

Perfil clínico-patológico do câncer colorretal com instabilidade de microssatélites e variantes germinativas nos genes MMR

Anna Ellen Marques de Lima, Ceuni-FAMETRO, annaellen647@gmail.com

Jhonnatan Souza, FCECON;

Flávia Niniver, FCECON;

Mikele Praia de Oliveira, FCECON;

Kátia Luz Torres Silva, FCECON;

Valquíria do Carmo Alves Martins, FCECON;

Giovana Tardin Torrezan, A.C.CAMARGO;

Nayara Sousa Castro, A.C.CAMARGO e FCECON;

RESUMO

O câncer colorretal (CCR) é uma das neoplasias mais incidentes no Brasil, e cerca de 15% dos casos estão associados à instabilidade de microssatélites (MSI), frequentemente relacionada à deficiência nos genes de reparo do DNA (MMR), característica marcante da Síndrome de Lynch. A integração de dados clínico-patológicos com a caracterização molecular é essencial para aprimorar. O estudo tem como objetivo avaliar o perfil clinicopatológico de pacientes com CCR e sua associação com variantes germinativas nos genes MMR e instabilidade de microssatélites. Foram analisadas 56 amostras de pacientes com CCR atendidos na FCECON. Dados clinicopatológicos (idade, localização tumoral, grau histológico, imunohistoquímica para expressão de proteínas MMR, estadiamento, sintomas, metástases e desfecho clínico) foram extraídos de prontuários eletrônicos e físicos. As amostras foram submetidas ao sequenciamento de nova geração (NGS). Identificaram-se quatro variantes patogênicas no gene MLH1 e uma VUS em MSH6. Também foram detectadas duas variantes estruturais, incluindo uma deleção em EPCAM/MSH2 associada à perda de MSH2. Seis pacientes apresentaram perda de expressão MMR por IHQ, com predomínio do fenótipo MLH1/PMS2. Dos 56 pacientes, 26,8% preservaram a expressão MMR e 21,4% foram diagnosticados antes dos 50 anos. Metástases ocorreram em 11 casos, 81,8% hepáticas. A identificação de variantes germinativas e perda de expressão MMR reforça a relevância do rastreamento genético no CCR. A integração entre perfil molecular, expressão proteica e dados clínicos contribui para o diagnóstico precoce da Síndrome de Lynch e aprimoramento das estratégias terapêuticas personalizadas.

Palavras-chave: Câncer colorretal; prognóstico; síndrome de Lynch.

1. Introdução

O câncer colorretal (CCR) abrange uma gama de tumores malignos que afetam o intestino grosso e o reto. A nível nacional, O CCR é a terceira neoplasia maligna mais incidente no Brasil e projeções para 2025 apontam aumento no número de óbitos de 75,8% para os homens e de 67,5% para as mulheres, principalmente em decorrência do processo de envelhecimento populacional⁽¹⁾.

Outrossim, cerca de 15% dos cânceres colorretais configuram-se como consequência de um comportamento genético de instabilidade sobre algumas regiões de repetições nucleotídicas, as chamadas Microssatélites (MS)⁽²⁾. O fenótipo de IMS (Instabilidade de Microssatélites) está relacionado à perda do funcionamento fisiológico de reparos a danos nas bases do DNA, haja vista que o corpo possui um complexo de proteínas que atuam no sistema de reparo de pareamento incorreto ou, também, chamado de sistema de reparo de incompatibilidade de DNA ou Complexo de Reparo Mismatches (MMR), que, por sua vez, detecta distorções da hélice de DNA, as quais são causadas pela incompatibilidade química de bases não-complementares.⁽³⁾

Quando há proficiência do complexo MMR (pMMR), essas proteínas atuam em heterodímeros: MLH1 dimerizando com a PMS2 e MSH2 com MSH6. Tais mutações foram descobertas em pacientes que apresentavam CCR com IMS em linhagens de células germinativas, o que configurou em uma perpetuação genética de linhagens defeituosas em proteínas do complexo MMR (dMMR) para a prole^(3,4).

Sendo assim, a IMS pode ser observada em 25% dos casos de Síndrome de Lynch ou Síndrome do Câncer Colorretal Não-Polipomatoso (HNPCC), a qual representa a síndrome hereditária mais comum no CCR, sendo a causa de 3% de todos os casos de CCR⁽⁵⁾. Ademais, cumpre ressaltar que o rastreamento do CCR recém-diagnosticado para IMS é amplamente discutido, pois são tumores que respondem favoravelmente ao tratamento e sua imunopatogênese abre novas perspectivas em imunoterapia e vacinas como profilaxia para casos hereditários de tumores não metastáticos e metastáticos, independente da sua origem primária⁽⁶⁾.

Dessa forma, objetiva-se avaliar as variantes patogênicas em *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*, as características clinicopatológicas e prognóstico no Câncer Colorretal Hereditário na Fundação Centro de Controle de Oncologia do Estado do Amazonas (FCECON).

2. Material e Métodos

Estudo transversal, retrospectivo e prospectivo, vinculado ao projeto de doutorado intitulado “Caracterização Clínica e Molecular de Pacientes com câncer colorretal atendidos na Fundação Centro de Controle de Oncologia do Estado do Amazonas” e ao projeto “Análise do Espetro Molecular e Clínico do Câncer Colorretal: da Epidemiologia e Qualidade de Vida à Genética e Análises Ômicas” (EMCOR), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FCECON com CAAE: 52343821.2.0000.0004, aprovado em 20 de dezembro de 2021. O estudo utilizou dados clínicos, laboratoriais e dados obtidos por testes moleculares realizados por meio de Sequenciamento de Nova Geração (NGS), conduzidos pelo Centro de Pesquisa Internacional (CIPE) do A.C. Camargo Cancer Center.

Foram incluídos pacientes maiores de 18 anos, de ambos os sexos, atendidos na FCECON, provenientes da Amazônia Legal, com qualquer estadiamento clinicopatológico de câncer colorretal, conforme a Classificação Internacional de Doenças (CID): C18 – Neoplasia maligna de cólon, C19 – Neoplasia maligna da retossigmoide e C20 – Neoplasia maligna do reto, submetidos a cirurgia, quimioterapia e/ou radioterapia. Excluíram-se aqueles sem material biológico disponível ou com prontuário incompleto para caracterização clínica.

As informações socioepidemiológicas, características clínico-patológicas e materiais biológicos (sangue) foram registradas na plataforma REDCap do Hospital AC Camargo. O diagnóstico de CCR foi confirmado por médicos especialistas da FCECON, com base em exame histopatológico de lesões da mucosa intestinal. Para mais, 56 amostras de leucócitos foram submetidas à análise NGS.

3. Resultados e Discussão

Dos 56 pacientes incluídos nas amostras analisadas pelo método NGS, quatro apresentaram variantes patogênicas em genes associados à Síndrome de Lynch e um paciente possuía uma variante de significado clínico incerto (VUS) (Quadro 1).

A análise genética revelou que a perda de expressão da proteína MSH2 decorreu da deleção do gene adjacente EPCAM. Um estudo de coorte demonstrou que a perda da extremidade 3’ do gene EPCAM pode levar ao silenciamento do promotor de MSH2, pela proximidade alélica⁽⁷⁾. Para mais, observou-se que a perda completa da expressão da proteína EPCAM ocorre exclusivamente em CCRs associados à Síndrome de Lynch com deficiência de MSH2, ampliando possibilidades diagnósticas e terapêuticas no CCR germinativo. Ademais, essas neoplasias apresentaram comportamento agressivo, diferenciação pobre, invasão

linfovascular e metástases— achados também observados nos casos com perda de EPCAM/MSH2 deste estudo. A principal divergência está na histologia: enquanto a literatura cita células em anel de sinete ⁽⁸⁾, o presente estudo encontrou adenocarcinoma mucinoso. A maior incidência na lateralidade esquerda também é corroborada por estudos prévios^(3,10,11).

Quadro 1. Variantes Patogênicas e VUS em genes MMR

Gene	Variante	Nucleotídeo	Mudança de AA	Fenótipo alterado em IHQ	CID-10	Grau Histopatológico
<i>MLH1</i>	P	c.1459C>T	p.Arg487*	MLH1 e PMS2	C18.9	Adenocarcinoma tubuloviloso
<i>MLH1</i>	P	c.676C>T	p.Arg226*	MLH1 e PMS2	C18	Adenocarcinoma
<i>MLH1</i>	P	c.1459C>T	p.Arg487*	MLH1 e PMS2	C18.8	Adenocarcinoma tubuloviloso
<i>MSH6</i>	VUS	c.334A>G	p.Asn112Asp	Sem informação	C20.0	Sem informação
<i>EPCAM-MSH2</i>	P	Del; EPCAM exon 4-9 e MSH2 exon 1-7 del	-	MSH2	C18.6	Adenocarcinoma mucinoso

Fonte: Sousa-Castro, 2024. Projeto: Caracterização clínica e molecular de pacientes com câncer colorretal atendidos na Fundação Centro de Controle de Oncologia do Estado do Amazonas.

Legenda: AA- Aminoácido; IHQ- Imuno-histoquímica; p- patogênica; c.1459C>T- substituição da citosina por uma timina na posição 1459; c.676C>T- substituição de citosina por timina na posição 676; c.334A>G- substituição de adenina por guanina na posição 334; Del- deleção; p.Arg487*- proteína nonsense, que possui um códon de parada no aminoácido arginina, na posição 487; p.Arg226*- proteína nonsense que possui um códon de parada no aminoácido arginina, na posição 226; p.Asn112Asp- substituição de asparagina por aspartato na posição 112.

Além disso, a partir de resultados de imuno-histoquímica (IHQ), observou-se que seis pacientes apresentaram perda de expressão fenotípica de proteínas MMR. Para as perdas de MSH2, MSH6 e MLH1, foi identificado um paciente em cada fenótipo. Já para a perda heterodimérica de MLH1/PMS2, três pacientes apresentaram esse padrão. A predominância da perda de expressão de MLH1/PMS2 nos casos analisados corrobora os achados de Julien Taieb et al., que associam mutações em MLH1 à degradação de seus dímeros e consequente perda da função reparadora, sendo o silenciamento de MLH1 responsável por cerca de 75% dos casos de CCR com IMS. A literatura também destaca a imunohistoquímica como método eficaz de triagem, especialmente para proteínas MMR⁽⁶⁾. Além disso, 15 (26,8%) pacientes apresentaram preservação da expressão dos genes MMR, indicando normalidade.

Quanto aos diagnósticos pelo CID-10, grau histológico do tumor, diferenciação histológica e estadiamento clínico, foi-se obtido os resultados demonstrados na tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos diagnósticos segundo CID-10, grau histológico, diferenciação histológica e estadiamento clínico

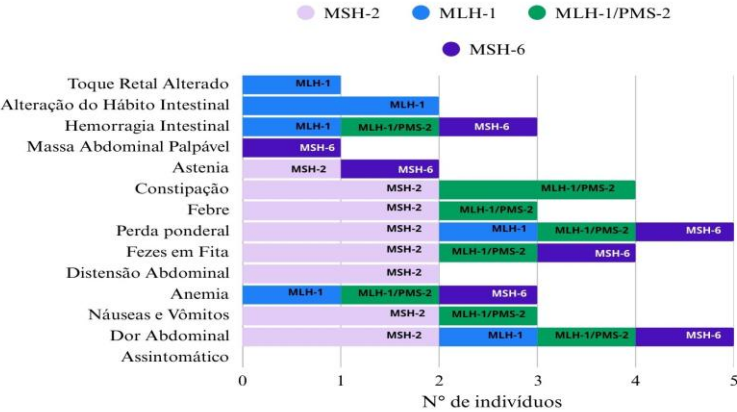
Categoria	Subcategoria	%
Diagnóstico (CID-10)	Neoplasia maligna de cólon (C18)	41,0
	Neoplasia maligna do retossigmoide (C19)	16,0
	Neoplasia maligna do reto (C20)	35,7
	CID-10 não especificado	7,3
Tipo Histológico	Adenocarcinoma	90,0
	Carcinoma	2,0
	Tipo histológico não relatado	8,0

Diferenciação Histológica	Bem diferenciado	17,9
	Moderadamente diferenciado	53,6
	Pouco diferenciado	10,7
	Diferenciação não informada	17,8
Estadiamento Clínico	Estágio I	10,71
	Estágio II	25,0
	Estágio III	26,78
	Estágio IV	10,71
	Estadiamento não registrado	26,8

Fonte: Adaptado de Sousa-Castro, 2024. Projeto: Caracterização clínica e molecular de pacientes com câncer colorretal atendidos na Fundação Centro de Controle de Oncologia do Estado do Amazonas.

Para os seis pacientes com perda de expressão proteica, os sintomas mais frequentes estão identificados no gráfico 1. Nos pacientes com expressão proteica preservada, os sintomas predominantes foram perda ponderal (84,6%), seguida por alteração do hábito intestinal (53,8%).

Gráfico 1. Correlação entre os pacientes com perda de expressão proteica do Complexo MMR e a sintomatologia



Fonte: Autoria própria

Doze pacientes (21,47%) foram diagnosticados com CCR antes dos 50 anos, sendo dois com dMMR. Metástases à distância ocorreram em 11 casos, com predomínio hepático (81,8%), incluindo dois casos com dMMR, padrão também descrito por Han et al. e Garcia-Carbonero et al. Houve 14 óbitos, sete por doença metastática, sem casos de dMMR. Conforme Boland e Goel, a baixa imunogenicidade tumoral do CCR com estabilidade de MS e seu desenvolvimento agressivo proporciona um pior desfecho em detrimento aos CCR com IMS. Destaca-se, também, a identificação de um paciente com Síndrome de Lynch, menor de 30 anos, com forte histórico familiar de CCR em duas gerações. A variante foi validada pelo ClinVar, confirmando o diagnóstico. Estudos recentes apontam que mutações em genes de reparo, especialmente no *MLH1*, aumentam o risco de CCR hereditário. Pacientes com diagnóstico precoce da síndrome devem ser acompanhados rigorosamente, devido ao risco de tumores sincrônicos e metacrônicos^(11,13).

4. Conclusões

Os achados reforçam a relevância da triagem genética e da avaliação fenotípica na caracterização do CCR, contribuindo para a estratificação prognóstica e o direcionamento terapêutico. A identificação de alterações patogênicas em *MLH1* e eventos estruturais envolvendo *EPCAM/MSH2* reforça a importância do rastreamento genético e do uso integrado da imuno-histoquímica para diagnóstico. A ocorrência de casos em idade precoce e a associação

com histórico familiar destacam a necessidade de vigilância genética em populações de risco. Além disso, a presença de instabilidade de microssatélites (MSI) e perda de expressão proteica MMR estão correlacionadas a comportamentos tumorais distintos, o que pode impactar decisões terapêuticas e prognóstico. O estudo contribui para a compreensão da base molecular do CCR e apoia o uso de estratégias de medicina personalizada.

Agradecimentos

Agradecemos à Dra. Nayara Castro pela valiosa orientação científica, aos colaboradores, pela assistência. À Dra. Valquíria do Carmo pelo zelo na pesquisa. Reconhecemos à FCECON, pela oportunidade, ao Hospital A.C. Camargo e à Dra. Giovana Torrezan, pelas análises das variantes germinativas. À FAPEAM, pelo Programa de Apoio à Iniciação Científica.

5. Referências

1. Souza DBL, Jerez-Roig J, Cabral FJ, et al. Colorectal cancer mortality in Brazil: predictions until 2025. *Dis Colon Rectum*. 2014;57(9):1082-9. doi:10.1097/DCR.000000000000186.
2. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2010;138(6):2073-87. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.064.
3. Taieb J, André T, Le Malicot K, Shi Q, Penault-Llorca F, Bouché O, et al. Deficient mismatch repair/microsatellite unstable colorectal cancer: diagnosis, prognosis and treatment. *Eur J Cancer*. 2022;175:136-57. doi:10.1016/j.ejca.2022.07.020.
4. Vilar E, Gruber SB. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7(3):153-62. doi:10.1038/nrclinonc.2009.237.
5. De'Angelis GL, Bottarelli L, Azzoni C, De'Angelis N, Leandro G, Di Mario F, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Biomed*. 2018;89(S9):97-101. doi:10.23750/abm.v89i9-S.7960.
6. Roudko V, Bozkus CC, Greenbaum B, Wolchok JD, Merghoub T, Houghton AN, et al. Lynch syndrome and MSI-H cancers: from mechanisms to cancer vaccines. *Front Immunol*. 2021;12:757804. doi:10.3389/fimmu.2021.757804.
7. Ligtenberg MJL, Kuiper RP, Geurts van Kessel A, Hoogerbrugge N. EPCAM deletion carriers constitute a unique subgroup of Lynch syndrome patients. *Familial Cancer*. 2013 Apr;12(2):123-128. doi:10.1007/s10689-012-9591-x. PMID: 23264089.
8. Kim JH, Bae JM, Song YS, Cho NY, Lee HS, Kang GH. Implications of the loss of EPCAM expression in colorectal carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(12):13372-87. doi:10.18632/oncotarget.5618.
9. Gosens MJ, van Kempen LC, van de Velde CJ, Nagtegaal ID. Loss of membranous EPCAM in colorectal carcinoma cells. *Mod Pathol*. 2007;20(2):221-32. doi:10.1038/modpathol.3800736.
10. Han S, Chok AY, Peh DYY, Ho TBC, Tham CK, Heong V, et al. Clinical trajectory and metastatic sites in MSI-high cancers. *Front Genet*. 2022;13:933475. doi:10.3389/fgene.2022.933475.
11. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. WHO classification of tumours of the digestive system. 4th ed. Lyon: IARC; 2010.
12. Hsiao CH, Li YL, Kiu KT, Lin LC, Kuo CJ, Wu IC, et al. Prognostic impact of distant organ metastasis in colorectal cancer. *Surg Oncol*. 2024;102063. doi:10.1016/j.suronc.2024.102063.
13. Garcia-Carbonero R, González Astorga B, Vidal Tocino R, Alonso Gordoa T, García Alfonso P, Salud Salvia A, et al. MSI and MMR deficiency testing in metastatic colorectal cancer. *Clin Transl Oncol*. 2024;26(7):864-71. doi:10.1007/s12094-023-03309-z.

Financiamento: FAPEAM – Programa PAIC