

ANÁLISE TELOMÉRICA EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA PORTADORES DA MUTAÇÃO *TP53* R337H

Stéfanne Bortolettocipal
stefanne30@gmail.coml
Ariana Centa
Bonald C. Figueiredo
Luciane R. Cavalli

RESUMO

Introdução: A *TP53* R337H é uma mutação germinativa de baixa penetrância, sendo descrita no Brasil em tumores de adrenocortical infantil. O histórico familiar dessas crianças revelou que o câncer de mama era o mais comum nos familiares adultos, seguido por tumores gastrointestinais e cerebrais. Estudos demonstraram que a mutação R337H é mais frequente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, quando comparado com as incidências mundiais, podendo estar associado a um efeito fundador (CUSTÓDIO et al., 2013). O gene *TP53* apresenta papel fundamental na manutenção da estabilidade genômica, no entanto, é desconhecida a atuação de *TP53* mutantes neste processo. Estudos têm demonstrado a associação do comprimento dos telômeros com a antecipação genética, caracterizada pela diminuição na idade do diagnóstico de doenças e/ou aumento da gravidade dos sintomas em sucessivas gerações (MARTINEZ-DELGADO et al, 2011). Os telômeros são sequências não codificantes localizadas na porção final dos cromossomos, tendo como função proteger essas regiões da degradação enzimática, facilitando a replicação completa das moléculas de DNA. A cada divisão das células somáticas ocorre a diminuição dos telômeros e, como consequência, a apoptose celular (MEEKER et al., 2004).

Objetivo: Avaliar a relação entre o comprimento do telômero e a mutação *TP53* R337H em amostras de sangue de mulheres com diagnóstico de câncer de mama, positivas e negativas para a mutação *TP53* R337H, e grupos controles.

Método: Amostras de sangue previamente coletados de mulheres com histórico de câncer de mama (CAM) (n=56) e gástrico (CAG) (n=59) e mulheres sem histórico de câncer (SH) (n=101) com fenótipo positivo (n=127) e negativo (n=89) para mutação *TP53* R337H foram analisadas em relação ao comprimento do telômero. O comprimento dos telômeros (T) foi avaliado através da técnica de qPCR pelo método de *Syber Green*, e calculado em relação ao gene de cópia simples (S) (36B4 - gene referência). Para determinar a diferença entre o comprimento relativo do telômero foi analisada a razão T/S do grupo controle em relação ao T/S dos grupos testes. As idades dos pacientes foram obtidas através dos protocolos médicos previamente obtidos sob consentimento dos envolvidos e aprovação prévia pelo comitê de ética do Hospital Pequeno Príncipe. As comparações entre as amostras positivas (Pos) e negativas (Neg) para a mutação *TP53* R337H nos grupos SH, CAM e CAG foram realizadas utilizando-se o teste estatístico *t test* não pareado com correção de Welch.

Resultados: As reações de amplificação para a avaliação do comprimento relativo dos telômeros foram conclusivas em 214 amostras de CAM, CAG e SH. Nas comparações entre as amostras positivas (Pos) e negativas (Neg) para a

mutação *TP53* R337H nos grupos SH, CAM e CAG, foram observadas diferenças significativas para os grupos CAM e CAG, assim como para o grupo com os dois tipos tumorais (CA=CAM+CAG), com valor de P de 0,0496, 0,0048 e 0,0004, respectivamente. Para o grupo SH não foi observada diferença significativa, entre as amostras positivas e negativas para a mutação. A análise das amostras de acordo com a idade das pacientes (estratificadas binariamente em > e ≤45 anos), no grupo CAM, revelou que o comprimento relativo do telômero das amostras positivas para mutação foi maior que as amostras negativas (≤45 anos, P=0,0329; >45 anos, P=0,0486). Este resultado sugere que em CAM, a mutação R337H pode influenciar na manutenção do comprimento do telômero, independente da idade. No entanto, dentro das amostras do grupo CAM Pos para a mutação, o comprimento do telômero foi maior para as amostras com idade inferior a 45 anos (P=0,0411). Nas amostras Neg não houve diferença significativa em relação a idade. No grupo CAG, as amostras positivas para mutação apresentaram comprimento relativo do telômero maior que as amostras negativas, tanto para pacientes ≤ 45 anos (P=0,0357), quanto para >45 anos (P=0,0187). Estes resultados demonstram que assim como o observado para o CAM, a mutação R337H influencia no comprimento do telômero, independente da idade das pacientes. Ainda nesse grupo, a comparação das amostras Pos e Neg para a mutação, não revelou diferença significativa em relação à idade. Para o grupo SH, foi também observada diferença no comprimento relativo do telômero entre as amostras Pos e Neg para a mutação, independentemente do grupo de idade (≤45 anos, P=0,0017; >45 anos, P=0,0187). A diferença no comprimento relativo do telômero também foi identificada nas comparações entre as amostras de pacientes ≤45 anos e >45 anos, sendo P=0,0314 para o grupo Pos e P=0,0375 para as Neg.

Conclusão: O comprimento dos telômeros é maior nas amostras positivas para a mutação R337H quando comparada com as negativas, nos grupos de pacientes com câncer de mama e/ou gástrico, não apresentando variação nas pacientes sem histórico de câncer. Estes resultados indicam a especificidade tumoral do potencial impacto da mutação R337H no comprimento relativo do telômero. As análises nos grupos amostrais positivos e negativos para a mutação, considerando a idade das pacientes (≤ e < 45 anos), demonstrou em todos os grupos analisados que a mutação R337H influencia no comprimento do telômero, independente da idade. No entanto, dentro das pacientes com câncer de mama com a mutação o comprimento

do telômero foi maior nos pacientes com idade inferior aos 45 anos. No entanto, nas pacientes com câncer gástrico e sem histórico de câncer, com a mutação R337H, a idade não interfere com o comprimento do telômero. Estes resultados indicam a relevância da mutação R337H para o comprimento relativo do telômero, e apontam a idade como uma variável significativa dentro de pacientes positivas para a mutação. Estudos adicionais são necessários para validar estes achados, e determinar a associação entre o comprimento do telômero e a antecipação genética em pacientes com câncer portadores da mutação R337H.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer de mama, comprimento do telômero, encurtamento do telômero, mutação *TP53* R337H.

REFERÊNCIAS

CUSTÓDIO, G. et al. Impact of neonatal screening and surveillance for the TP53 R337H mutation on early detection of childhood adrenocortical tumors. **Journal of Clinical Oncology**, v. 31, n. 20, p. 2619–2626, 2013.

MARTINEZ-DELGADO, B. et al. Genetic anticipation is associated with Telomere shortening in hereditary breast cancer. **PLoS Genetics**, v. 7, n. 7, 2011.

MEEKER, A. K. et al. Telomere Length Abnormalities Occur Early in the Initiation of **Epithelial Carcinogenesis**. v. 10, n. 410, p. 3317–3326, 2004.