


Figura 4: Adenocarcinoma evidenciando imuno-negatividade para a proteína MLH1

A mutação somática *BRAF* V600E foi observada em 3,2% (3/95) pacientes.

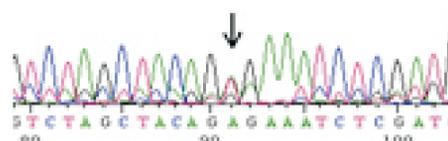


Figura 5: Sequenciamento evidenciando a mutação V600E no gene BRAF

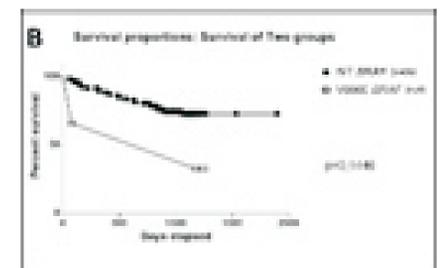


Figura 6: Curva de sobrevida

Nenhuma mutação R337H em *TP53* foi identificada (294/294).

Financiamento: CNPq, CAPES, FAPERJ, INCT para Controle do Câncer, INCA-MS