

Rudinei Luis Correia, Patricia Ashton-Prolla

Laboratório de Medicina Genômica, Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Contato: rudinei.correia@ufrgs.br

Introdução

- A síndrome de Lynch é uma doença genética autossômica dominante causada por mutações germinativas nos genes do sistema de reparo de malpareamento do DNA (MMR), *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*. Os portadores apresentam um risco significativamente maior que a população geral para o desenvolvimento de tumores colorretais (CCR) e outros tumores.
- A DNA polimerase η (eta), produto do gene *POLH*, pertence a família Y de DNA polimerases que fazem reparo translesional do DNA. Sua principal função reside na capacidade de retomar o processo de replicação em locais com dano ao DNA causados por UV. Estudos recentes mostram que proteínas relacionadas com o sistema de reparo MMR, como *msh2*, *msh3*, e *msh6* interagem com *polh*, sendo esta fundamental para a replicação do DNA em locais com lesões causadas por agentes genotóxicos, que podem estar envolvidos na gênese do CCR.

Objetivo

- Investigar o papel de variantes comuns e raras no gene *POLH* como novos biomarcadores populacionais de suscetibilidade e prognóstico em câncer colorretal hereditário.

Metodologia

1 Sequenciamento de DNA:

Foram recrutados 52 pacientes diagnosticados com Síndrome de Lynch seguindo critérios de Amsterdam e Bethesda.
CEP-HCPA: 11-0234



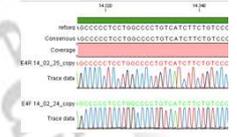
Extração de DNA do sangue periférico. Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit®



PCR dos exons 2-11. (Flanagan et al., 2011)



Sequenciamento Sanger: 3500 Genetic Analyser®



Análise das sequências: FinchTV e CLC Main Workbench®

2 Análise Predição de Função das Variantes:

Regulome DB

➡ Banco de dados que relaciona SNPs com elementos regulatórios presentes nas regiões intergênicas

SNP info

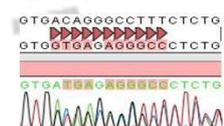
➡ Análise preditora de efeitos funcionais de SNPs.

F-SNP

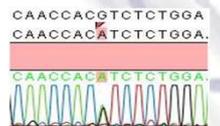
➡ Fornece informações integradas sobre os efeitos funcionais de SNPs.

Resultados

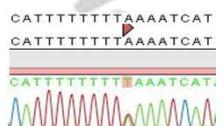
1 Sequenciamento de DNA



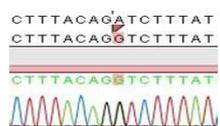
Quatro pacientes apresentaram uma inserção em região intrônica já descrita (rs371325034).



Oito pacientes apresentaram uma alteração de base A>G já descrita (rs3734690).



Dois pacientes apresentaram uma troca de A>T em região intrônica (rs2307465) e uma troca A>G no éxon 11 (rs1064260).



2 Análise Predição de Função das Variantes Genéticas

SNP	Alelo ancestral	Alelo mutado	Número de pacientes	Software Predição	Tipo de alteração
rs371325034	-	GTG	5	F-SNP, SNP info e Regulome DB	-----
rs2307465	T	A	2	F-SNP	Ligação a TF
rs3734690	G	A	8	SNP info e F-SNP	Regulação de Splicing e ligação a TF
rs1064260	A	G	2	SNP info, RegulomeDB e F-SNP	Ligação a TF e miRNA

- As análises *in silico* demonstram que pode haver alteração na ligação a fatores de transcrição (TF) nas três trocas de nucleotídeos, e que no SNP encontrado no éxon 11 pode alterar o sítio de ligação a micro-RNA.
- A inserção GTG (rs371325034) não apresentou alteração pelos preditores utilizados.

Conclusões

- Este é o primeiro estudo a descrever uma possível relação de alterações no gene *POLH* e Síndrome de Lynch;
- Nossos resultados demonstram que alterações no gene *POLH* podem estar relacionadas a suscetibilidade ao CCR e poderão auxiliar o diagnóstico da Síndrome em pacientes que não apresentam mutações em genes clássicos MMR;
- Estudos adicionais são necessários para confirmar nossos achados e correlacioná-los com fatores de prognóstico.

Referências

- Flanagan, AM, et al. The human *POLH* gene is not mutated, and is expressed in a cohort of patients with basal or squamous cell carcinoma of the skin. International Journal Of Molecular Medicine, Vol. 19, no. 4, pp 589-596, 2007.
- Cruet-Hennequart, S., et al. DNA Polymerase eta, a key protein in translesion synthesis in human cells. Subcellular Biochemistry, Vol. 50, pp 189-209, 2010.
- Wilson TM, et al. MSH2-MSH6 stimulates DNA polymerase eta, suggesting a role for A:T mutations in antibody genes. The Journal of Experimental Medicine, Vol. 201, no. 4, pp 637-645, 2005.
- Rie Kanao, et al. A novel interaction between human DNA polymerase η and MutL α . Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol. 389, no 4, pp 40-45, 2009.

Apoio: