

Perfil de instabilidade de microssatélites em pacientes diagnosticados com câncer colorretal atendidos em um hospital de referência em oncologia no estado do Amazonas

Fernando Carvalho Raid; FAMETRO; fernandoraid269@gmail.com;

André Luiz Leturiondo; FUHAM;

Camila Gurgel dos Santos da Silva; FUHAM;

Flávia Níniver de Oliveira Gomes; UFAM;

Kátia Luz Torres da Silva; DEP/ FCECON;

Valquíria do Carmo Alves Martins; DEP/ FCECON;

Mikele Praia de Oliveira; UFAM;

Nayara Sousa Castro; DEP/ FCECON.

1. Introdução

O câncer colorretal (CCR) é a terceira neoplasia mais comum no mundo e impacta milhões de indivíduos globalmente¹. No Brasil, estima-se a ocorrência de aproximadamente 46 mil novos casos de CCR no triênio de 2023 a 2025². No estado do Amazonas, a estimativa é de cerca de 300 novos casos por ano³.

Cerca de 80% dos casos de CCR são esporádicos e aproximadamente 20% têm origem hereditária⁴. Considerado uma doença heterogênea, o CCR é resultante de eventos genéticos e alterações epigenéticas⁵. Três principais mecanismos moleculares estão ligados à tumorigênese do CCR: instabilidade cromossômica (CIN), fenótipo metilador (CIMP) e instabilidade de microssatélite (MSI)⁶.

Os Microssatélites são sequências curtas repetitivas observadas no genoma, a falha nessas sequências ocasiona eventos mutacionais. Os tumores com MSI são considerados oncogênicos desencadeando respostas agressivas no sistema imunológico, estão presentes em 15% dos casos de CCR⁷⁻⁸. Disfunções nos genes de reparo do DNA levam ao acúmulo de erros no genoma, resultando na MSI, uma condição associada à instabilidade genética⁹.

A classificação do MSI inclui três categorias: MSI-H (alta instabilidade), MSI-L (baixa instabilidade) e MSS (microssatélites estáveis)¹⁰. O painel pentaplex, composto por cinco marcadores (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 e NR-27), é amplamente utilizado para detecção de MSI por meio de PCR e eletroforese capilar (EC)¹¹⁻¹². No entanto, os painéis de marcadores podem variar dependendo das metodologias aplicadas em cada análise.

Diante desse contexto, o presente trabalho tem como objetivo identificar o perfil de MSI em pacientes atendidos na FCECON, classificando sua instabilidade e os marcadores frequentes. A partir disso, busca-se avaliar possíveis associações entre MSI e desfechos clínicos, contribuindo para aplicações clínicas, e orientações terapêuticas mais precisas.

2. Material e Métodos

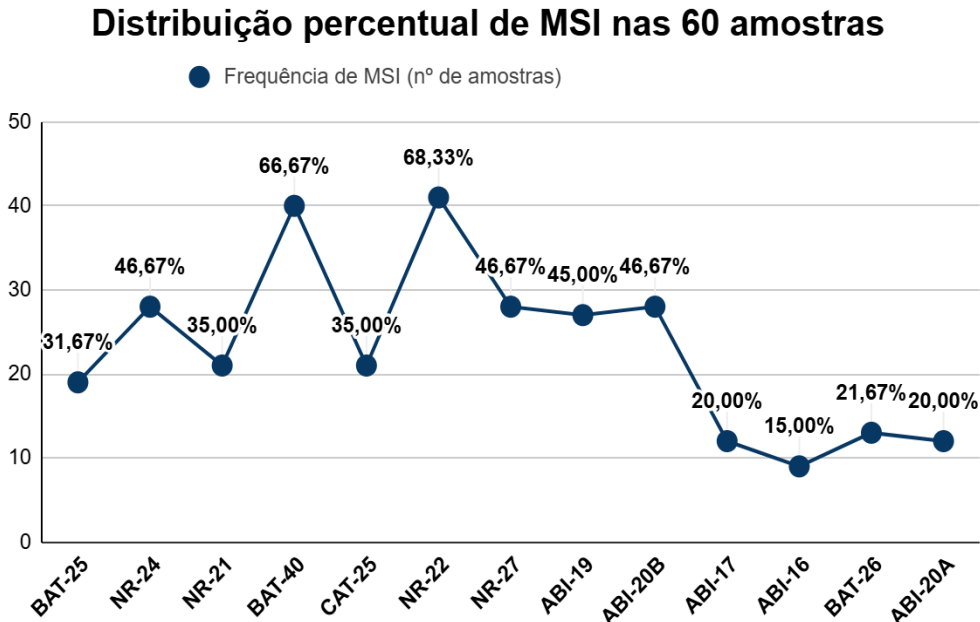
Trata-se de um estudo observacional transversal, para avaliação do perfil de MSI em pacientes com CCR atendidos na Fundação FCEcon. A pesquisa busca determinar a frequência de MSI, identificar seus subtipos e verificar associações com características clinicopatológicas da doença. O estudo está vinculado a um mestrado e ao projeto “Análise do Espectro Molecular e Clínico do Câncer Colorretal”, coordenado pela Dra. Valquíria do Carmo Alves Martins e aprovado pelo Comitê de Ética (CAAE: 52343821.2.0000.0004). Foram utilizadas amostras de DNA tumoral, previamente extraídas com o kit *Reliaprep gDNA Tissue Miniprep System* (Promega, EUA) e armazenadas a -80 °C no laboratório de Biologia Molecular da FCECON. A qualidade e quantificação do DNA foram avaliadas com o *Nanodrop Lite* e o *Qubit 4.0*

Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, MA, EUA). A análise de MSI foi conduzida por reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando o painel expandido *TrueMark™ MSI Assay (Applied Biosystems™)*, que contempla 13 marcadores: BAT-25, NR-24, NR-21, BAT-40, CAT-25, NR-22, NR-27, ABI-19, ABI-20B, ABI-17, ABI-16, BAT-26, ABI-20A. O mix de PCR foi composto por 4 µL de master mix, 1 µL de primers (1 ng/µL), 3 µL de controle negativo e 2 µL de DNA da amostra (1 ng/µL), totalizando 10 µL por reação. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese capilar (EC). Para a EC, foi preparado um mix com 1 µL de GeneScan-600 LTZ e 17 µL de Hi-Di™ Formamida, ao qual foram adicionados 2 µL dos amplicons (2–5 ng/µL). A mistura foi desnaturada a 95 °C por 3 minutos e, em seguida, a 4 °C. A análise foi feita no Analisador Genético SeqStudio™ (*Applied Biosystems™*). A visualização dos resultados ocorreu no software *MSI Analysis 1.0*, que gera eletroferogramas com picos fluorescentes correspondentes aos 13 marcadores analisados. As amostras foram classificadas em três categorias: MSI-L (entre 5% e 29% dos marcadores instáveis); MSI-H (30% ou mais) ou MSS (ausência de instabilidade).

Resultados e Discussão

A análise das 60 amostras mostrou maior frequência de instabilidade no marcador NR-22 (68,33%), seguido do BAT-40 (66,67%). Os marcadores NR-24, NR-27, ABI-20B e ABI-19 variaram entre 45% e 46,67%. BAT-25, NR-21 e CAT-25 apresentaram frequências entre 31,67% e 35%, enquanto ABI-17, ABI-16, BAT-26 e ABI-20A tiveram as menores frequências, entre 15% e 21,67% (Gráfico 1).

Gráfico 1: Distribuição percentual de MSI nos tecidos tumorais analisados atendidos na FCEcon.



Entre os indivíduos com fenótipo de instabilidade de microssatélites (MSI), observou-se o predomínio do sexo feminino 65% (39/60) e 83,3% (50/60) de pacientes com idade >50 anos. Além disso, 56,67% relataram histórico familiar de câncer e 70% realizaram algum tratamento, como quimioterapia ou radioterapia. Apenas 26,67% evoluíram para óbito. O subtipo MSI-L foi o mais prevalente, sendo mais frequente entre pacientes do sexo feminino (Tabela 1).

Tabela 1: Características clinicopatológicas dos pacientes de acordo com o estado MSI.

Características	Casos (%)	(N=24) MSI-H %	(N=29) MSI-L %	(N=7) MSS %
Gênero				
Masculino	21 35,0	7 29,2	11 37,9	3 42,7
Feminino	39 65,0	17 70,8%	18 62,0	4 57,5
Idade				
<50	10 16,7	2 8,3%	6 20,7	2 28,6
≥50	50 83,3	22 91,7%	23 79,3	5 71,4
Realizou tratamento				
Sim	42 70,0	17 70,8	20 68,9	5 71,4
Não	18 30,0	7 29,8	9 31,0	2 28,6
Histórico de câncer na família				
Sim	34 56,8	13 54,8	18 62,0	3 42,8
Não	26 43,3	11 45,8	11 37,9	4 57,1
Óbito				
Sim	16 26,6	6 25,0	9 31,0	1 14,3
Não	44 73,3	18 75,0	20 68,9	6 85,7

MSI-H: instabilidade de microssatélites alta; MSI-L: microssatélites baixa; MSS: microssatélites estáveis.

Em um estudo conduzido por Kanemitsu K. et al., no Japão, evidenciou uma frequência de 33,3% para MSI-H em indivíduos com histórico familiar de câncer colorretal, contra 5,4% nos casos esporádicos, indicando possível associação entre MSI e hereditariedade no CCR¹³. De forma semelhante, TANG et al., 2024 realizaram um estudo na China, realizou análise de 451 amostras de tecido tumoral, sendo 56,7%, pacientes do sexo feminino e 43,3% pacientes do sexo masculino, com idade média de 50 anos. Utilizando o *Kit TrueMark™*, os resultados mostraram que o BAT-40 apresentou uma frequência de MSI em 45,5% das amostras, enquanto o NR-22 apareceu em 35% das amostras. Quanto a sua classificação, 45,8% das amostras possuíam fenótipo de MSI-H e 18,3% de MSI-L¹⁴.

Esses achados reforçam a hipótese de que mulheres e pacientes com mais de 50 anos têm maior propensão a desenvolver CCR com MSI, sugerindo um possível padrão epidemiológico. Entre os pacientes que evoluíram a óbito, a maioria apresentava o subtipo MSI-L. Essa observação é compatível com evidências de que tumores com fenótipo MSI-H apresentam maior imunogenicidade e, conseqüentemente, melhor resposta à vigilância imunológica, enquanto os tumores MSS e MSI-L podem escapar dessa detecção, favorecendo a progressão tumoral e a piora clínica¹⁵. Vale ressaltar que, embora os achados sejam consistentes com a literatura, o tamanho amostral e o predomínio do subtipo MSI-L devem ser interpretados com cautela, especialmente no que se refere à associação com mortalidade.

4. Conclusões

Os achados reforçam a importância da caracterização molecular do perfil de MSI como ferramenta complementar no prognóstico, estratificação de risco e definição de estratégias terapêuticas personalizadas para pacientes com CCR. A incorporação de painéis expandidos pode aprimorar a sensibilidade diagnóstica e identificar subgrupos com potencial predisposição hereditária.

5. Referências

1. CANCER today. 2025. Disponível em: <https://www.iarc.who.int/>. Acesso em: 07 Jan. 2025.
2. INCA prevê aumento da mortalidade prematura por câncer de intestino até 2030. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2023/inca-preve-aumento-da-mortalidade-prematura-por-cancer-de-intestino-ate-2030>. Acesso em: 07 de janeiro de 2025.
3. Amazonas-estimativa dos casos novos. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/estado-capital/amazonas>. Acesso em: 07 jan. 2025.
4. Pires ME de P, Mezzomo DS, Leite FMM, de Lucena TM, e Silva J da Silva, Pinheiro MJA, Vargas LJ, Quinteiros MQ, Oliveira MC. Rastreamento do Câncer Colorretal: Revisão de literatura / Colorectal Cancer Screening: Literature Review. *Braz. J. Hea. Rev.* 2021 Mar. 31 [cited 2025 Jan. 07];4(2):6866-81.
5. Schmitt M, Greten FR. The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer. *Nature Reviews Immunology* [Internet]. 2021 Oct 1;21(10):653–67. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41577-021-00534-x>
6. Aggarwal N, Quaglia A, McPhail MJW, Monahan KJ. Systematic review and meta-analysis of tumour microsatellite-instability status as a predictor of response to fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. *International Journal of Colorectal Disease.* 2021 Oct 22;37(1):35–46.
7. Olave MC, Graham RP. Mismatch repair deficiency: The what, how and why it is important. *Genes, Chromosomes and Cancer.* 2021 Dec 9;61(6).
8. Nádorvári ML, Lotz G, Kulka J, Kiss A, József Tímár. Microsatellite instability and mismatch repair protein deficiency: equal predictive markers? *Pathology & Oncology Research.* 2024 Apr 9 [cited 2025 Jan 07];30. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11036414/>.
9. Hatamori H, Arai M, Ide D, Saito S, Igarashi M, Kita M, et al. Malignant potential of colorectal neoplasms in Lynch syndrome: an analysis of 325 lesions endoscopically treated at a single institute. Chino A, editor. *Japanese Journal of Clinical Oncology* . 2021 Apr 30;Volume 51(Issue 5):Pages 737–743.
10. Cai L, Chen A, Tang D. A new strategy for immunotherapy of microsatellite-stable (MSS)-type advanced colorectal cancer: Multi-pathway combination therapy with PD-1/PD-L1 inhibitors. *Immunology.* 2024 Mar 22;173(2):209–26.
11. Xiao J, Li W, Huang Y, Huang M, Li S, Zhai X, Zhao J, Gao C, Xie W, Qin H, Cai S, Bai Y, Lan P, Zou Y. A next-generation sequencing-based strategy combining microsatellite instability and tumor mutation burden for comprehensive molecular diagnosis of advanced colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2021 Mar 16;21(1):282. doi: 10.1186/s12885-021-07942-1. PMID: 33726687; PMCID: PMC7962287.
12. Buhard O, Cattaneo F, Wong YF, Yim SF, Friedman E, Flejou JF, et al. Multipopulation analysis of polymorphisms in five mononucleotide repeats used to determine the microsatellite instability status of human tumors. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2006 Jan 10 ;24(2):241–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16330668/>.
13. Kanemitsu K, Kawasaki K, Nakamura M, Li D, Yasuda T, Kuroda D, Yokozaki H, Kamigaki T, Kuroda Y. MSI is frequently recognized among gastric cancer patients with a family history of cancer. *Hepatogastroenterology.* 2007 Dec;54(80):2410-4. PMID: 18265677.
14. Tang E, Tang C, Lin X, Chen Y, Zhou Y, Pan C, Jiang H. Clinical performance of the TrueMark™ MSI assay for microsatellite instability detection in a Chinese colorectal cancer cohort. *Gene.* 2024 Jul 3;927:148745. doi: 10.1016/j.gene.2024.148745. Epub ahead of print. PMID: 38969248.
15. Lizardo DY, Kuang C, Hao S, Yu J, Huang Y, Zhang L. Immunotherapy efficacy on mismatch repair-deficient colorectal cancer: From bench to bedside. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2020 Dec;1874(2):188447. doi: 10.1016/j.bbcan.2020.188447. Epub 2020 Oct 6.

Financiamento: FAPEAM – Programa PAIC