

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CAMPUS A.C. SIMÕES

MAX ROCHA FERRO

**RASTREAMENTO DE VARIANTES PATOGÊNICAS GERMINATIVAS EM GENES
ASSOCIADOS À PREDISPOSIÇÃO HEREDITÁRIA AO CÂNCER COLORRETAL**

Maceió – AL

2025

MAX ROCHA FERRO

**RASTREAMENTO DE VARIANTES PATOGÊNICAS GERMINATIVAS EM GENES
ASSOCIADOS À PREDISPOSIÇÃO HEREDITÁRIA AO CÂNCER COLORRETAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Bacharelado em Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Alagoas, como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.^a Dra. Débora de Paula
Michelatto

Coorientadora: Prof.^a Dra. Isabella Lopes
Monlleó

Maceió – AL

2025

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

F395r Ferro, Max Rocha.
 Rastreamento de variantes patogênicas germinativas em genes
 associados à predisposição hereditária ao câncer colorretal / Max Rocha
 Ferro. – 2025.
 84 f. : il. color.

 Orientadora: Débora de Paula Michelatto.
 Coorientadora: Isabella Lopes Monlleó.
 Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas:
 Bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências
 Biológicas e da Saúde. Maceió, 2025.

 Bibliografia: f. 76-84.

 1. Câncer colorretal. 2. Predisposição hereditária. 3. Variantes
 patogênicas germinativas. 4. Testes genéticos. I. Título.

CDU: 575.113.1 : 616-056.7

FOLHA DE APROVAÇÃO

MAX ROCHA FERRO

RASTREAMENTO DE VARIANTES PATOGÊNICAS GERMINATIVAS EM GENES ASSOCIADOS À PREDISPOSIÇÃO HEREDITÁRIA AO CÂNCER COLORRETAL

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à banca examinadora do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alagoas e aprovado em 24 de abril de 2025.

Banca examinadora:



Documento assinado digitalmente

DEBORA DE PAULA MICHELATTO

Data: 27/05/2025 09:39:08-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Orientadora – Prof.^a Dra. Débora de Paula Michelatto, UFAL)



Documento assinado digitalmente

ISABELLA LOPES MONLLEO

Data: 27/05/2025 19:46:33-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Coorientadora – Prof.^a Dra. Isabella Lopes Monlleó, UFAL)



Documento assinado digitalmente

CAROLINNE DE SALES MARQUES

Data: 29/05/2025 12:31:14-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Examinadora Interna – Prof.^a Dra. Carolinne de Sales Marques, UFAL)



Documento assinado digitalmente

JOSE ROBERTO DE OLIVEIRA FERREIRA

Data: 29/05/2025 13:49:28-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Examinador Externo - Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Ferreira, UNCISAL)

Dedico este trabalho àqueles que carregam, em seus genes e em sua jornada, os desafios dos cânceres hereditários. Que a ciência siga abrindo caminhos, e que esta contribuição acadêmica represente um passo, ainda que modesto, em direção a avanços no diagnóstico precoce, tratamento personalizado e amparo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas e instituições que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Agradeço, primeiramente, à minha maior inspiração, minha mãe e bióloga favorita, Maria Marly, pelo apoio e amor irrestrito durante toda a minha vida. Sem ela, nada disso seria possível – desde os conselhos e puxões de orelha até o sustento ao decorrer de 23 longos anos. Tão importante quanto ter uma mãe foi crescer com duas. Minha segunda mãe, minha tia “Ciene”, foi e sempre será minha maior protetora. Desde pequeno até a vida adulta, fui – e sempre serei – seu filho. Não há palavras suficientes para descrever a imensa gratidão que sinto. Sei que, do lado de lá, você está comemorando mais uma conquista da minha vida.

Seguindo o compasso familiar, agradeço ao meu querido Oliver pelo companheirismo, por me mostrar como ser melhor a cada dia e por ser, além de geneticamente, meu pequeno irmão. Ao meu pai, Odecivaldo, agradeço pelos ensinamentos e valores, por moldar meu caráter e sempre prezar pelo que é certo. Encerro este heredograma com meus sinceros agradecimentos a uma pequena parte desta teia familiar: minhas avós, Marina e Vera Lúcia, e meus tios, Diego e Noêmia, que sempre estiveram presentes em minha vida.

Àqueles que escolhi amar, agradeço, em especial, à minha eterna companheira, Alana, por ser meu porto seguro quando as tempestades batem à porta e por compartilhar comigo a felicidade de construir uma vida ao meu lado. Aos meus irmãos e irmãs de faculdade, Eduardo, Wendesley, Rosane, Rebeca, Livia (e Amelie), pelas infinitas risadas e pelo companheirismo. Aos meus grandes amigos de turma, Auana, Mayza, Letícia, Isabelle, Karen, Thales, Geanderson e Gabriela, minha gratidão por cada momento compartilhado ao longo dessa jornada.

Aos que compartilharam comigo a ciência, agradeço especialmente às minhas orientadoras, Débora e Isabella, por todos os ensinamentos – científicos e pessoais –, por partilharem comigo tanto da genética, e, principalmente, pela confiança em meu potencial e trabalho. Nunca esquecerei a oportunidade que me tornou cientista. Aos companheiros de setor, agradeço por toda a boa vivência entre um experimento e outro, especialmente a Yoná, Mirelle, Virgílio, Thays, Daniel, Fábio, Laryane, Dalva, Chrystenise, Marianna, Lucas, Ana Karolina e Mariana. Agradeço aos professores Carolinne Marques e José Roberto Ferreira por gentilmente aceitarem compor a banca examinadora. Aos órgãos de fomento à pesquisa que possibilitaram o financiamento deste trabalho: FAPEAL, CNPQ e UFAL. Ao Centro Acadêmico Enraizando em Terras Secas, agradeço por todo o trabalho e empenho dedicados aos discentes do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde.

Agradeço por último, mas definitivamente não menos importante, a Deus, à minha Nossa Senhora, a todos os santos e espíritos de luz, parafraseando a oração do meu santo de devoção São Francisco de Assis: “Senhor, fazei-me instrumento da vossa paz. Onde houver ódio que eu leve o amor. Onde houver dúvida, que eu leve a fé. Onde houver desespero, que eu leve a esperança. Onde houver trevas, que eu leve a luz.”.

"A ciência nunca resolve um problema sem
criar pelo menos outros dez."

– George Bernard Shaw

RESUMO

Introdução: O câncer colorretal (CCR) está entre os de maior mortalidade, sendo o terceiro mais incidente na população brasileira e mundial. A alta prevalência o torna uma condição de grande relevância para a saúde pública. Cerca de 5% dos casos têm origem hereditária, sendo classificados como Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal (SPHCCR). Variantes Patogênicas Germinativas (VPG) em genes como o *APC*, *MUTYH*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, entre outros, estão associadas a essas síndromes e podem desencadear alterações fisiológicas precursoras do CCR. Um dos principais desafios no manejo clínico é a sobreposição fenotípica entre as diferentes SPHCCR. A identificação de VPG é essencial para aprimorar a assistência aos indivíduos afetados e familiares sob risco, contribuindo para estratégias de prevenção primária e diagnóstico precoce. **Objetivo:** Descrever os aspectos genéticos em pacientes com alto risco para SPHCCR atendidos no Hospital Universitário Professor Alberto Antunes da Universidade Federal de Alagoas (HUPAA/UFAL). **Metodologia:** O rastreamento de VPG em genes associados às SPHCCR foi realizado por meio de Sequenciamento de Nova Geração (NGS). A validação dos achados foi realizada no Laboratório de Genética Molecular Humana (LGMH/HUPAA/UFAL), utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase alelo-específica (PCR-AE). A relação genótipo-fenótipo foi estabelecida com base em bancos de dados públicos e revisão da literatura. **Resultados:** Foram analisadas 14 famílias com alto risco de SPHCCR. Em seis participantes foram identificadas seis VPG e uma Variante de Significado Incerto (VUS, do inglês *Variant of Uncertain Significance*) nos genes *APC* (c.3927_3931delAAAGA; c.847C>T e c.1315_1316dup), *MUTYH* (c.452A>G e c.1063delC), *SMAD4* (c.1139+3A>G) e *BRCA1* (c.1687C>T). A correlação genótipo-fenótipo foi estabelecida em 28,6% dos participantes. Todos receberam aconselhamento genético pós-teste e os testes diagnósticos por PCR-AE foram implementados no LGMH/HUPAA/UFAL, estando disponíveis para futura incorporação ao SUS. **Conclusões:** Estes resultados corroboram a literatura ao evidenciar a associação entre diferentes VPG e fenótipos sobrepostos e ampliam o conhecimento sobre a correlação genótipo-fenótipo, especialmente nos genes *BRCA1* e *SMAD4*. O estudo reforça a importância de rastreamento de VPG em SPHCCR e destaca a sua aplicabilidade clínica. A investigação de familiares sob risco, mediante aconselhamento genético pré-teste, representou uma oportunidade valiosa para ações de prevenção primária.

Palavras-chave: Síndromes Neoplásicas Hereditárias; Neoplasias Colorretais; Polipose Intestinal; Testes Genéticos.

ABSTRACT

Introduction: Colorectal cancer (CRC) is among the most lethal cancers and ranks as the third most common in both the Brazilian and global populations. Its high prevalence makes it a significant public health concern. Approximately 5% of CRC cases have a hereditary origin and are classified as Hereditary Colorectal Cancer Predisposition Syndromes (HCCPS). Germline Pathogenic Variants (GPVs) in genes such as *APC*, *MUTYH*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, among others, are associated with these syndromes and may trigger physiological changes that precede CRC. One of the main challenges in clinical management is the phenotypic overlap among different HCCPS. Identifying GPV is essential to improve care for affected individuals and at-risk family members, contributing to primary prevention and early diagnosis strategies.

Objective: To describe the genetic aspects of patients at high risk for HCCPS treated at the Professor Alberto Antunes University Hospital of the Federal University of Alagoas (HUPAA/UFAL). **Methods:** GPV screening in genes associated with HCCPS was performed using Next-Generation Sequencing (NGS). Variant validation was conducted at the Human Molecular Genetics Laboratory (LGMH/HUPAA/UFAL) using the allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR) technique. Genotype-phenotype correlations were established based on public databases and literature review. **Results:** Fourteen families at high risk for HCCPS were analyzed. In six participants, six GPVs and one Variant of Uncertain Significance (VUS) were identified in the following genes: *APC* (c.3927_3931delAAAGA; c.847C>T; c.1315_1316dup), *MUTYH* (c.452A>G; c.1063delC), *SMAD4* (c.1139+3A>G), and *BRCA1* (c.1687C>T). Genotype-phenotype correlation was established in 28.6% of participants. All individuals received post-test genetic counseling, and diagnostic tests using AS-PCR were implemented at LGMH/HUPAA/UFAL and are available for future incorporation into the Brazilian Unified Health System (SUS). **Conclusions:** These findings support the literature by demonstrating the association between different GPVs and overlapping phenotypes, and they expand knowledge on genotype-phenotype correlations, particularly involving *BRCA1* and *SMAD4*. The study reinforces the importance of GPV screening in HCCPS and highlights its clinical applicability. The investigation of at-risk relatives through pre-test genetic counseling represented a valuable opportunity for primary prevention actions.

Keywords: Hereditary Neoplastic Syndromes; Colorectal Neoplasms; Intestinal Polyposis; Genetic Testing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Comparação entre a origem do câncer esporádico e do câncer hereditário de herança monogênica autossômica dominante.....	19
Figura 2.	Classificação das Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal por fenótipos, síndromes e genes associados.....	21
Figura 3.	Pólipo adenomatoso visualizado através de colonoscopia.	23
Figura 4.	Gene <i>APC</i> , seus domínios proteicos e a associação do fenótipo de Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) e PAF atenuada em relação a localização gênica da Variante Patogênica Germinativa.	24
Figura 5.	Pólipo hamartomatoso visualizado através de colonoscopia.....	26
Figura 6.	Pólipo serrilhado com displasia visualizado através de colonoscopia.....	28
Figura 7.	Esquematização da técnica de reação em cadeia da polimerase alelo específica (PCR–AE).....	33
Figura 8.	Confirmação da presença/ausência de Variantes Patogênicas Germinativas (VPG) através de eletroforese em gel de agarose.....	34
Figura 9.	Heredograma da família CH02.....	36
Figura 10.	Heredograma da família CH03.....	37
Figura 11.	Heredograma da família CH04.....	38
Figura 12.	Heredograma da família CH05.....	39
Figura 13.	Heredograma da família CH06.....	40
Figura 14.	Heredograma da família CH07.....	41
Figura 15.	Heredograma da família CH08.....	42
Figura 16.	Heredograma da família CH09.....	43
Figura 17.	Heredograma da família CH10.....	44
Figura 18.	Heredograma da família CH11.....	45
Figura 19.	Heredograma da família CH12.....	46
Figura 20.	Heredograma da família CH13.....	47
Figura 21.	Heredograma da família CH15.....	48
Figura 22.	Heredograma da família CH16.....	49
Figura 23.	Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4) no gene <i>APC</i>	53
Figura 24.	Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.847C>T (p.Arg283*) no gene <i>APC</i>	55

Figura 25.	Eletoforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15) no gene <i>APC</i>	57
Figura 26.	Eletoforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.452A>G (p.Tyr151Cys) no gene <i>MUTYH</i>	59
Figura 27.	Eletoforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1063delC (p.Ala357Profs*23) no gene <i>MUTYH</i>	62
Figura 28.	Eletoforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VUS c.1139+3A>G no gene <i>SMAD4</i>	65
Figura 29.	Eletoforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1687C>T (p.Gln563*) no gene <i>BRCA1</i>	67
Figura 30.	Localização molecular das Variantes Patogênicas Germinativas identificadas por Sequenciamento de Nova Geração no gene <i>APC</i>	68

LISTA DE QUADROS

Quadro 1:	Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4) no gene <i>APC</i>	51
Quadro 2:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.3927_3931delAAAGA no gene <i>APC</i>	52
Quadro 3:	Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.847C>T (p.Arg283*) no gene <i>APC</i>	53
Quadro 4:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.847C>T no gene <i>APC</i>	54
Quadro 5:	Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15) no gene <i>APC</i>	55
Quadro 6:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1315_1316dup no gene <i>APC</i>	56
Quadro 7:	Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.452A>G (p.Tyr151Cys) no gene <i>MUTYH</i>	57
Quadro 8:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.452A>G (p.Tyr151Cys) no gene <i>MUTYH</i>	58
Quadro 9:	Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.1063delC (p.Ala357Profs*23) no gene <i>MUTYH</i>	59
Quadro 10:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem no gene <i>MUTYH</i>	60
Quadro 11:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo com a VPG c.1063delC no gene <i>MUTYH</i>	61
Quadro 12:	Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.1139+3A>G no gene <i>SMAD4</i>	62
Quadro 13:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem no gene <i>SMAD4</i>	63
Quadro 14:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo com a VPG c.1139+3A>G no gene <i>SMAD4</i>	64
Quadro 15:	Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.1687C>T (p.Gln563*) no gene <i>BRCA1</i>	65
Quadro 16:	Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1687C>T (p.Gln563*) no gene <i>BRCA1</i>	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características genotípicas, fenotípicas e correlação genótipo fenótipo dos participantes com Variantes Patogênicas Germinativas identificadas.....	50
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACMG	<i>American College of Medical Genetics and Genomics</i>
CARDIS	Estudos Interdisciplinares em Anomalias Congênitas e Doenças Raras
CCR	Câncer colorretal
CCR-X	CCR familiar do tipo X
CMMRD	Síndrome da deficiência completa dos genes de reparo do tipo <i>mismatch</i> ;
EB1	Proteína EB1
GCO	<i>Global Cancer Observatory</i>
GREM1	Polipose Mista associada ao gene <i>GREM1</i> .
HCEPR	Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina
HUPAA	Hospital Universitário Professor Alberto Antunes
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
JPS	Polipose Juvenil;
LGMH	Laboratório de Genética Molecular Humana
MAP	Polipose associada ao gene <i>MUTYH</i> ;
MMR	Genes de reparo ao DNA do tipo <i>mismatch</i>
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NGS	Sequenciamento de Nova Geração
NTHL1	Polipose associada ao gene <i>NTHL1</i> ;
PAF	Polipose Adenomatosa Familiar;
PAFa	PAF atenuada;

PCR–AE	Reação em cadeia da polimerase alelo específica
PHTS	Síndrome do tumor hamartomatoso <i>PTEN</i> ;
PJS	Síndrome de Peutz–Jeghers;
PPAP	Polipose associada a deficiências nas polimerases de revisão do DNA;
q.s.p.	Quantidade suficiente para
RNF43	Polipose Serrilhada associada ao gene <i>RNF43</i> ;
SAMP	Locais de ligação da proteína Axin
SGC	Serviço de Genética Clínica
SL	Síndrome de Lynch
SPHC	Síndrome de Predisposição Hereditária ao Câncer
SPHCCR	Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal
SUS	Sistema Único de Saúde
TMA	Temperatura Média de Anelamento
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
VPG	Variantes Patogênicas Germinativas
VUS	Variante de Significado Incerto
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Câncer.....	18
2.1.1 Câncer Esporádico	19
2.1.2 Câncer hereditário.....	20
2.2 Câncer Colorretal	20
2.2.1 Síndromes de predisposição hereditária ao câncer colorretal sem polipose.....	22
a. Síndrome de Lynch.....	22
b. CCR familiar do tipo X.....	22
2.2.2 Síndromes de predisposição hereditária ao câncer colorretal poliposas.....	23
a. Polipose adenomatosa.....	23
a.1 Polipose adenomatosa familiar (PAF)	24
a.2 Polipose associada a deficiências nas polimerases de revisão do DNA (PPAP)	25
a.3 Polipose associada ao gene <i>MUTYH</i> (MAP)	25
a.4 Polipose associada ao gene <i>NTHL1</i> (NTHL1).....	25
a.5 Síndrome da deficiência completa dos genes de reparo do tipo <i>mismatch</i> (CMMRD)	26
b) Polipose hamartomatosa.....	26
b.1 Síndrome de Peutz-Jeghers (PJS)	27
b.2 Polipose juvenil (JPS).....	27
b.3 Síndrome do tumor hamartomatoso PTEN (PHTS)	27
c. Polipose serrilhada	27
c.1 Polipose Serrilhada associada ao gene <i>RNF43</i> (RNF43).....	28
d. Polipose mista.....	28
d.1 Polipose Mista associada ao gene <i>GREM1</i> (GREM1)	29
2.2.3 Sobreposição dos fenótipos e diagnóstico molecular.	29
3. OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo geral.....	30
3.2 Objetivos específicos.....	30
4. PARTICIPANTES E MÉTODOS	31
4.1 Delineamento e aspectos éticos	31
4.2 Recrutamento dos participantes e coleta de dados e material biológico	31
4.3 Rastreamento de VPG.....	31
4.4 Validação por PCR–AE	32
4.5 Caracterização de VPG e correlação genótipo-fenótipo	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1 Caracterização da amostra	35
5.2 Validação por PCR–AE das variantes identificadas	51

5.2.1 Confirmação das variantes no gene <i>APC</i>	51
a. Variante c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4).....	51
b. Variante c.847C>T (p.Arg283*)	53
c. Variante c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15).....	55
5.2.2 Confirmação das variantes no gene <i>MUTYH</i>	57
a. Variante c.452A>G (p.Tyr151Cys)	57
b. Variante c.1063delC (p.Ala357Profs*23)	59
5.2.3 Confirmação da variante no gene <i>SMAD4</i>	62
a. Variante c.1139+3A>G.....	62
5.2.4 Confirmação das variantes no gene <i>BRCAl</i>	65
a. Variante c.1687C>T (p.Gln563*).....	65
5.3 Caracterização das VPG e correlação genótipo-fenótipo	67
5.3.1 Variantes identificadas no gene <i>APC</i>	67
a. Variante c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4).....	68
b. Variante c.847C>T (p.Arg283*)	69
c. Variante c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15).....	69
5.3.2 Variantes identificadas no gene <i>MUTYH</i>	70
a. Variante c.452A>G (p.Tyr151Cys)	70
b. Variante c.1063delC (p.Ala357Profs*23)	71
5.3.3 Variantes identificadas no gene <i>SMAD4</i>	72
a. Variante c.1139+3A>G.....	72
5.3.4 Variantes identificadas no gene <i>BRCAl</i>	72
a. Variante c.1687C>T (p.Gln563*).....	73
5.3.5 Participantes CH05, CH06, CH10, CH11, CH12, CH13, CH15 e CH16	73
6. CONCLUSÕES	74
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76

1. INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é a terceira neoplasia mais comum em incidência e a segunda em mortalidade na população mundial, sendo responsável por 9,3% das mortes por câncer (*Global Cancer Observatory* - GCO, *International Agency for Research on Cancer* - IARC e *World Health Organization* - WHO, 2022). No Brasil, estima-se que mais de 45 mil novos casos sejam diagnosticados no triênio 2023-2025 (Instituto Nacional do Câncer – INCA, 2023).

O CCR é uma doença heterogênea. A maioria dos casos tem origem multifatorial, podendo estar associados a fatores como idade avançada, estilo de vida sedentário, obesidade, consumo excessivo de álcool e tabaco, além de uma dieta rica em carne vermelha e alimentos ultraprocessados, e pobre em fibras, cálcio e vitamina D. Estes fatores ambientais e comportamentais aumentam a chance de surgimento de variantes patogênicas somáticas em genes relacionados à predisposição ao CCR (Sawicki *et al.*, 2021).

Entretanto, segundo a *American Cancer Society* (2024), cerca de 5-10% dos casos de CCR surgem em decorrência de Variantes Patogênicas Germinativas (VPG) em genes associados à predisposição ao CCR. Esses casos apresentam transmissão hereditária de padrão mendeliano e são denominados Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal (SPHCCR). Suspeita-se da existência de SPHCCR frente aos seguintes achados: 1. Diagnóstico de CCR anterior aos 50 anos; 2. 10 ou mais pólipos cumulativos ao longo da vida; 3. Histórico familiar de pólipos e/ou cânceres (*National Comprehensive Cancer Network* – NCCN, 2025).

As SPHCCR são doenças raras e atualmente cerca de 20 genes já foram associados a elas. Do ponto de vista macroscópico se subdividem em dois grandes grupos: SPHCCR sem polipose e SPHCCR poliposas (Seppälä *et al.*, 2023). As SPHCCR sem polipose, caracterizadas pela ausência de pólipos no cólon e reto, têm como principais genes associados *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* e *EPCAM*. Neste grupo estão a Síndrome de Lynch (SL) e o CCR familiar do tipo X (CCR-X) (Peltomäki, 2005; Daca-Alvarez *et al.*, 2021; Seppälä *et al.*, 2023).

As SPHCCR poliposas são causadas por alterações em genes que resultam no desenvolvimento de dezenas a milhares de pólipos intestinais, precursores do CCR (Shussman; Wexner, 2014). Os principais genes associados às SPHCCR poliposas são *APC*, *MUTYH*, *BMPRIA*, *SMAD4*, *POLE*, *POLD1*, *NTHL1*, *STK11* e *PTEN*. Estes genes estão relacionados à polipose adenomatosa familiar (*APC*), polipose intestinal associada ao gene *MUTYH*, polipose juvenil (*BMPRIA* e *SMAD4*), polipose associada a deficiências nas polimerases de revisão do

DNA (*POLE* e *POLD1*), polipose associada ao gene *NTHL1*, síndrome de Peutz-Jeghers e Síndrome do tumor hamartomatoso PTEN (Howe *et al.*, 1998; Hearle *et al.*, 2006; Cleary *et al.*, 2009; Lagarde *et al.*, 2010; Tan *et al.*, 2012; Weren *et al.*, 2015; Wimmer *et al.*, 2017; Daniell *et al.*, 2018; Weren *et al.*, 2018; Dinarvand *et al.*, 2019; Daca-Alvarez *et al.*, 2021).

Devido à grande sobreposição dos fenótipos, a identificação de VPG em genes associados à SPHCCR através de testes moleculares é essencial para o aconselhamento genético e adequação do manejo clínico. Ambas as ações de saúde têm impacto não só sobre o indivíduo em que foi identificada a VPG, mas em familiares sob risco de apresentá-la (Provenzale *et al.*, 2020, NCCN, 2025). Considerando a sobreposição dos fenótipos das SPHCCR e a vasta quantidade de genes associados, o Sequenciamento de Nova Geração (NGS, do inglês *Next Generation Sequencing*) mostra-se como a opção mais eficaz para o rastreio de VPG em indivíduos com alto risco para SPHCCR. Essa técnica permite analisar diversos genes simultaneamente, em um curto período, e possibilita a identificação desde substituições de nucleotídeos até deleções e inserções nos genes analisados (Behjati; Tarpey, 2013).

Uma vez identificada uma VPG é possível rastreá-la em familiares sob risco pela reação em cadeia da polimerase alelo-específica (PCR–AE), técnica simples de amplificação de alelos com baixo custo de manutenção. A identificação da VPG possibilita, portanto, o diagnóstico de familiares antes do aparecimento dos sintomas e, desta forma, a prevenção primária do CCR. Atualmente o teste molecular para o rastreio de VPG em indivíduos com alto risco para SPHCCR não está disponível no Sistema Único de Saúde (SUS) de Alagoas. O custo elevado destes exames dificulta o acesso dos pacientes e seus familiares à investigação molecular.

Desde a implantação da linha de pesquisa “Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer” em 2021, o grupo de pesquisa “Estudos Interdisciplinares em Anomalias Congênitas e Doenças Raras” (CARDIS, do inglês *Congenital Anomalies and Rare Disease Interdisciplinary Studies*) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), tem realizado busca ativa no Hospital Universitário Professor Alberto Antunes (HUPAA/UFAL) de pacientes que preenchem critérios para SPHCCR.

No presente estudo foi realizado o rastreamento de VPG que possam justificar o fenótipo observado em casos selecionados a partir da mencionada busca ativa. As variantes identificadas foram confirmadas por PCR–AE no Laboratório de Genética Molecular Humana (LGMH) do HUPAA/UFAL, o que possibilitou a investigação molecular de familiares igualmente considerados sob risco, por meio de teste em cascata.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Câncer

O corpo humano é composto por trilhões de células, cada uma com funções e características diversas. Em condições típicas, essas células seguem o ciclo celular, no qual crescem, se multiplicam pela divisão celular (formando novas células idênticas) e, devido ao envelhecimento ou a danos, podem sofrer apoptose, um processo de morte celular programada. Durante o ciclo celular, células de qualquer parte do corpo podem sofrer alterações em seu DNA, o que pode levar a consequências clínicas importantes (*National Cancer Institute*, 2021).

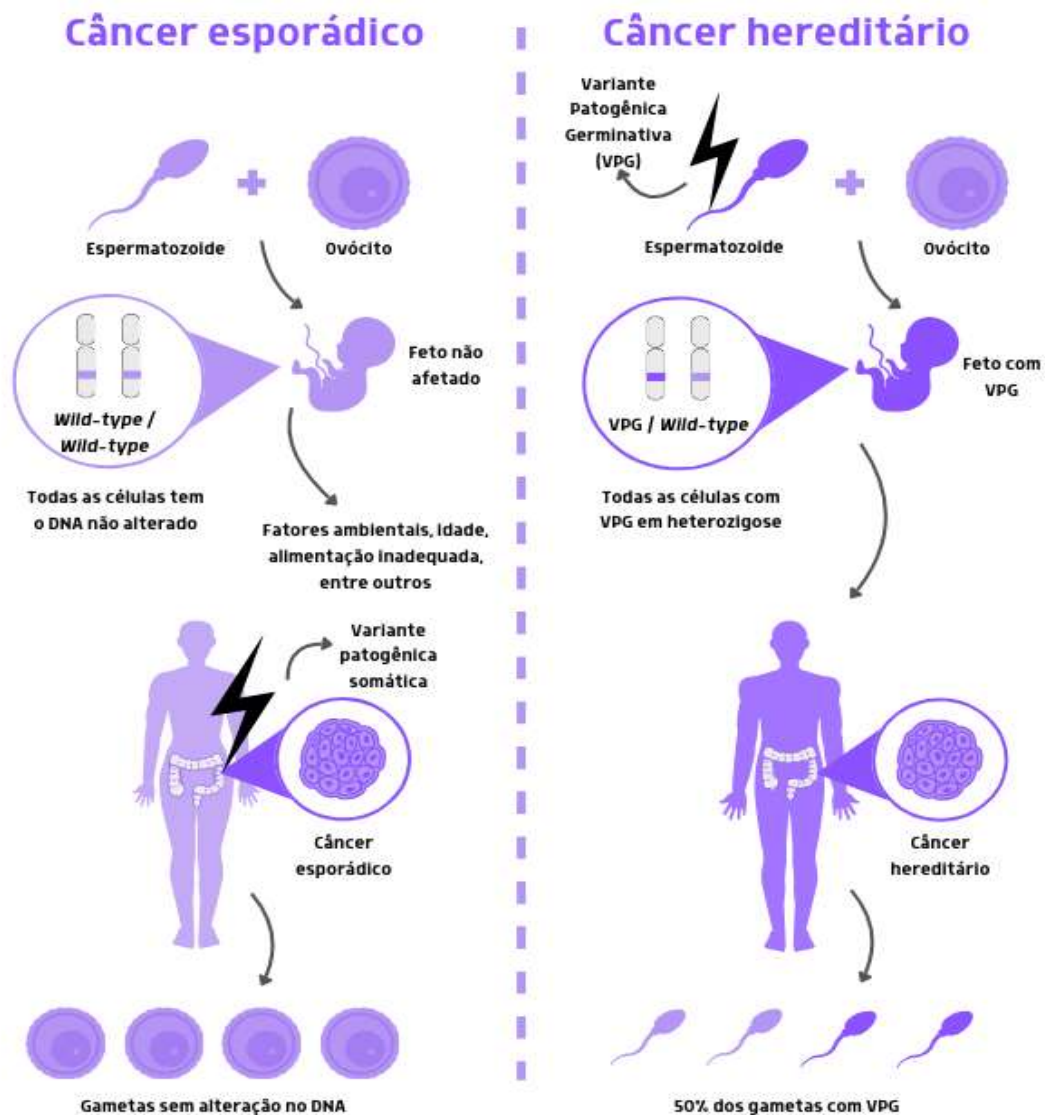
A classificação de risco dessas alterações genéticas é realizada com base nos padrões e diretrizes definidos pela *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) em cinco categorias: variante benigna, provavelmente benigna, Variante de Significado Incerto (VUS, do inglês *Variant of Uncertain Significance*), provavelmente patogênica e patogênica. Variantes cujo efeito no organismo ainda não é completamente compreendido são classificadas como VUS. Esta classificação pode ser atualizada à medida que novos indivíduos são identificados como portadores e à medida que o efeito destas variantes é estudado em análises clínicas e laboratoriais (Richards *et al.*, 2015).

Quando variantes patogênicas ocorrem em genes do tipo proto-oncogenes (envolvidos na regulação do crescimento e proliferação celular), genes supressores de tumor (responsáveis pela regulação e prevenção do crescimento celular descontrolado) ou genes de reparo do DNA, as células podem crescer e se dividir de forma descontrolada. O conjunto dessas células é denominado tumor. Os tumores são classificados em benignos (não cancerígenos) ou malignos (cancerígenos). Tumores benignos não têm a capacidade de se espalhar e invadir tecidos adjacentes e, normalmente, não voltam a crescer após a sua remoção. Contudo, mesmo sendo benignos, podem representar um risco significativo para a saúde, dependendo de seu tamanho e localização, podendo ser fatais se situados em áreas críticas. Além disso, um tumor originalmente benigno pode sofrer transformação maligna (*National Cancer Institute*, 2021).

Por outro lado, tumores malignos, também denominados cânceres, possuem a capacidade de invadir tecidos adjacentes e, por meio da corrente sanguínea ou linfática, se espalhar para outras partes do corpo, formando novos tumores. Esse processo é denominado de metástase. Embora todos os cânceres tenham origem genética, eles podem ser classificados em esporádicos

ou hereditários, a depender da origem da variante patogênica (Figura 1) (*National Cancer Institute*, 2021).

Figura 1. Comparação entre a origem do câncer esporádico e do câncer hereditário de herança monogênica autossômica dominante.



Legenda: VPG – Variante Patogênica Germinativa; *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025), adaptado de Blog Mendelics, 2024.

2.1.1. Câncer Esporádico

O câncer esporádico, responsável por 90% dos casos no mundo, resulta de alterações genéticas que ocorrem ao longo da vida nas células somáticas do indivíduo (Coleman; Tsongalis, 2016). Essas alterações são causadas por fatores não hereditários, como o

envelhecimento (que diminui a eficácia dos mecanismos celulares de reparo ao DNA), exposição à radiação, alimentação inadequada, tabagismo e alcoolismo, entre outros (IARC, 2020). Embora a população geral tenha um risco natural ao longo da vida de desenvolver câncer, especialmente com a exposição aos fatores mencionados, é possível que famílias inteiras apresentem casos de câncer sem origem hereditária, dado que esta doença está frequentemente associada ao estilo de vida (Sandhu *et al.*, 2024).

2.1.2 Câncer hereditário

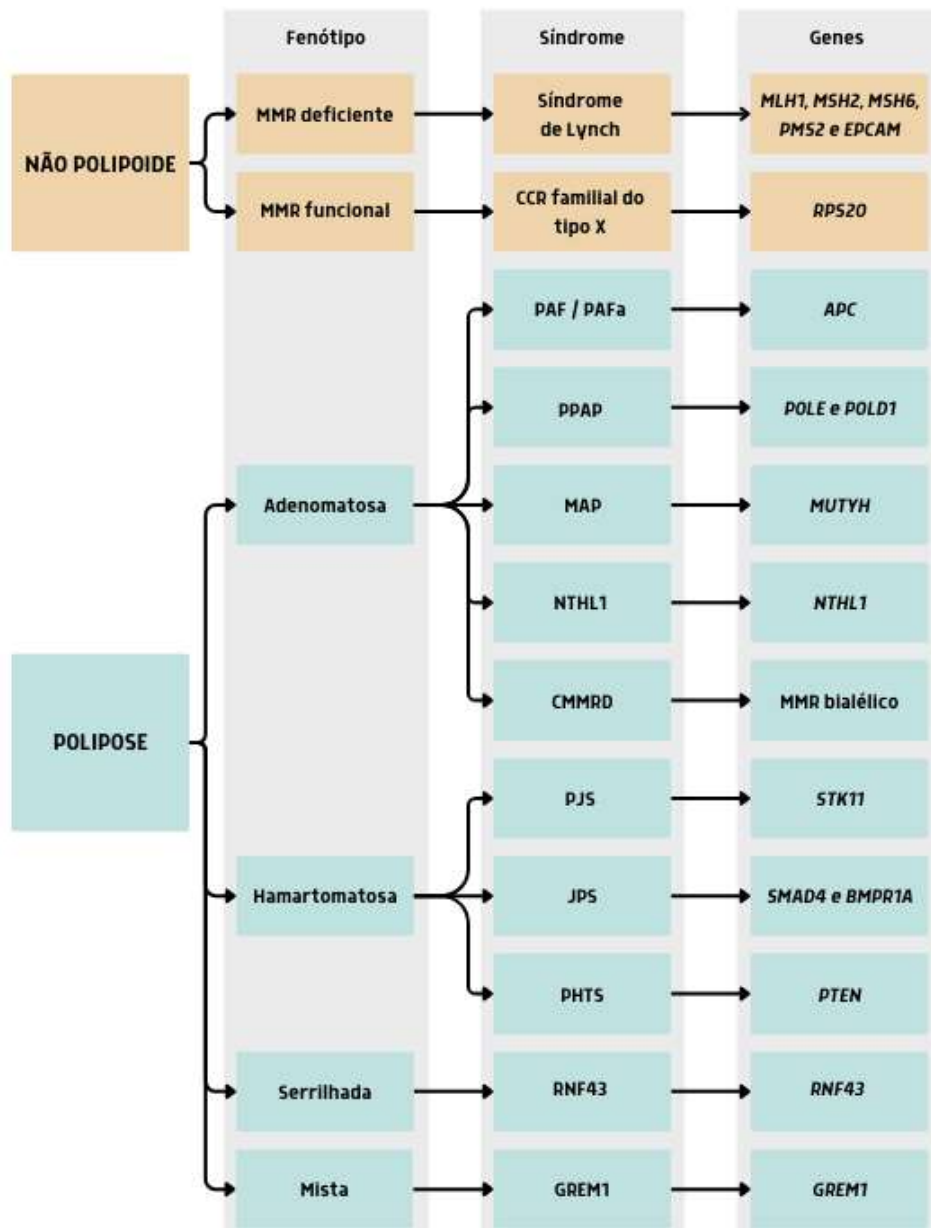
Em 5-10% dos casos de câncer, alterações genéticas nas células germinativas do indivíduo são responsáveis pelo fenótipo, configurando um câncer hereditário. Nesse caso, VPG são herdadas de um ou ambos os genitores, resultando em uma Síndrome de Predisposição Hereditária ao Câncer (SPHC). Dependendo do gene afetado, as SPHC podem apresentar padrão de herança autossômico dominante, quando apenas um alelo alterado é suficiente para causar o fenótipo, ou recessivo, quando o fenótipo se manifesta apenas quando ambos os alelos apresentam VPG, seja em homozigose (mesma alteração herdada de ambos os genitores, comum em uniões consanguíneas) ou heterozigose composta (alterações diferentes, cada uma herdada de um genitor). Os cânceres hereditários possuem características importantes para a sua suspeição, sendo as principais o surgimento precoce da doença e múltiplos casos familiares de câncer em mesmo sítio ou em sítios com origem comum no desenvolvimento (Knudson, 1985; Turnbull; Hodgson, 2005; Majithia *et al.*, 2023).

2.2 Câncer Colorretal

O CCR é o terceiro mais incidente no Brasil e no mundo, abrangendo neoplasias do cólon ao reto (GCO, 2022; INCA, 2023). O rastreamento de CCR é realizado por colonoscopia, exame no qual a identificação de tumores e lesões, associada a análise histopatológica, permite o diagnóstico clínico. Quando detectado precocemente, seu tratamento, que pode incluir abordagens farmacológicas e cirurgias redutoras de risco, apresenta alta eficácia.

A maioria dos casos de CCR têm origem somática, contudo cerca de 5-10% dos casos são hereditários, decorrendo de VPG em genes associados às SPHCCR. Suspeita-se da existência de SPHCCR frente aos seguintes achados: 1. Diagnóstico de CCR anterior aos 50 anos; 2. 10 ou mais pólipos cumulativos ao longo da vida; 3. Histórico familiar de pólipos e/ou cânceres (NCCN, 2025). As SPHCCR são subdivididas em: sem polipose e poliposas (Figura 2).

Figura 2. Classificação das Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal por fenótipos, síndromes e genes associados.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025), adaptado de Valle *et al.* (2019), Daca-Alvarez *et al.* (2021) e Seppälä *et al.* (2023).

Legenda: MMR – genes de reparo ao DNA do tipo *mismatch*; CCR – câncer colorretal; PAF – Polipose Adenomatosa Familiar; PAFa – PAF atenuada; PPAP – polipose associada a deficiências nas polimerases de revisão do DNA; MAP – Polipose associada ao gene *MUTYH*; NTHL1 – Polipose associada ao gene *NTHL1*; CMMRD – Síndrome da deficiência completa dos genes de reparo do tipo *mismatch*; PJS – Síndrome de Peutz–Jeghers; JPS – Polipose Juvenil; PHTS – Síndrome do tumor hamartomatoso PTEN; RNF43 – Polipose Serrilhada associada ao gene *RNF43*; GREM1 – Polipose Mista associada ao gene *GREM1*.

2.2.1. Síndromes de predisposição hereditária ao câncer colorretal sem polipose

As SPHCCR sem polipose são caracterizadas pela ausência de pólipos no trato gastrointestinal e são subdivididas em SL e CCR familiar do tipo X, de acordo com a deficiência ou proficiência dos genes de reparo ao DNA do tipo *mismatch* (genes MMR, do inglês *mismatch repair genes*) (Marra; Boland, 1995).

a. Síndrome de Lynch

A SL é causada por VPG nos genes MMR, como *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*. Esses genes apresentam padrão de herança autossômico dominante e atuam na reparação de erros de pareamento das bases do DNA durante a replicação celular, corrigindo alterações que poderiam, de outra forma, se acumular (Marra; Boland, 1995; Valle, 2023).

VPG nestes genes resultam na deficiência deste mecanismo de reparo, levando ao acúmulo de erros genéticos nas células. Isso causa instabilidade genética, que pode comprometer o controle do ciclo celular e da apoptose, promovendo o crescimento celular descontrolado. Esse fenômeno é um dos principais mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento de câncer, especialmente CCR e outros tipos associados à SL (Lynch; Smyrk, 1996; Valle, 2023).

b. CCR familiar do tipo X

O CCR-X é caracterizado por um histórico familiar de CCR em múltiplos membros da família, sem a presença de VPG nos genes MMR, indicando que estes genes são proficientes. Os principais genes estudados na tentativa de se elucidar a etiologia do CCR-X foram *CHEK2*, *OGGI*, *FAN1*, *ATR*, *ASXL1*, *PARK2*, *SLX4*, *TREX1*, *RPS20* e *BMPRIA*, contudo, até o momento, nenhum foi consistentemente associado a esta síndrome. Dessa forma o CCR-X representa um tipo de câncer hereditário com uma base genética ainda desconhecida, sendo diferenciado molecularmente da SL por não apresentar instabilidade de microssatélites. Portadores de CCR-X possuem tumores diagnosticados em idades mais avançadas que portadores com SL, incidência inferior de tumores extra-colônicos e apresentam um risco maior de morte por câncer (Nieminen *et al.*, 2014; Nejadttaghi *et al.*, 2017; Garcia *et al.*, 2022).

2.2.2 Síndromes de predisposição hereditária ao câncer colorretal poliposas

As SPHCCR poliposas são caracterizadas pela presença de múltiplos pólipos no cólon e reto, que são precursores do CCR (Aretz, 2010). Pólipos são formações que se projetam no lúmen de uma víscera oca, podendo ser classificados macroscopicamente como sésseis (planos, surgindo da camada mucosa) ou pedunculados (presos um pedúnculo fibrovascular). Histologicamente, os pólipos podem ser adenomatosos, hamartomatosos, serrilhados ou mistos. Essa classificação histológica é fundamental para a subdivisão das SPHCCR poliposas. Embora a maioria dos pólipos não evolua para câncer, muitos casos de CCR se desenvolvem a partir de pólipos adenomatosos (Shussman; Wexner, 2014; Calviño; González, 2022).

a. Polipose adenomatosa

Pólipos adenomatosos são tumores benignos epiteliais caracterizados por células que formam estruturas glandulares (ou derivadas do epitélio glandular) anormais (Figura 3), podendo estes pólipos variar em tamanho e quantidade (Kővári *et al.*, 2021) As poliposes adenomatosas são divididas em: Polipose Adenomatosa Familiar (PAF), Polipose associada à correção da polimerase (PPAP), Polipose associada ao gene *MUTYH* (MAP), Polipose associada ao gene *NTHL1* (NTHL1) e Síndrome de deficiência constitucional da reparação dos erros de emparelhamento (CMMRD), que serão brevemente abordadas a seguir.

Figura 3. Pólipo adenomatoso visualizado através de colonoscopia.

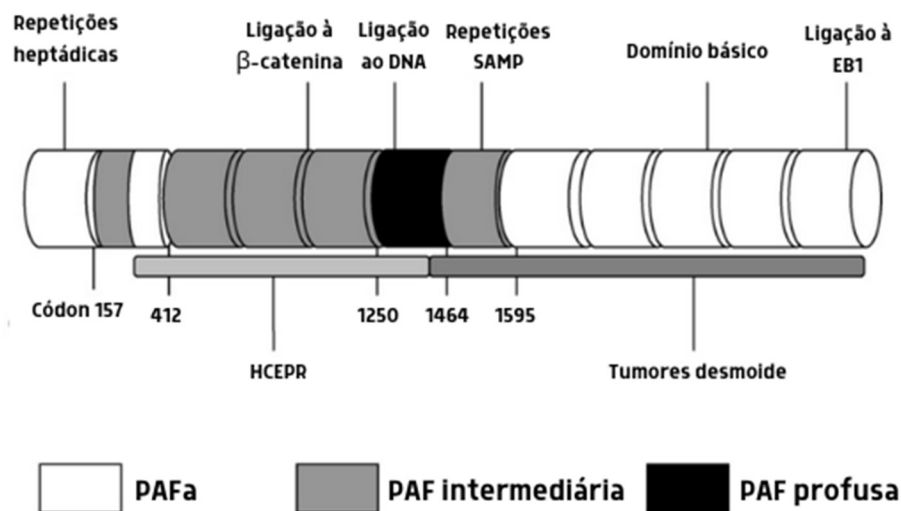


Fonte: Levine; Ahnen (2006)

a.1. Polipose Adenomatosa Familiar (PAF)

A PAF é causada por VPG no gene *APC*, um supressor tumoral com padrão de herança autossômica dominante. Cerca de 1% de todos os casos de CCR são devidos a esta condição (Mork *et al.*, 2015). A presença de pelo menos uma VPG no gene *APC* é responsável pelo surgimento de dezenas a milhares de pólipos adenomatosos no cólon e reto do portador, sendo o risco de desenvolvimento de CCR ao longo da vida de aproximadamente 100% se não tratada (Waller *et al.*, 2016). Manifestações extra colônicas podem ser ocorrer, como pólipos e câncer no duodeno, hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina, hepatoblastoma, tumor desmoide, osteomas, câncer de tireoide, câncer gástrico e no pâncreas (Dinarvand *et al.*, 2019). A PAF é classificada em PAF atenuada (PAFa) e PAF clássica, de acordo com o número de pólipos e gravidade do fenótipo, estando correlacionada diretamente à localização molecular da VPG no gene *APC* (Nieuwenhuis; Vasen, 2007). PAF clássica é ainda subdividida em duas subcategorias: PAF intermediária e PAF profusa (Figura 4).

Figura 4. Gene *APC*, seus domínios proteicos e a associação do fenótipo de Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) e PAF atenuada em relação a localização gênica da Variante Patogênica Germinativa.



Legenda: SAMP: locais de ligação da proteína Axina; EB1: proteína EB1; HCEPR: hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina; PAFa: Polipose Adenomatosa Familiar atenuada; PAF: Polipose Adenomatosa Familiar. Fonte: traduzido de Nieuwenhuis; Vasen (2007).

O fenótipo de PAFa ocorre quando a VPG está localizada anterior ao códon 157, depois do códon 1.595 e na região de *splicing* do éxon 9 e é caracterizado por menos de 100 pólipos e CCR entre 40 e 59 anos quando não há intervenção.

A PAF clássica é dividida em duas subcategorias: PAF intermediária e PAF profusa. A PAF intermediária ocorre quando a VPG está localizada entre os códons 412 e 1.248 e entre os códons 1464 e 1595, sendo caracterizada por centenas a milhares de pólipos entre 20 e 39 anos, CCR aos 40 quando não há intervenção e as manifestações extra colônicas são frequentes. Já a PAF profusa ocorre quando a VPG está localizada entre os códons 1.250 e 1.464, causando milhares de pólipos entre 0 e 19 anos e desenvolvimento de CCR precoce, anterior aos 40 anos, quando não há intervenção (Nieuwenhuis; Vasen, 2007; Newton *et al.*, 2011).

a.2. Polipose associada a deficiências nas polimerases de revisão do DNA (PPAP)

A PPAP apresenta padrão de herança autossômica dominante e é causada por VPG nos genes *POLE* e *POLD1*, responsáveis por codificar enzimas da DNA polimerase. Seu fenótipo é caracterizado pelo surgimento de pólipos colorretais e CCR, assim como câncer endométrio, mama e ovário. Outros pólipos e tumores também podem ser encontrados no trato gastrointestinal, assim como tumores no cérebro (Wimmer *et al.*, 2017; Lindsay *et al.*, 2019).

a.3. Polipose associada ao gene *MUTYH* (MAP)

A MAP, assim como explicitada em seu nome, é causada por VPG em homozigose ou heterozigose composta no gene *MUTYH*. Este gene codifica uma enzima reparadora de DNA e apresenta padrão de herança autossômica recessiva. Seu fenótipo é semelhante ao da PAFa, com ocorrência de cerca de 100 pólipos ao longo da vida do portador. A MAP também está associada ao câncer gástrico e de mama (Cleary *et al.*, 2009; Lubbe *et al.*, 2009; Van Leerdam *et al.*, 2019; Patel *et al.*, 2020).

a.4. Polipose associada ao gene *NTHL1* (NTHL1)

A polipose associada ao gene *NTHL1* possui padrão de herança autossômica recessiva e é causada por VPG em homozigose ou heterozigose composta no gene *NTHL1*, responsável pela codificação de uma glicosilase de DNA bifuncional essencial para manutenção da integridade genômica e prevenção de danos oxidativos no DNA. Alterações bialélicas no gene *NTHL1* causam o surgimento de pólipos adenomatosos, trazendo suscetibilidade ao CCR,

estando também associadas ao câncer de mama (Weren *et al.*, 2015; Nurmi *et al.*, 2023; Masannat *et al.*, 2024).

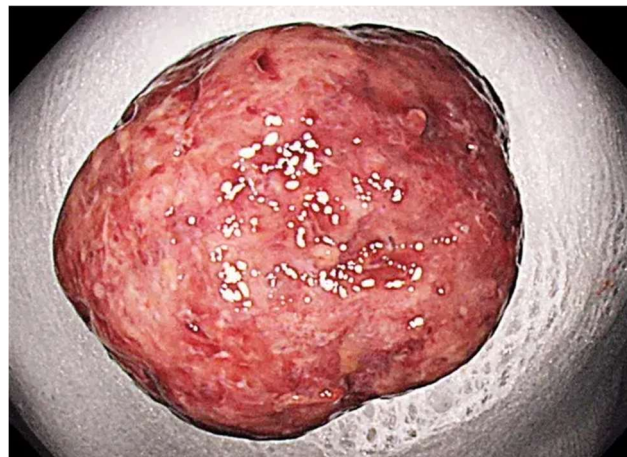
a.5. Síndrome da deficiência completa dos genes de reparo do tipo *mismatch* (CMMRD)

A semelhante à SL, a CMMRD é causada por VPG nos genes de reparo do DNA do tipo *mismatch* (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*), contudo quando apresentadas em homozigose ou heterozigose composta. Indivíduos afetados por CMMRD, além de apresentarem polipose adenomatosa e risco aumentado para CCR, podem desenvolver neoplasias hematológicas, leucemia linfóide, tumores cerebrais e em outras regiões do sistema nervoso central. O surgimento das manifestações clínicas é precoce, sendo o rastreamento através da colonoscopia recomendado a partir dos 8 anos de idade (Wimmer *et al.*, 2014; Valle *et al.*, 2017; Dacalvarez *et al.*, 2021).

b. Polipose hamartomatosa

Pólipos hamartomatosos são proliferações excessivas e desorganizadas de células subepiteliais do tecido de origem, podendo apresentar componentes celulares das três camadas germinativas do intestino (Figura 5). As poliposes hamartomatosas são divididas em: Síndrome de Peutz-Jeghers, Polipose Juvenil e Síndrome do tumor hamartomatoso PTEN (Gammon *et al.*, 2009), que serão brevemente abordadas a seguir.

Figura 5. Pólipo hamartomatoso visualizado através de colonoscopia.



Fonte: Webpathology WEBPATHOLOGY (s.d.).

b.1. Síndrome de Peutz-Jeghers (PJS)

A PJS é causada por VPG no gene *STK11* (anteriormente denominado *LKB1*), um supressor tumoral com padrão de herança autossômica dominante. Os sintomas surgem ainda na infância ou início da adolescência, com a presença de pólipos hamartomatosos no trato gastrointestinal e hiperpigmentação mucocutânea em 95% dos casos, assim como alto risco ao desenvolvimento de cânceres, como de pâncreas, mama, útero, ovário e testículos (Hearle *et al.*, 2006; Papp *et al.*, 2010; Ishida *et al.*, 2016; Latchford *et al.*, 2019; Daca-Alvarez *et al.*, 2021).

b.2. Polipose juvenil (JPS)

VPG em dois genes estão associados a JPS, sendo eles *SMAD4*, um supressor tumoral, e *BMPRIA*, um receptor de proteínas morfogenéticas ósseas, ambos com padrão de herança autossômica dominante. Assim como em PJS, o início do desenvolvimento de pólipos hamartomatosos no trato gastrointestinal é precoce, afetando principalmente crianças e jovens, onde os afetados têm risco aumentado ao desenvolvimento de CCR, anemia, sangramento retal e telangiectasia hemorrágica hereditária, sendo a última mais associada à VPG no gene *SMAD4*. Os pólipos hamartomatosos em JPS se diferenciam pela característica de frequente inflamação e glândulas cisticamente dilatadas (Haidle; Howe, 1993; Brosens *et al.*, 2011; Tan *et al.*, 2012; Kidambi *et al.*, 2019; Daca-Alvarez *et al.*, 2021).

b.3. Síndrome do tumor hamartomatoso PTEN (PHTS)

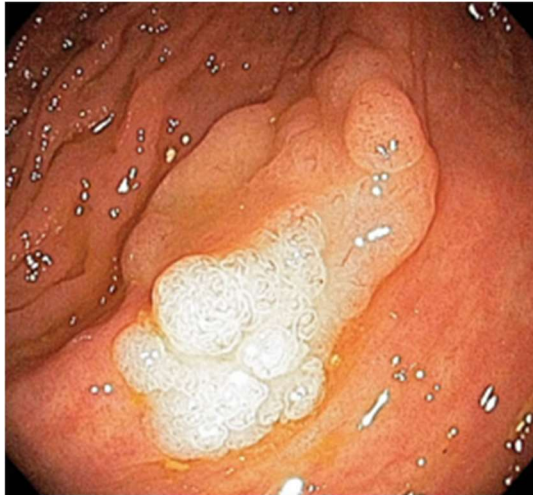
A PHTS é causada por VPG no gene *PTEN*, um importante supressor tumoral com padrão de herança autossômica dominante. O fenótipo apresentado por indivíduos com PHTS está associado ao desenvolvimento de hamartomas em qualquer órgão, aumentando o risco em até 89% ao desenvolvimento de cânceres, como CCR, de mama, endométrio, tireoide, melanoma e renal. Atraso no desenvolvimento, macrocefalia e lesões cutâneas também estão associadas ao fenótipo de PHTS (Tan *et al.*, 2012; Tischkowitz *et al.*, 2020; Daca-Alvarez *et al.*, 2021).

c. Polipose serrilhada

A Polipose Serrilhada é caracterizada por pólipos hiperplásicos e de arquitetura epitelial serrilhada (Figura 6). Dentre as SPHCCR poliposas com manifestação de pólipos serrilhados,

atualmente, apenas a Polipose Serrilhada associada ao gene *RNF43* (RNF43) foi descrita (Gala *et al.*, 2014; Carballal *et al.*, 2016; Ijspeert *et al.*, 2017; Rodriguez-Alcalde *et al.*, 2019, Mankaney *et al.*, 2020; Bleijenberg, 2020; Daca-Alvarez *et al.*, 2021).

Figura 6. Pólipo serrilhado com displasia visualizado através de colonoscopia.



Fonte: Rosty *et al.* (2013).

c.1. Polipose Serrilhada associada ao gene *RNF43* (RNF43)

A RNF43 é causada por VPG no gene *RNF43*, um supressor tumoral com padrão de herança autossômica dominante. A polipose serrilhada é a principal característica ligada ao fenótipo de indivíduos afetados por esta síndrome, com número de pólipos variando entre 2 e menos de 100. Apesar da associação ao gene *RNF43*, a porcentagem de indivíduos afetados com polipose serrilhada em que uma VPG é identificada no gene *RNF43* é inferior a 3%, tornando esta associação questionável. Entretanto, a associação do gene à *RNF43* deve ser considerada pois a maioria dos painéis multigênicos para SPHCCR não o incluem o que dificulta novos achados que relacionem alterações no gene ao fenótipo (Gala *et al.*, 2014; Mankaney *et al.*, 2020; Daca-Alvarez *et al.*, 2021, Brinch *et al.*, 2025).

d. Polipose mista

A Polipose Mista é uma condição rara causada pelo desenvolvimento de múltiplos tipos de pólipos de forma síncrona, como os pólipos adenomatosos, hamartomatosos e serrilhados, podendo também apresentar pólipos individuais com várias características histológicas. O

principal gene associado à polipose mista é o gene *GREM1* (Whitelaw *et al.*, 1997; Jaeger *et al.*, 2012; Daca-Alvarez *et al.*, 2021).

d.1. Polipose Mista associada ao gene *GREM1* (GREM1)

A GREM1 é causada por VPG no gene *GREM1*, que codifica uma proteína envolvida na regulação de vias de sinalização do desenvolvimento e homeostase tecidual, contudo em indivíduos com GREM1, há a expressão ectópica no epitélio do intestino grosso, onde sua superexpressão reduz a atividade desta proteína reguladora. Nestes casos há um padrão de herança autossômica dominante, onde o desenvolvimento destes pólipos mistos aumenta o risco ao desenvolvimento de CCR (Whitelaw *et al.*, 1997; Jaeger *et al.*, 2012; Daca-Alvarez *et al.*, 2021).

2.2.3 Sobreposição dos fenótipos e diagnóstico molecular

As SPHCCR apresentam um complexo cenário e um desafio ao diagnóstico clínico devido à sobreposição de fenótipos. Geralmente as SPHCCR compartilham características clínicas, como a quantidade de pólipos e suas características histopatológicas, dificultando a precisão do diagnóstico e do tratamento. A correta identificação da síndrome, a partir do diagnóstico molecular, impacta diretamente na abordagem de intervenções cirúrgicas e farmacológicas, além de permitir o rastreamento precoce em familiares sob risco (Duck-Woo, 2010; Hans *et al.*, 2015; Aoun; Kalady, 2024).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Descrever os aspectos genéticos em pacientes com alto risco para SPHCCR atendidos no HUPAA.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Rastrear VPG em genes associados às SPHCCR;

3.2.2 Padronizar a técnica de PCR-AE para validação de VPG identificadas por NGS;

3.2.3 Estabelecer a correlação genótipo-fenótipo.

4. PARTICIPANTES E MÉTODOS

4.1 Delineamento e aspectos éticos

Pesquisa descritiva, observacional, com amostra de conveniência. Realizada no HUPAA da UFAL (HUPAA/UFAL), teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (CAAE 45607621.3.0000.5013, versão 2, parecer 4.787.720). A coleta de dados foi condicionada à assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) e/ou Termo de Assentimento Livre Esclarecido (TALE).

4.2 Recrutamento dos participantes e coleta de dados e material biológico

Pacientes provindos de busca ativa realizada anteriormente por este grupo de pesquisa em arquivos de colonoscopia do HUPAA/UFAL e por demanda espontânea ao Serviço de Genética Clínica (SGC) do HUPAA/UFAL, triados com alto risco para SPHCCR seguindo os parâmetros indicados pela NCCN (1 – Diagnóstico de CCR anterior aos 50 anos; 2 – 10 ou mais pólipos cumulativos ao longo da vida; 3 – Histórico familiar de pólipos e/ou cânceres) e, portanto, indicação de realização de teste genético, foram convidados a participar da pesquisa e compuseram a amostra. Para a análise do padrão de segregação do fenótipo foram confeccionados heredogramas contendo, no mínimo, três gerações da família. Para o rastreamento de VPG em genes associados às SPHCCR e validação por PCR–AE foram coletadas amostras biológicas do participante índice e quando possível de seus genitores e/ou prole (células da mucosa bucal e sangue periférico, respectivamente).

4.3 Rastreamento de VPG

As amostras de células da mucosa bucal foram enviadas a laboratório terceirizado para realização do painel de NGS para o rastreamento de VPG em 42 genes associados às SPHCCR, SPHC em geral e não fortemente associados às SPHCCR, contudo com recentes achados relevantes que podem trazer uma associação. São eles: *APC*; *ATM*; *AXIN2*; *BARD1*; *BLM*; *BMPRIA*; *BRCA1*; *BRCA2*; *BRIPI*; *CDH1*; *CDK4*; *CDKN2A*; *CHEK2*; *EGFR*; *EPCAM*; *FANCC*; *IPMK*; *MBD4*; *MEN1*; *MET*; *MLH1*; *MSH2*; *MSH3*; *MSH6*; *MUTYH*; *NBN*; *NTHL1*;

PALB2; PMS2; POLD1; POLE; PTEN; RABL3; RAD51C; RAD51D; RECQL; RET; RNF43; RPS20; SMAD4; STK11 e TP53.

4.4 Validação por PCR-AE

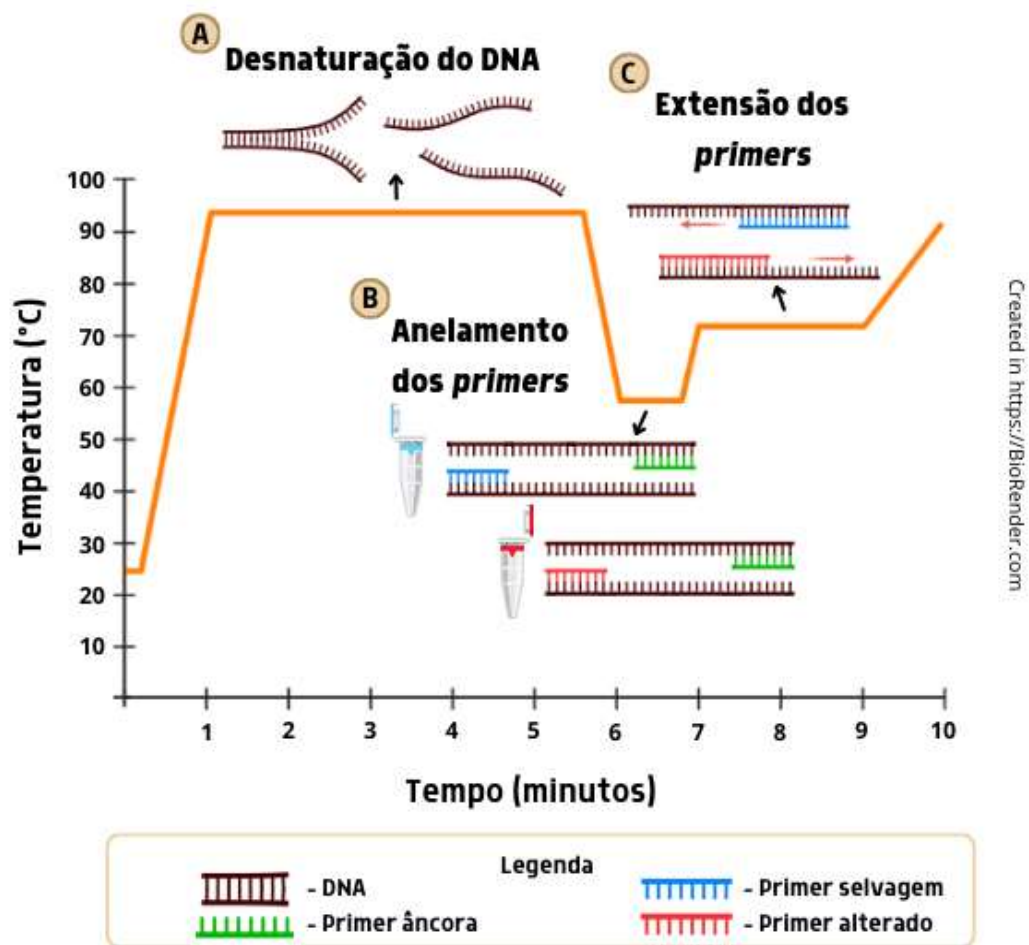
No LGMH/HUPAA/UFAL foi realizada a extração de DNA a partir de sangue total periférico utilizando o método orgânico por digestão com proteinase K e posterior purificação com fenol-clorofórmio (Sambrook *et al.*, 1989). Para a verificação da integridade e concentração do DNA genômico obtido foi utilizado o espectrofotômetro - Biodrop Ulite PC 80-3006-50.

Para a padronização da técnica de PCR-AE (Figura 7), foram desenhados três *primers* para cada variante: um *primer* âncora localizado em uma região conservada do gene; um *primer* selvagem para seleção do alelo selvagem (*wild-type*) no local da alteração de interesse; e um *primer* alterado para a seleção da variante desejada. A reação para o rastreio do alelo selvagem foi realizada utilizando o conjunto: “*primer* âncora” + “*primer* selvagem”. Já a reação para o rastreio do alelo com a VPG foi realizada utilizando o conjunto: “*primer* âncora” + “*primer* alterado”. As condições das reações e dos ciclos utilizados variaram de acordo com o fragmento a ser amplificado.

Para a verificação da presença e/ou ausência dos alelos rastreados, a replicação específica se deu em duas reações para cada indivíduo, uma para o rastreio do alelo selvagem (*primer* âncora e *primer* selvagem) e outra para o rastreio do alelo com a VPG (*primer* âncora e *primer* com a VPG).

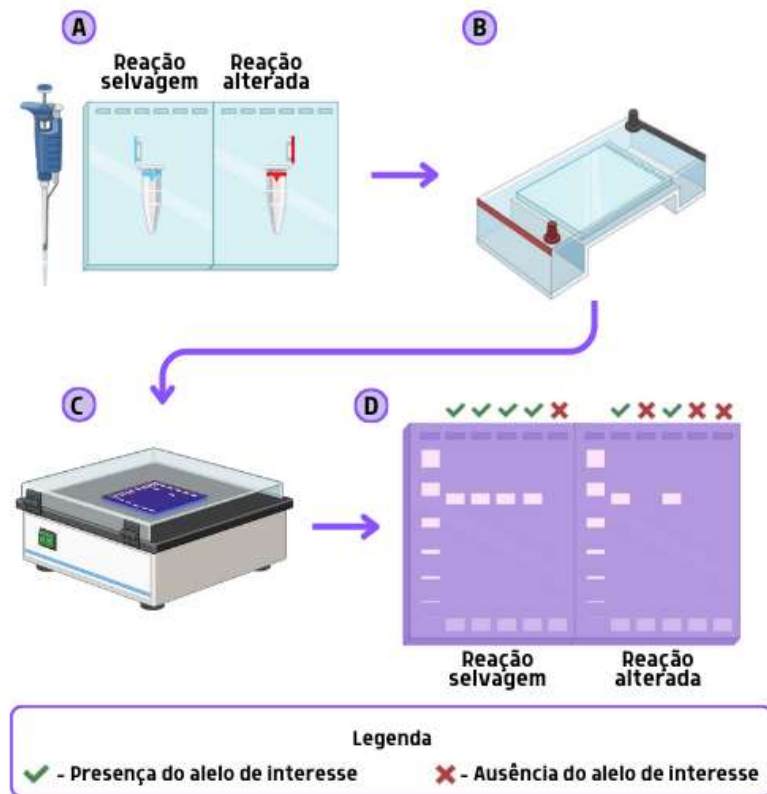
Os *amplicons* obtidos após a PCR-AE foram observados em transluminador de luz UV – UVP após a eletroforese em gel de agarose (1%) e coloração do gel em solução de brometo de etídio (10mg/mL). A interpretação dos resultados e confirmação da presença/ausência da VPG, bem como da sua zigosidade, foi realizada através da observação da presença ou ausência do *amplicon* em cada reação (Figura 8).

Figura 7. Esquematização da técnica de reação em cadeia da polimerase alelo específica (PCR-AE). Inicialmente há a desnaturação das fitas de DNA (rompimento das ligações de hidrogênio) (A), seguindo com queda na temperatura até o ideal estabelecido pelos primers utilizados, ocorrendo assim o anelamento dos primers (B), tornando possível a extensão dos fragmentos de interesse (C). O ciclo se repete de acordo com o protocolo, onde o resultado final da PCR-AE são duas amostras distintas, ambas com incontáveis cópias do alelo selvagem ou alterado de interesse.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 8. Confirmação da presença/ausência de Variantes Patogênicas Germinativas (VPG) através de eletroforese em gel de agarose (1%) (A e B) observada em transluminador de luz UV – UVP (C e D).



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

4.5 Caracterização de VPG e correlação genótipo-fenótipo

As VPG identificadas e confirmadas foram analisadas utilizando bancos de dados de acesso público (*ClinVar*, *The Human Gene Mutation*, *Ensembl* e *VarSome*) e revisão da literatura, em busca de se estabelecer a correlação genótipo-fenótipo.

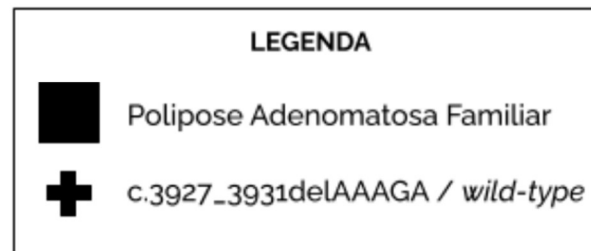
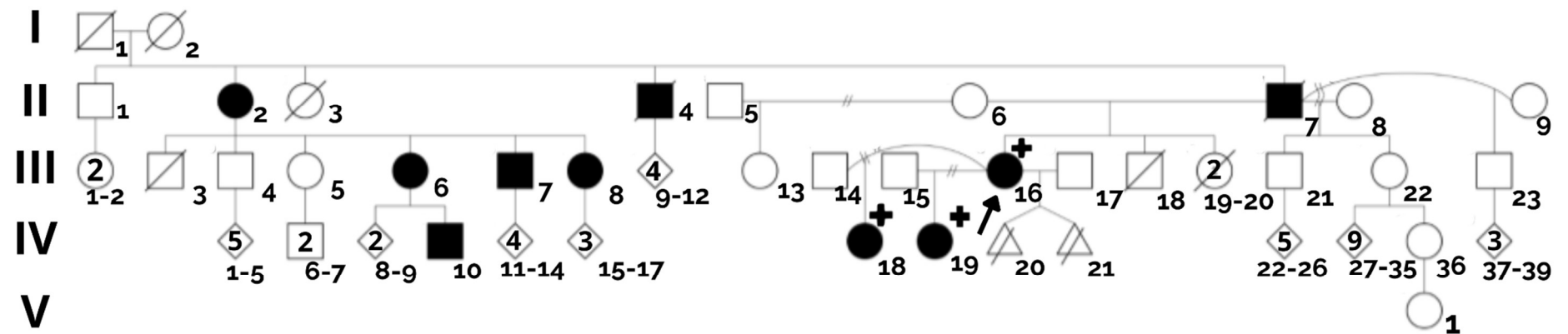
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da amostra

A amostra final foi composta por 14 casos índices e 8 familiares, totalizando 22 participantes. As idades dos participantes índices variaram de 19 a 81 anos (média de 49,1 anos) e predominaram participantes do sexo masculino (64,3%). Todas as famílias tiveram seus heredogramas construídos (Figuras 9 a 22). Conforme observado nas Figuras 9 a 14, a análise dos heredogramas de cinco famílias (CH02, CH03, CH08, CH09 e CH15) sugere padrão de herança autossômica dominante; a análise de quatro famílias (CH07, CH10, CH11 e CH12) sugere padrão de herança autossômica recessiva e a análise de cinco famílias (CH04, CH05, CH06, CH13 e CH16), não revela um padrão reconhecível de herança.

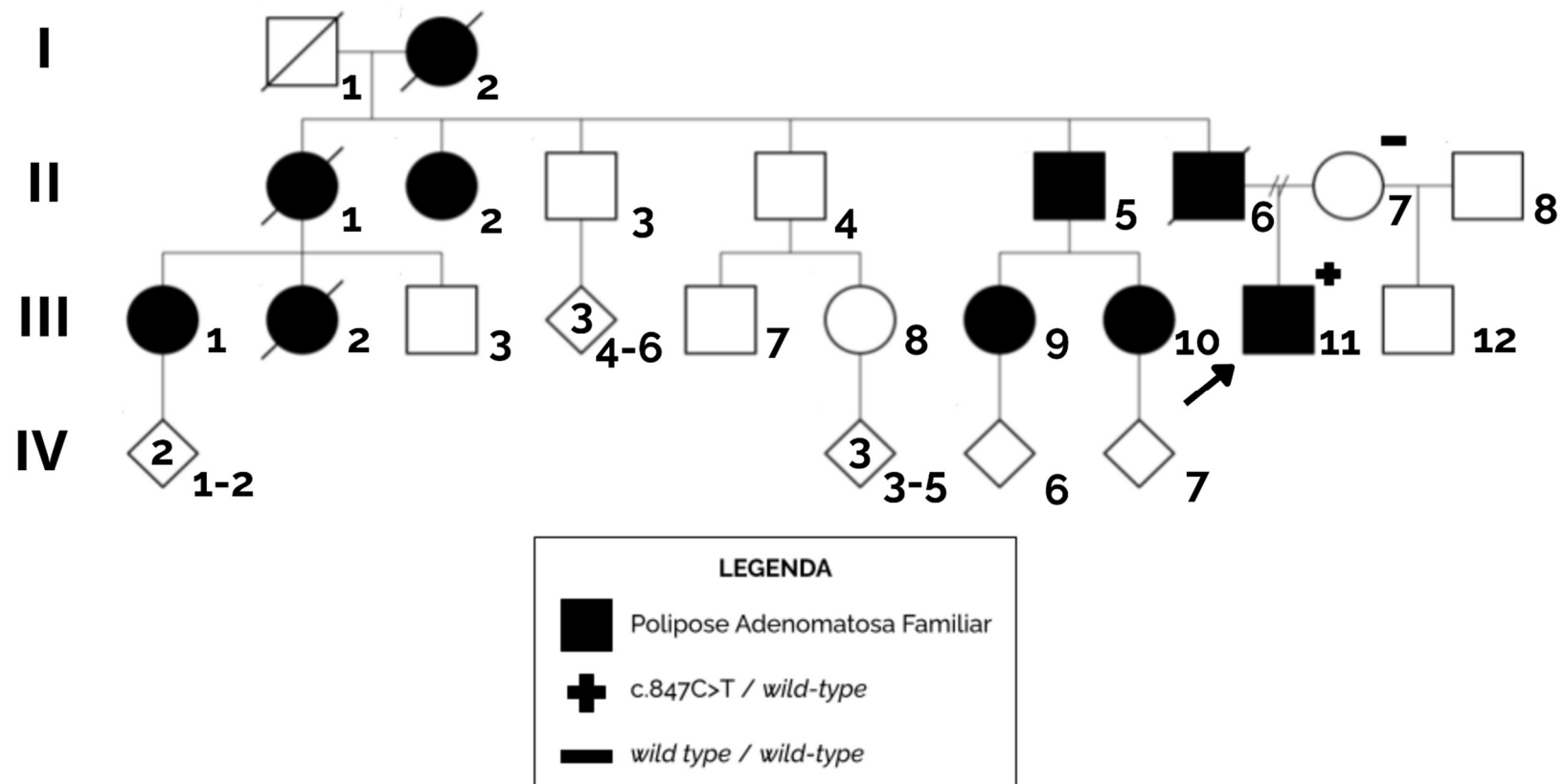
O rastreamento de variantes nos 42 genes associados às SPHCCR incluídos no painel comercial contratado identificou nos seis participantes-índice seis VPG e uma VUS fortemente associada ao fenótipo. A Tabela 1 apresenta o sumário das características genotípicas, fenotípicas e correlação genótipo-fenótipo destes participantes.

Figura 9. Heredograma da família CH02, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Os indivíduos III-16, IV-18 e IV-19 apresentaram a heterozigose da Variante Patogênica Germinativa c.3927_3931delAAAGA no gene *APC*. O heredograma confirma o padrão de herança autossômica dominante.



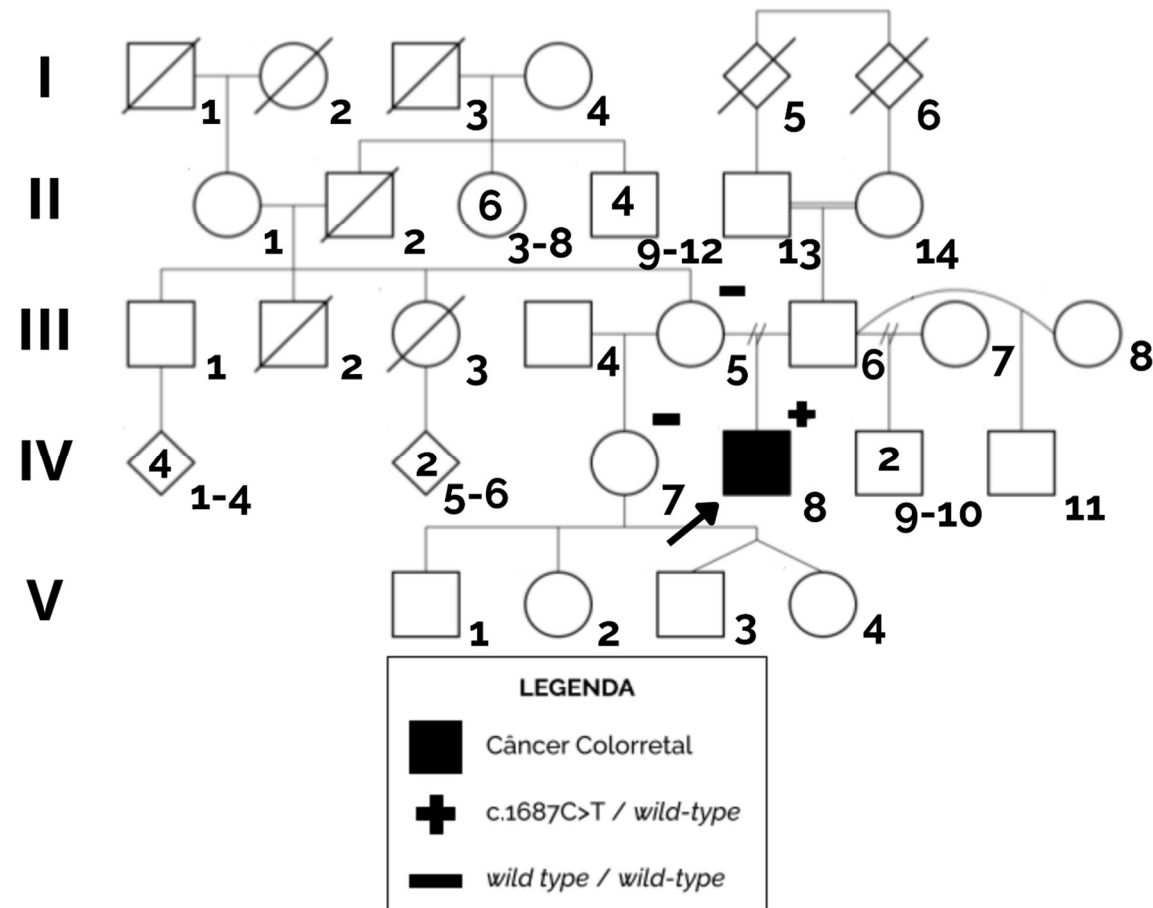
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 10. Heredograma da família CH03, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. O indivíduo III-11 apresentou a heterozigose da Variante Patogênica Germinativa c.847C>T no gene *APC*, não herdada da genitora (II-7). O heredograma confirma o padrão de herança autossômica dominante.



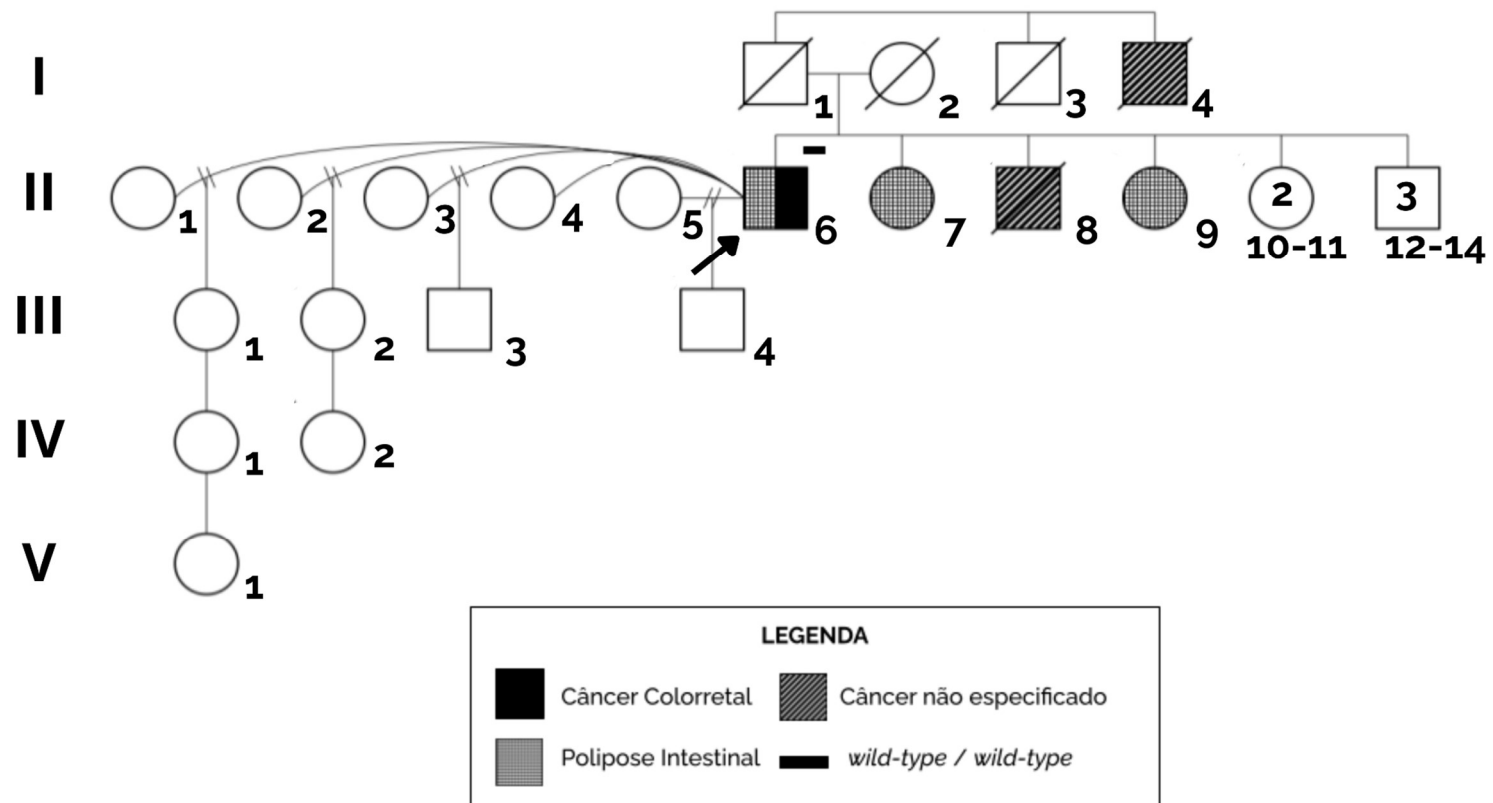
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 11. Heredograma da família CH04, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. O indivíduo IV-8 apresentou a Variante Patogênica Germinativa (VPG) c.1687C>T em heterozigose no gene *BRCA1*, com padrão de herança autossômica dominante. A VPG não foi herdada da genitora (III-5) e não foi identificada na meia-irmã materna (IV-7). O heredograma não apresenta um padrão claro de herança.



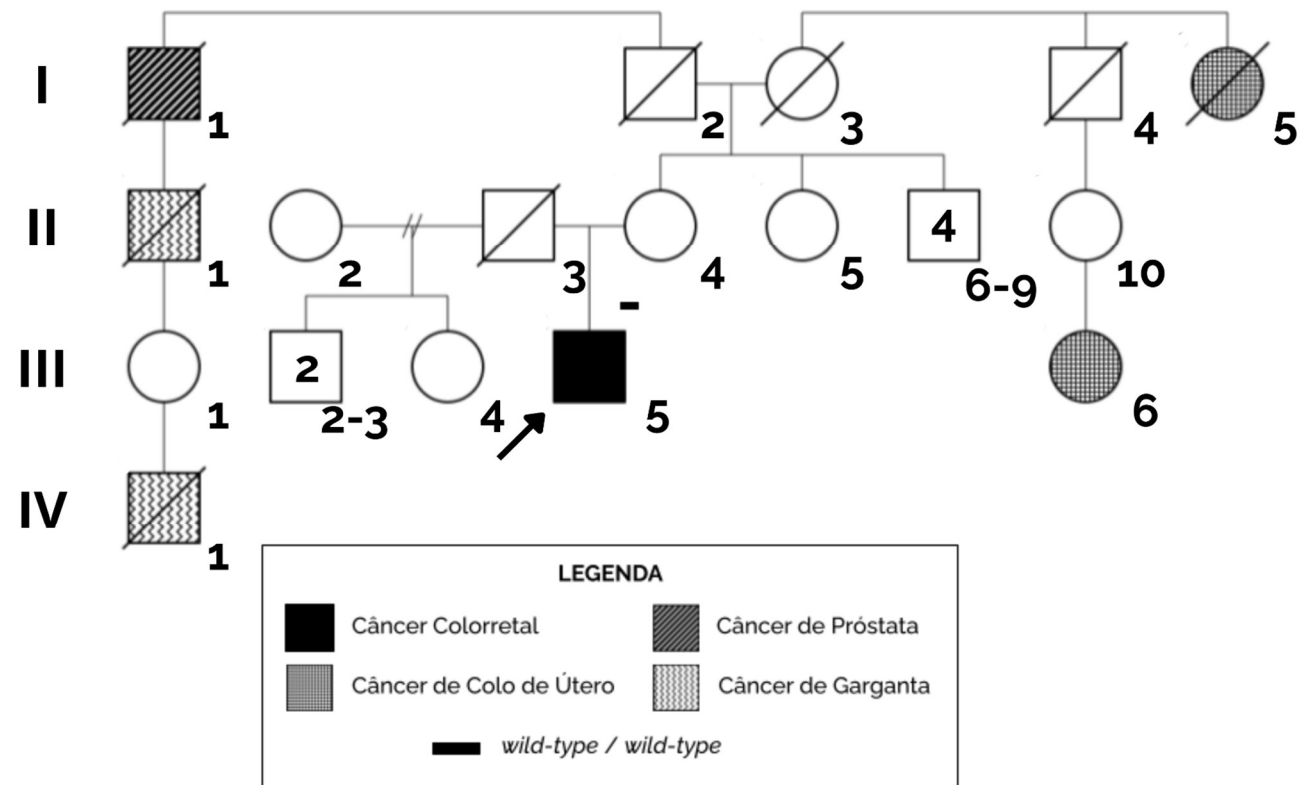
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 12. Heredograma da família CH05, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Não foram identificadas Variantes Patogênicas Germinativas ou Variantes de Significado Incerto fortemente associadas ao fenótipo de Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal nos 42 genes analisados por painel de Sequenciamento de Nova Geração. O heredograma não apresenta um padrão claro de herança.



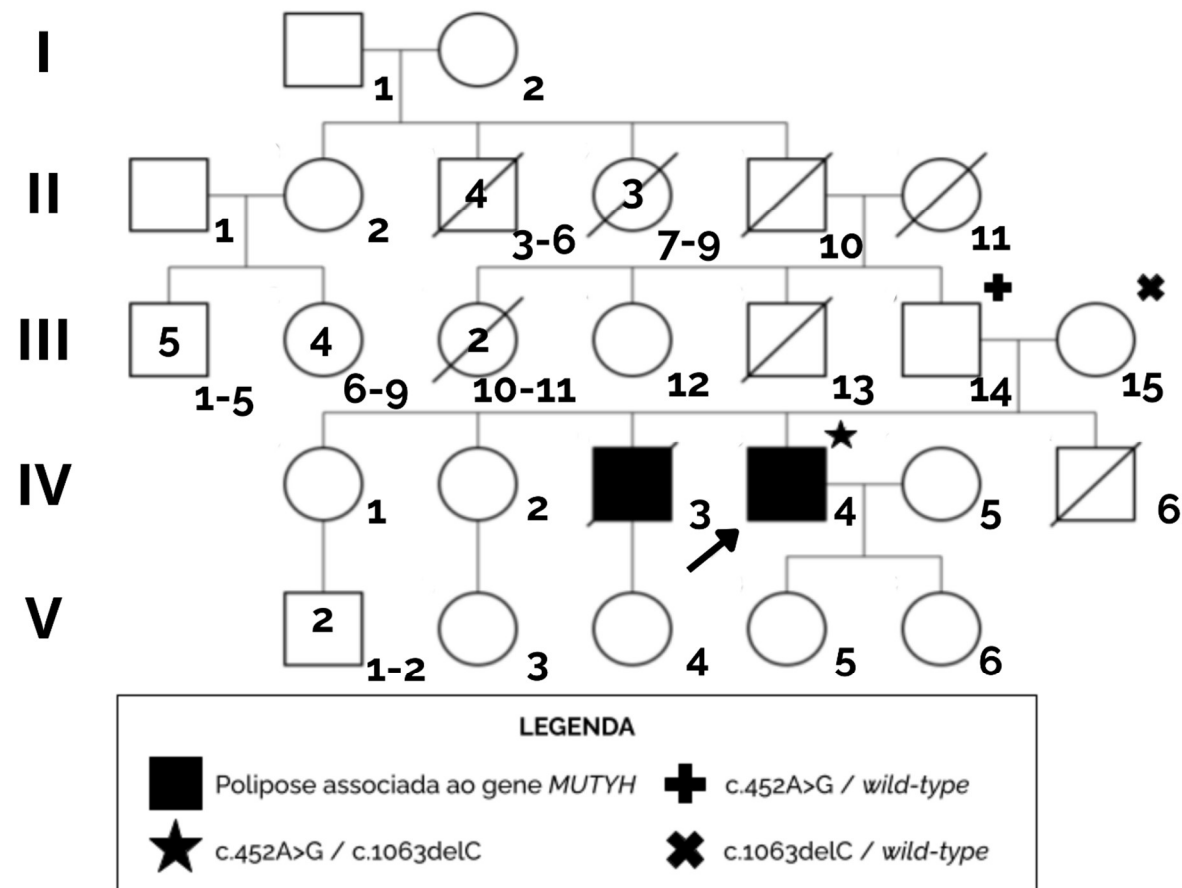
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 13. Heredograma da família CH06, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Não foram identificadas Variantes Patogênicas Germinativas ou Variantes de Significado Incerto fortemente associadas ao fenótipo de Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal nos 42 genes analisados por painel de Sequenciamento de Nova Geração. O heredograma não apresenta um padrão claro de herança.



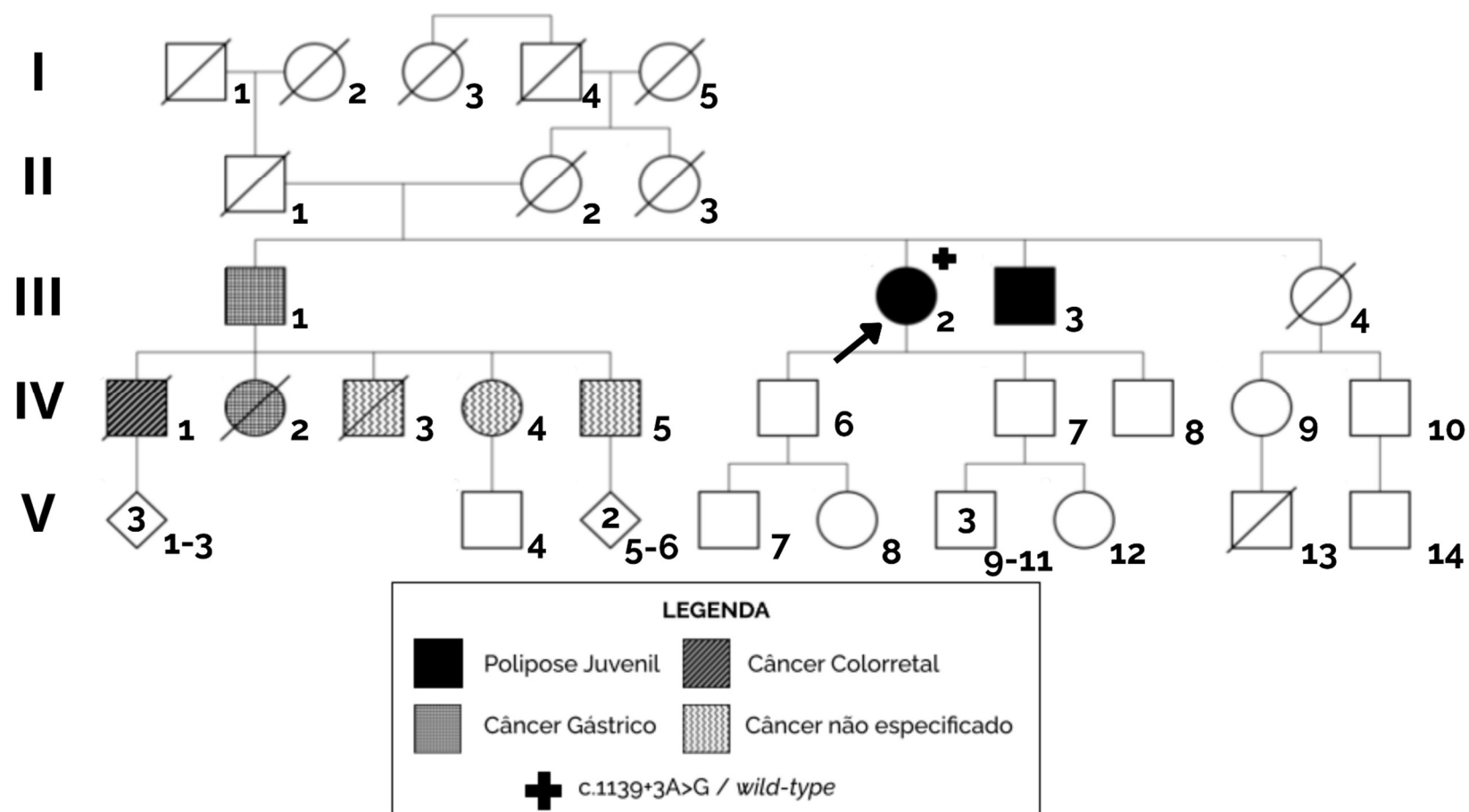
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 14. Heredograma da família CH07, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. O indivíduo IV-4 apresentou a heterozigose composta das Variantes Patogênicas Germinativas c.452A>G e c.1063delC no gene *MUTYH*, de herança paterna (III-14) e materna (III-15), respectivamente. O heredograma confirma o padrão de herança autossômico recessivo.



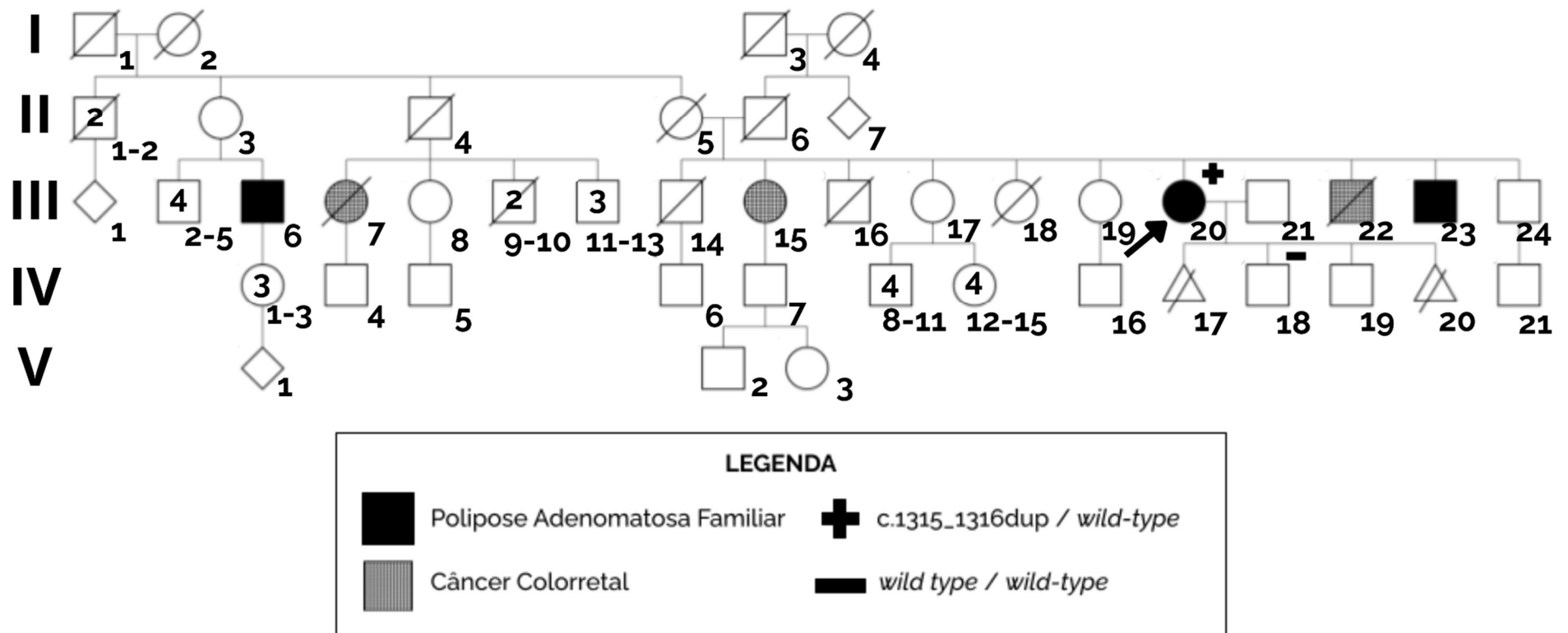
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 15. Heredograma da família CH08, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. O indivíduo III-2 apresenta a heterozigose da Variante de Significado Incerto c.1139+3A>G no gene *SMAD4*.



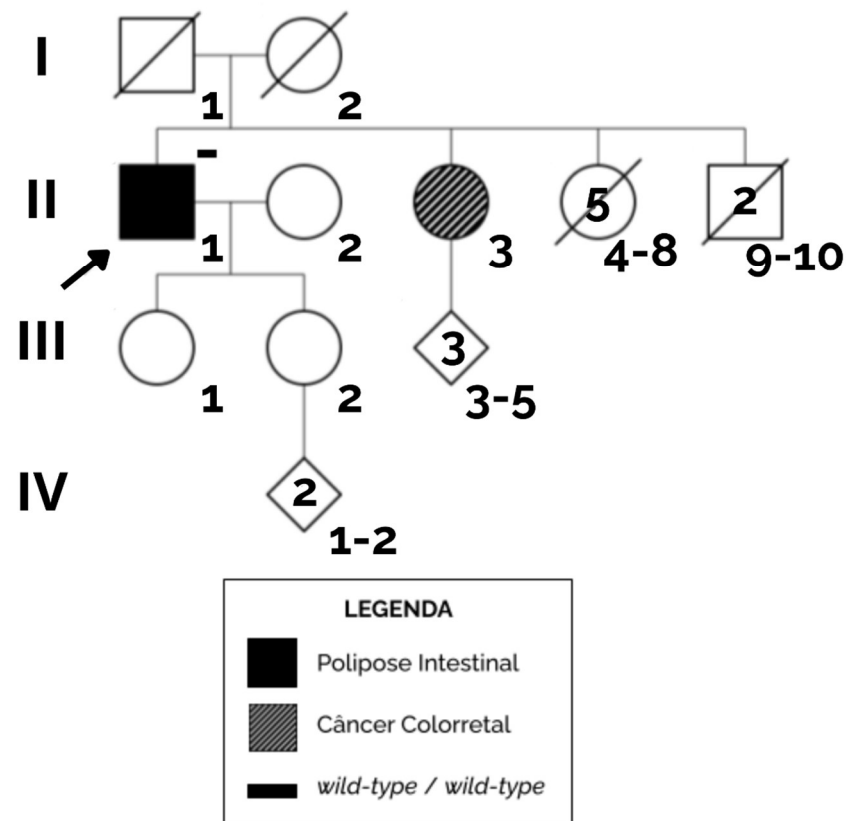
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 16. Heredograma da família CH09, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. O indivíduo III-20 apresenta a heterozigose da Variante Patogênica Germinativa (VPG) c.1315_1316dup no gene *APC*, com padrão de herança autossômica dominante. A VPG não foi identificada no indivíduo IV-18. Os demais indivíduos não estavam acessíveis para a confirmação do padrão de herança.



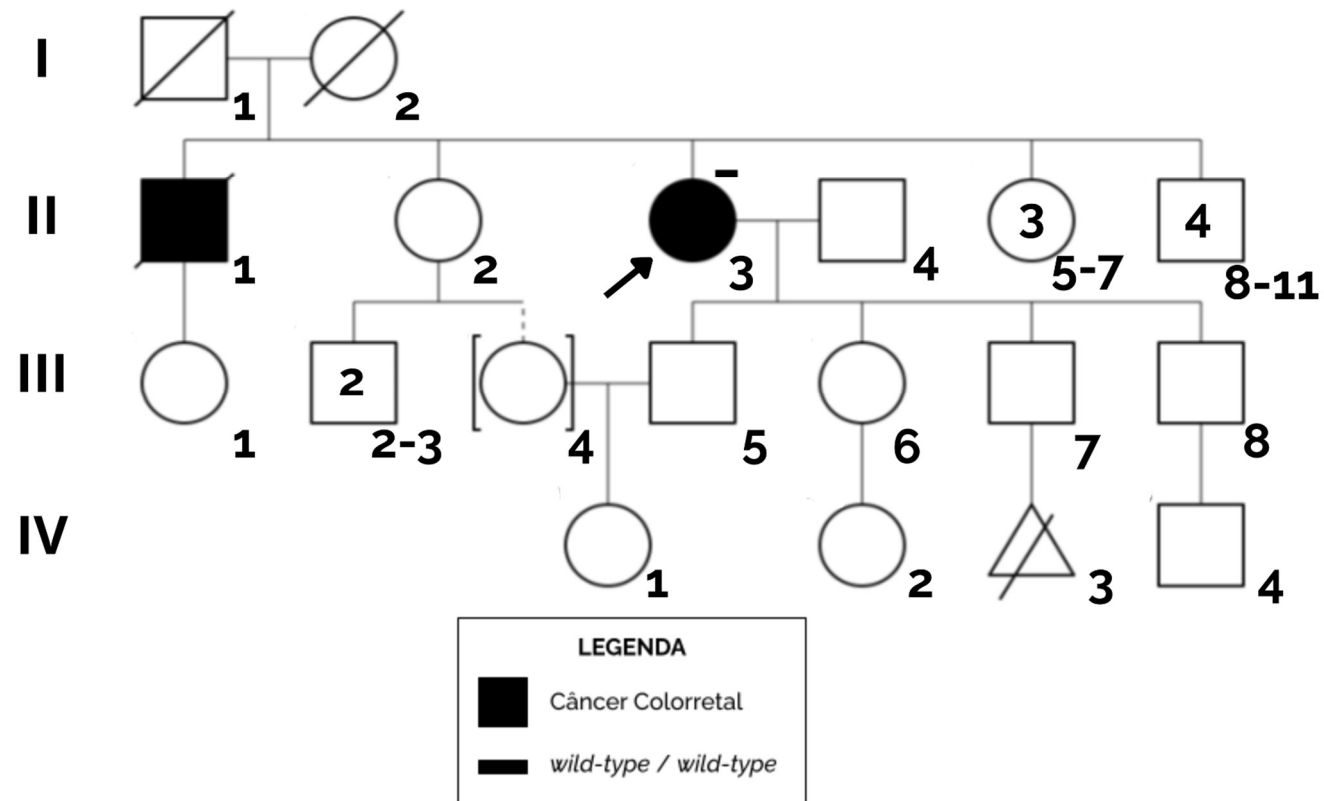
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 17. Heredograma da família CH10, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Apesar da análise do heredograma sugerir um padrão de herança autossômica recessivo, não foram identificadas Variantes Patogênicas Germinativas ou Variantes de Significado Incerto fortemente associadas ao fenótipo de Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal nos 42 genes analisados por painel de Sequenciamento de Nova Geração.



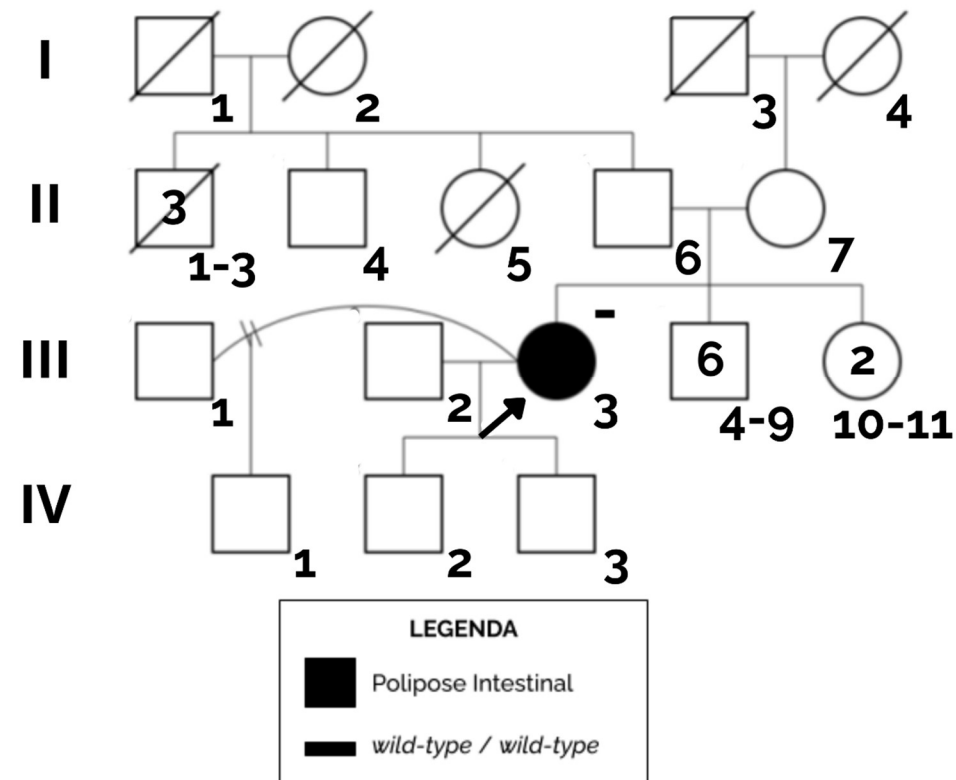
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 18. Heredograma da família CH11, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Apesar da análise do heredograma sugerir um padrão de herança autossômica recessivo, não foram identificadas Variantes Patogênicas Germinativas ou Variantes de Significado Incerto fortemente associadas ao fenótipo de Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal nos 42 genes analisados por painel de Sequenciamento de Nova Geração.



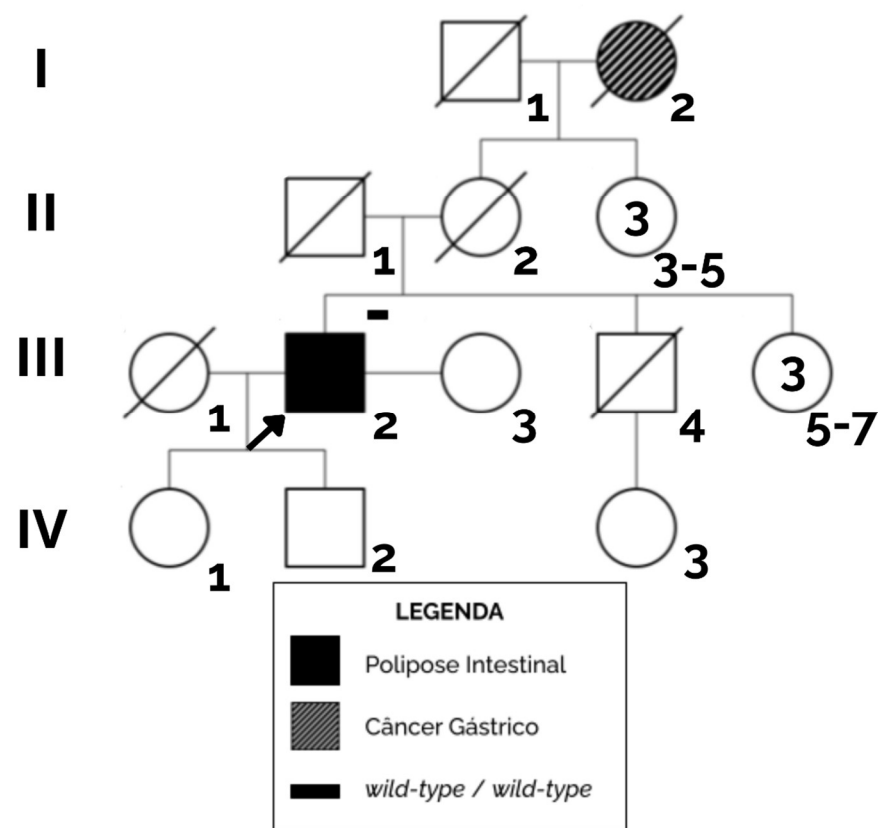
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 19. Heredograma da família CH12, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Apesar da análise do heredograma sugerir um padrão de herança autossômica recessivo, não foram identificadas Variantes Patogênicas Germinativas ou Variantes de Significado Incerto fortemente associadas ao fenótipo de Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal nos 42 genes analisados por painel de Sequenciamento de Nova Geração.



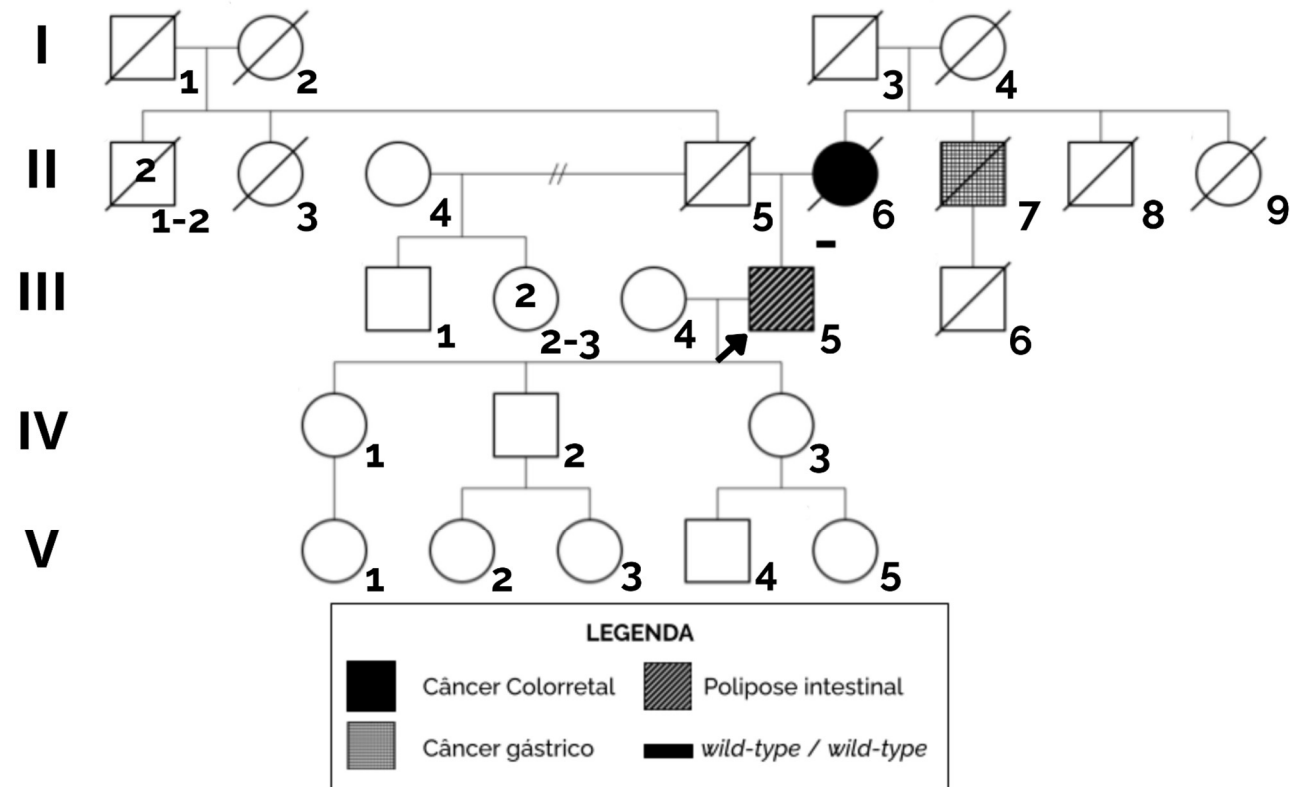
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 20. Heredograma da família CH13, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Não foram identificadas Variantes Patogênicas Germinativas ou Variantes de Significado Incerto fortemente associadas ao fenótipo de Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal nos 42 genes analisados por painel de Sequenciamento de Nova Geração. O heredograma não apresenta um padrão claro de herança.



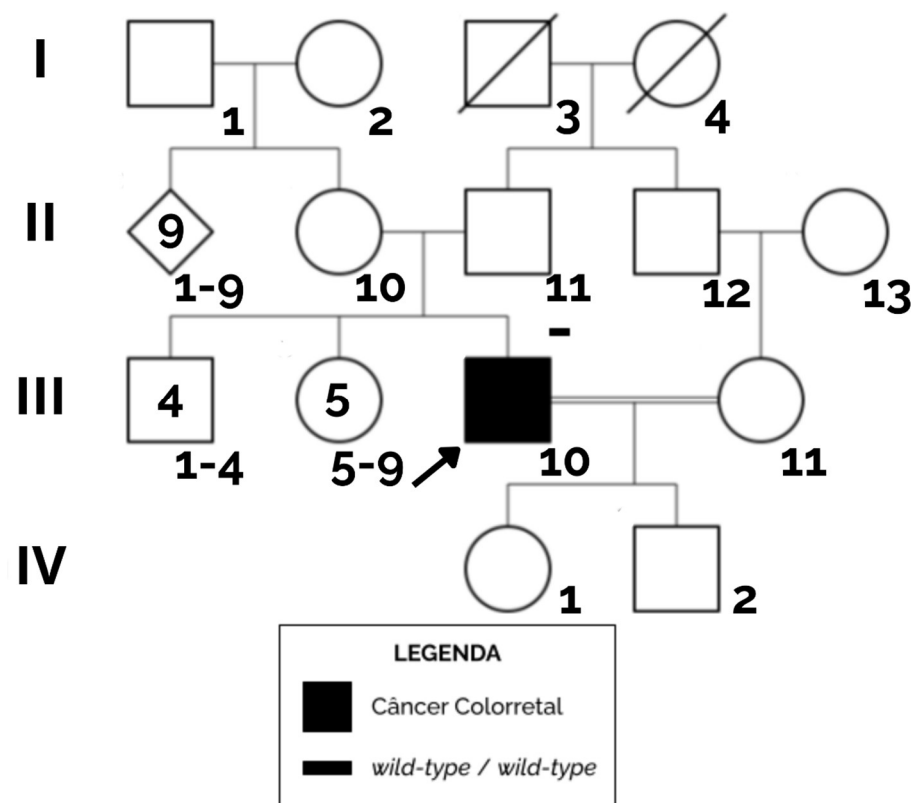
Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 21. Heredograma da família CH15, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Apesar da análise do heredograma sugerir um padrão de herança autossômica dominante, não foram identificadas Variantes Patogênicas Germinativas ou Variantes de Significado Incerto fortemente associadas ao fenótipo de Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal nos 42 genes analisados por painel de Sequenciamento de Nova Geração.



Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Figura 22. Heredograma da família CH16, estando o caso índice indicado através do símbolo de seta. Não foram identificadas Variantes Patogênicas Germinativas ou Variantes de Significado Incerto fortemente associadas ao fenótipo de Síndromes de Predisposição Hereditária ao Câncer Colorretal nos 42 genes analisados por painel de Sequenciamento de Nova Geração. O heredograma não apresenta um padrão claro de herança.



Legenda: *Wild-type* – alelo selvagem/não mutado. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 1: Características genótípicas, fenótípicas e correlação genótipo fenótipo dos participantes com Variantes Patogênicas Germinativas identificadas.

Participante	Gene	Genótipo	Classificação da variante	Fenótipo esperado	Correlação genótipo-fenótipo
CH02	<i>APC</i>	c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4) / <i>Wild-type</i>	Patogênica	PAF	+
CH03	<i>APC</i>	c.847C>T (p.Arg283*) / <i>Wild-type</i>	Patogênica	PAF	+
CH04	<i>BRCA1</i>	c.1687C>T (p.Gln563*) / <i>Wild-type</i>	Patogênica	SPHC de mama e outros do espectro	-
CH07	<i>MUTYH</i>	c.452A>G (p.Tyr151Cys) / c.1063delC (p.Ala357Profs*23)	Patogênicas	MAP	+
CH08	<i>SMAD4</i>	c.1139+3A>G / <i>Wild-type</i>	VUS	Polipose Juvenil	-
CH09	<i>APC</i>	c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15) / <i>Wild-type</i>	Patogênica	PAF	+ *

Legenda: “*Wild-type*” – alelo selvagem/não alterado; PAF – Polipose Adenomatosa Familiar; SPHC – Síndrome de Predisposição Hereditária ao Câncer; MAP – Polipose associada ao gene *MUTYH*; VUS – Variante de Significado Incerto; “+” – correlação genótipo-fenótipo positiva; “-” – correlação genótipo-fenótipo negativa ou incerta; “*” – variante não relatada na literatura, contudo considerada patogênica devido às alterações semelhantes em pacientes com PAF. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.2 Validação por PCR–AE das variantes identificadas

Todas as variantes identificadas foram confirmadas internamente no LGMH/SGC/HUPAA/UFAL pela técnica de PCR–AE. Foram obtidos *amplicons* específicos a partir das reações com os conjuntos de *primers* desenhados: “*primer* âncora” + “*primer* selvagem” para detecção do alelo *Wild-type* e “*primer* âncora” + “*primer* alterado” para identificação da VPG. As condições das reações e dos ciclos utilizados variaram conforme o fragmento a ser amplificado.

5.2.1 Confirmação das variantes no gene *APC*

Em três famílias (CH02, CH03 e CH09) foram identificadas três VPG distintas no gene *APC* (c.3927_3931delAAAGA; c.847C>T e c.1315_1316dup).

a. Variante c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4)

A sequência dos *primers* e as condições das reações e dos ciclos utilizados para a validação por PCR–AE da VPG c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4) no gene *APC* estão descritas nos Quadros 1 e 2, respectivamente.

Quadro 1: Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4) no gene *APC*.

<i>Primer</i>	Sequência (5’-3’)	Sentido	Localização no gene	TMA
âncora	GCTTATAATGCCACTTAC	<i>antissense</i>	éxon 16	45,1°C
selvagem	GCAGAAATAAAAGAAAAGATT G	<i>sense</i>	éxon 16	46,4°C
alterado	AATAGCAGAAATAAAAGA/TTG	<i>sense</i>	éxon 16	44,1°C

Legenda: TMA – Temperatura Média de Anelamento. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Quadro 2: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.3927_3931delAAAGA no gene *APC*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	4'
MgCl ₂ (50µM) - Invitrogen	1,5 mM	18x	94	30"
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		52,5 (- 0,5 por ciclo)	40"
<i>Primer sense</i> (20pmoles/µl) - Exxtend	10pmoles		72	2'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles/µl) - Exxtend	10pmoles	16x	94	30"
Taq DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U		44,5	40"
DNA	200-500ng		72	2'
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 30 µl	1x	72	10'
		-	10	∞

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Em ambas as reações, selvagem e alterada, eram esperados *amplicons* de 345 pares de bases (pb). O resultado da eletroforese em gel de agarose das reações pode ser observado na Figura 23. A presença ou ausência do *amplicon* em cada reação nos indica a presença de pelo menos um alelo rastreado ou a ausência deste no indivíduo. Sendo assim, esse resultado confirmou a heterozigose da VPG c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4) na participante CH02 e a sua transmissão para ambas as filhas (Figura 15).

Figura 23. Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4) no gene *APC*.



Legenda: L – Ladder 1KB (Invitrogen); 1 – Paciente índice (CH02 - III-16); 2 – Filha 1 (CH02 - IV-18); 3 – Filha 2 (CH02 - IV-19); 4 – Controle homozigoto selvagem; B – Branco (ausência de DNA). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

b. Variante c.847C>T (p.Arg283*)

A sequência dos *primers* e as condições das reações e dos ciclos utilizados para a da VPG c.847C>T (p.Arg283*) no gene *APC* estão descritas nos Quadros 3 e 4, respectivamente.

Quadro 3: Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.847C>T (p.Arg283*) no gene *APC*.

<i>Primer</i>	Sequência (5'-3')	Sentido	Localização no gene	TMA
âncora	CAGCCTCTAATAGTCCCTATGC	<i>sense</i>	íntron 8	54,4°C
selvagem	GGCTGTTTCATGGTCCATTCTG	<i>antisense</i>	éxon 9	56,6°C
alterado	GGCTGTTTCATGGTCCATTCA	<i>antisense</i>	éxon 9	55,7°C

Legenda: TMA – Temperatura Média de Anelamento. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Quadro 4: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.847C>T no gene *APC*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	4'
MgCl ₂ (50µM) - Invitrogen	1,5 mM	18x	94	30"
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		62,5 - 0,5 por ciclo	40"
<i>Primer sense</i> (20pmoles) - Exxtend	10pmoles		72	2'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles) - Exxtend	10pmoles	16x	94	30"
Taq DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U		54,5	40"
DNA	200-500ng		72	2'
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 25 µl	1x	72	10'
		-	10	∞

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Em ambas as reações, selvagem e alterada, eram esperados *amplicons* de 608pb. O resultado da eletroforese em gel de agarose das reações pode ser observado na Figura 16. Esse resultado confirma a heterozigose da VPG c.847C>T (p.Arg283*) no participante CH03 e a ausência da VPG na genitora (Figura 24).

Figura 24. Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.847C>T (p.Arg283*) no gene *APC*.



Legenda: L – Ladder 1KB Invitrogen ; 1 – Paciente índice (CH03 - III-11); 2 – Mãe (CH03 - II-7); 3 – Controle homozigoto selvagem; B – Branco (ausência de DNA). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

c. Variante c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15)

A sequência dos *primers* e as condições das reações e dos ciclos utilizados para a validação por PCR–AE da VPG c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15) no gene *APC* estão descritas nos Quadros 5 e 6, respectivamente.

Quadro 5: Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15) no gene *APC*.

<i>Primer</i>	Sequência (5'-3')	Sentido	Localização no gene	TMA
âncora	CTGGCACATATAGAGTCTA	<i>antisense</i>	íntron 11	47,6°C
selvagem	ATTTTATTTTTCAGTGCCAG	<i>sense</i>	éxon 11	46,7°C
alterado	TATTTTTCAGTGCCCCAG	<i>sense</i>	éxon 11	49,7°C

Legenda: TMA – Temperatura Média de Anelamento. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

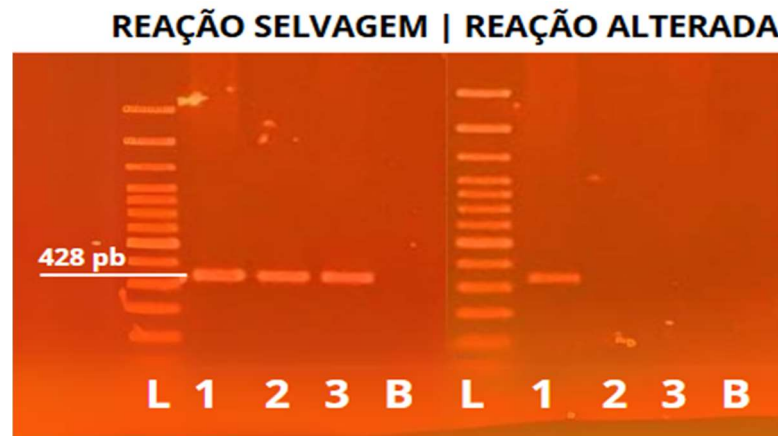
Quadro 6: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1315_1316dup no gene *APC*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	5'
MgCl ₂ (50μM) - Invitrogen	1,5 mM	30 x	94	1'
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		48	1'
<i>Primer sense</i> / conservado (20pmoles) - Exxtend	20pmoles		72	1,5'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles) - Exxtend	20pmoles	1x	72	10'
Taq. DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U	-	10	∞
DNA	200-500ng			
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 25 μl			

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Em ambas as reações, selvagem e alterada, eram esperados *amplicons* de 428 pb. O resultado da eletroforese em gel de agarose das reações pode ser observado na Figura 17. Esse resultado confirma a heterozigose da VPG c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15) no participante CH09 e sua ausência em seu filho (Figura 25).

Figura 25. Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15) no gene *APC*.



Legenda: L – Ladder 1KB Invitrogen ; 1 – Paciente índice (CH09 - III-20); 2 – Filho (CH09 - IV-18); 3 – Controle homozigoto selvagem; B – Branco (ausência de DNA). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.2.2. Confirmação das variantes no gene *MUTYH*

Em uma família (CH07) foram identificadas duas VPG distintas no gene *MUTYH* (c.452A>G e c.1063delC).

a. Variante c.452A>G (p.Tyr151Cys)

A sequência dos *primers* e as condições das reações e dos ciclos utilizados para a validação por PCR–AE da VPG c.452A>G (p.Tyr151Cys) no gene *MUTYH* estão descritas nos Quadros 7 e 8, respectivamente.

Quadro 7: Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.452A>G (p.Tyr151Cys) no gene *MUTYH*.

<i>Primer</i>	Sequência (5'-3')	Sentido	Localização no gene	TMA
âncora	CTGGACAGGCGGGCATAT	<i>sense</i>	ítron 3	57,5°C
selvagem	GCCGGCCACGACAATAGT	<i>antisense</i>	éxon 7	57,6°C
alterado	GCCGGCCACGAGAATAGC	<i>antisense</i>	éxon 7	59,1°C

Legenda: TMA – Temperatura Média de Anelamento. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Quadro 8: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.452A>G (p.Tyr151Cys) no gene *MUTYH*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	4'
MgCl ₂ (50μM) - Invitrogen	1,7 mM	30x	94	30"
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		60	1'
<i>Primer sense</i> / conservado (20pmoles) - Exxtend	20pmoles		72	2'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles) - Exxtend	20pmoles	1x	72	10'
BSA 1%	0,2 mM	-	10	∞
Taq. DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U			
DNA	200-500ng			
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 25 μl			

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Em ambas as reações, selvagem e alterada, eram esperados *amplicons* de 521 pb. O resultado da eletroforese em gel de agarose das reações pode ser observado na Figura 18. Esse resultado confirma a heterozigose da VPG c.452A>G (p.Tyr151Cys) no participante CH07, de herança paterna (Figura 26).

Figura 26. Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.452A>G (p.Tyr151Cys) no gene *MUTYH*.



Legenda: L – Ladder 1KB Invitrogen ; 1 – Paciente índice (CH07 - IV-4); 2 – Mãe (CH07 - III-15); 3 – Pai (CH07 - III-14); 4 – Controle homozigoto selvagem; B – Branco (ausência de DNA). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

b. Variante c.1063delC (p.Ala357Profs*23)

A sequência dos *primers* e as condições das reações e dos ciclos utilizados para a validação por PCR–AE da VPG c.1063delC (p.Ala357Pro fs*23) no gene *MUTYH* estão descritas nos Quadros 9, 10 e 11, respectivamente.

Quadro 9: Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.1063delC (p.Ala357Profs*23) no gene *MUTYH*.

<i>Primer</i>	Sequência (5'-3')	Sentido	Localização no gene	TMA
âncora	CTAAGGAGTGACTCTGCCCTA-3	<i>sense</i>	íntron 10	55,4°C
selvagem	GAATTTGGGCCCCAAGGG	<i>antisense</i>	éxon 10	56,8°C
alterado	GAATTTGGGCCCCAAGG/C	<i>antisense</i>	éxon 10	57,3°C

Legenda: TMA – Temperatura Média de Anelamento. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Quadro 10: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem no gene *MUTYH*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	5'
MgCl ₂ (50μM) - Invitrogen	1,5 mM	30x	94	1'
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		53	1'
<i>Primer sense</i> / conservado (20pmoles) - Exxtend	20pmoles		72	1,5'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles) - Exxtend	20pmoles	1x	72	10'
DMSO	0,2 mM	-	10	∞
Taq. DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U			
DNA	200-500ng			
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 30 μl			

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Quadro 11: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo com a VPG c.1063delC no gene *MUTYH*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	4'
MgCl ₂ (50μM) - Invitrogen	1,5 mM	18x	94	30"
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		62,5 - 0,5 por ciclo	40"
<i>Primer sense</i> / conservado (20pmoles) - Exxtend	20pmoles		72	2'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles) - Exxtend	20pmoles	16x	94	30"
BSA 1%	0,2 mM		54,5	40"
Taq. DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U		72	2'
DNA	200-500ng	-	10	∞
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 30 μl			

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Em ambas as reações, selvagem e alterada, eram esperados *amplicons* de 448pb. O resultado da eletroforese em gel de agarose das reações pode ser observado na Figura 19. Esse resultado confirma a heterozigose da VPG c.1063delC (p.Ala357Profs*23) no participante CH07, de herança materna (Figura 27).

Figura 27. Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1063delC (p.Ala357Profs*23) no gene *MUTYH*.



Legenda: L – Ladder 1KB Invitrogen ; 1 – Paciente índice (CH07 - IV-4); 2 – Mãe (CH07 - III-15); 3 – Pai (CH07 - III-14); 4 – Controle homozigoto selvagem; B – Branco (ausência de DNA). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.2.3. Confirmação das variantes no gene *SMAD4*

Em uma família (CH08) foi identificada uma VUS no gene *SMAD4* (c.1139+3A>G).

a. Variante c.1139+3A>G

A sequência dos *primers* e as condições das reações e dos ciclos utilizados para a validação por PCR–AE da VUS c.1139+3A>G no gene *SMAD4* estão descritas nos Quadros 12, 13 e 14, respectivamente.

Quadro 12: Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.1139+3A>G no gene *SMAD4*.

<i>Primer</i>	Sequência (5'-3')	Sentido	Localização no gene	TMA
âncora	CCGCACCCAGCCTCATTATATAA	<i>antisense</i>	íntron 9	56,7°C
selvagem	GAAGCCATTGAGAGAGCAAGGTA	<i>sense</i>	íntron 9	56,8°C
alterado	GCCATTGAGAGAGCAAGGTG	<i>sense</i>	íntron 9	56,1°C

Legenda: TMA – Temperatura Média de Anelamento. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Quadro 13: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem no gene *SMAD4*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	4'
MgCl ₂ (50μM) - Invitrogen	1,5 mM	18x	94	30"
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		61,5 - 0,5 por ciclo	40"
<i>Primer sense</i> / conservado (20pmoles) - Exxtend	20pmoles		72	2'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles) - Exxtend	20pmoles	16x	94	30"
BSA 1%	0,2 mM		54,5	40"
Taq. DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U		72	2'
DNA	200-500ng		10	∞
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 25 μl			

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Quadro 14: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo com a VPG c.1139+3A>G no gene *SMAD4*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	4'
MgCl ₂ (50μM) - Invitrogen	1,5 mM	18x	94	30"
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		62 - 0,5 por ciclo	40"
<i>Primer sense</i> / conservado (20pmoles) - Exxtend	20pmoles		72	2'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles) - Exxtend	20pmoles	16x	94	30"
BSA 1%	0,2 mM		54	40"
Taq. DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U		72	2'
DNA	200-500ng		10	∞
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 25 μl			

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Em ambas as reações, selvagem e alterada, eram esperados *amplicons* de 495 pb. O resultado da eletroforese em gel de agarose das reações pode ser observado na Figura 20. Esse resultado confirma a heterozigose da VUS c.1139+3A>G no participante CH08 (Figura 28).

Figura 28. Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VUS c.1139+3A>G no gene *SMAD4*.



Legenda: L – Ladder 1KB Invitrogen ; 1 – Paciente índice (CH08 - III-2); 2 – Controle homozigoto selvagem; B – Branco (ausência de DNA). Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.2.4. Confirmação das variantes no gene *BRCA1*

Em uma família (CH04) foi identificada uma VPG no gene *BRCA1* (c.1687C>T).

a. Variante c.1687C>T (p.Gln563*)

A sequência dos *primers* e as condições das reações e dos ciclos utilizados para a validação por PCR–AE da VPG c.1687C>T (p.Gln563*) no gene *BRCA1* estão descritas nos Quadros 15 e 16, respectivamente.

Quadro 15: Sequência dos primers utilizados para a validação por PCR–AE das VPG c.1687C>T (p.Gln563*) no gene *BRCA1*.

<i>Primer</i>	Sequência (5'-3')	Sentido	Localização no gene	TMA
âncora	TTAGTAAAAGAACCAGGTGCA	<i>antisense</i>	éxon 10	51,7°C
selvagem	TAAAACAAAAGGTGATTCTATT C	<i>sense</i>	éxon 10	47,1°C
alterado	TAAAACAAAAGGTGATTCTATT T	<i>sense</i>	éxon 10	46,6°C

Legenda: TMA – Temperatura Média de Anelamento. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Quadro 16: Condições e ciclo de padronização da PCR-AE para a amplificação do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1687C>T (p.Gln563*) no gene *BRCAL*.

Reagentes	Concentração	Ciclo	Temperatura (°C)	Tempo
Tampão (10x) - Invitrogen	1X	1x	94	5'
MgCl ₂ (50μM) - Invitrogen	1,5 mM	30x	94	1'
dNTP (10mM) - Invitrogen	0,2 mM cada		56,5	1'
<i>Primer sense</i> / conservado (20pmoles) - Exxtend	20pmoles		72	1,5'
<i>Primer antisense</i> (20pmoles) - Exxtend	20pmoles	1x	72	10'
BSA 1%	0,2 mM	-	10	∞
Taq. DNA Polimerase (5U) - Invitrogen	1U			
DNA	200-500ng			
H ₂ O Ultrapura	q.s.p. 25 μl			

Legenda: q.s.p. – quantidade suficiente para; ' – minutos; " – segundos. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Em ambas as reações, selvagem e alterada, eram esperados *amplicons* de 484 pb. O resultado da eletroforese em gel de agarose das reações pode ser observado na Figura 21. Esse resultado confirma a heterozigose da VPG c.1687C>T (p.Gln563*) no participante CH04 e a ausência desta em sua mãe e meia-irmã materna (Figura 29).

Figura 29. Eletroforese em gel de agarose para verificação da presença/ausência do alelo selvagem e do alelo com a VPG c.1687C>T (p.Gln563*) no gene *BRCAL*.



Legenda: L – Ladder 1KB Invitrogen ; 1 – Paciente índice (CH04 - IV-8); 2 – Mãe (CH04 - III-5); 3 - Irmã por parte de mãe (CH04 - IV-7); 4 = Controle homozigoto selvagem; B – Branco (ausência de DNA). Fonte:

Elaborado pelo autor (2025).

Todos os testes confirmatórios utilizando a técnica de PCR-AE encontram-se padronizados no LGMH e disponíveis para familiares interessados igualmente sob risco.

5.3. Caracterização das VPG e correlação genótipo-fenótipo

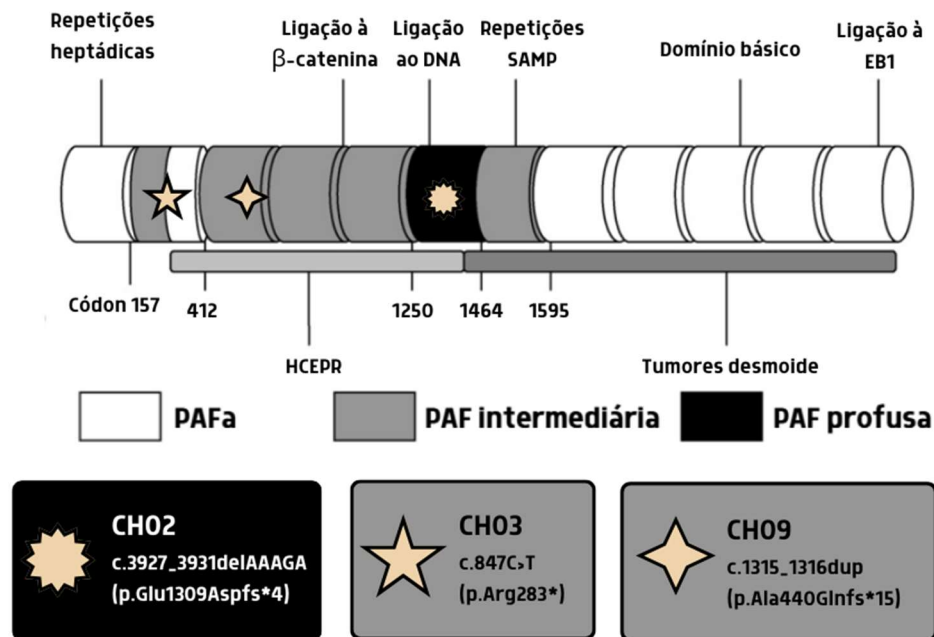
5.3.1. Variantes identificadas no gene *APC*

O gene *APC* (*adenomatous polyposis coli*), situado na região 2, banda 1 do braço longo do cromossomo 5 (5q21), contém 20 éxons e é responsável pela síntese de uma proteína homônima com 2.843 aminoácidos. Este gene é classificado como supressor de tumor, antagonista da via de sinalização Wnt. Esta via de sinalização é responsável pela estabilização de β -cateína na célula através da inibição da proteína glicogênio sintase-quinase 3 (GSK3 β). A β -cateína é transportada para o núcleo, atuando na proliferação celular. O complexo composto pela proteína de mesmo nome APC, Axin, PP2A, CK1 e GSK3 β atua na fosforilação β -cateína, que por sua vez é degradada, interrompendo a proliferação celular. O gene *APC* também participa da ativação transcricional, migração e adesão celular, apoptose, segregação cromossômica, montagem do fuso mitótico e desenvolvimento neural. VPG no gene *APC*

causam PAF, uma doença autossômica dominante responsável pelo surgimento de dezenas a milhares de pólipos no intestino e trato gastrointestinal, que evoluem de adenomas para carcinomas em 100% dos casos não tratados (Miyoshi *et al.*, 1992; Friedl; Aretz, 2005; Kerr *et al.*, 2013; Waller *et al.*, 2016; UniProt, 2025; NCBI, 2025).

Os achados moleculares permitiram inferir a classificação esperada para os fenótipos apresentados pelos participantes identificados como portadores destas VPG, sendo três alterações distintas, estando duas delas inferidas como PAF intermediária (CH03 e CH09) e uma como PAF profusa (CH02) (Figura 30).

Figura 30. Localização molecular das Variantes Patogênicas Germinativas identificadas por Sequenciamento de Nova Geração no gene *APC*.



Legenda: SAMP: locais de ligação da proteína Axina; EB1: proteína EB1; HCEPR: hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina; PAFa: Polipose Adenomatosa Familiar atenuada; PAF: Polipose Adenomatosa Familiar. Fonte: traduzido de Nieuwenhuis; Vasen (2007) e editado pelo autor.

a. Variante c.3927_3931delAAAGA (p.Glu1309Aspfs*4)

No participante índice da família CH02 (indivíduo III-16) foi identificada pelo painel NGS a heterozigose da alteração c.3927_3931delAAAGA no gene *APC*. Essa deleção de 5 nucleotídeos no éxon 16 promove a substituição do aminoácido glutamato no códon 1.309 por aspartato e, a partir deste ponto, mudança na matriz de leitura da proteína com a criação de um códon de parada prematuro após 4 aminoácidos (p.Glu1309Aspfs*4), desta forma gerando uma

proteína anômala com apenas 46,2% do seu tamanho original (1.312 de 2.843 aminoácidos). Esta alteração foi previamente descrita na literatura em indivíduos diagnosticados com PAF e é considerada patogênica (Miyoshi *et al.*, 1992; Friedl; Aretz, 2005; Kerr *et al.*, 2013).

O gene *APC* está relacionado ao fenótipo de PAF, uma SPHCCR, que apresenta padrão de herança autossômica dominante. Sendo assim, a heterozigose da VPG identificada justifica o fenótipo de inúmeros pólipos, tumor desmoide e câncer de tireoide apresentado pelo participante. A participante tem duas filhas (Figura 9 - heredograma da família CH02; indivíduos IV-18 e IV-19) que, de acordo com o padrão de herança, apresentam risco de 50% de terem herdado a VPG. O exame de colonoscopia de ambas indicou a presença de inúmeros pólipos, compatível com o início de manifestação da PAF. A segregação da VPG foi confirmada por PCR-AE, todas realizaram aconselhamento genético pós-teste e estão sendo acompanhadas.

b. Variante c.847C>T (p.Arg283*)

No participante índice da família CH03 (indivíduo III-11) foi identificada pelo painel NGS a heterozigose da alteração c.847C>T no gene *APC*. A substituição do nucleotídeo citosina por uma timina promove a troca do aminoácido arginina na posição 283 por um códon de parada prematuro (p.Arg283*), desta forma gerando uma proteína anômala com apenas 9,9% do seu tamanho original (282 de 2.843 aminoácidos). Esta alteração foi previamente descrita na literatura em indivíduos diagnosticados com PAF e é considerada patogênica (Friedl; Aretz, 2005).

Semelhante ao caso anterior, a heterozigose da VPG no gene *APC* justifica o fenótipo de inúmeros pólipos do participante e confirma o diagnóstico clínico de PAF obtido anteriormente à pesquisa. O teste molecular indicou que essa alteração não possui herança materna, corroborando o heredograma da família (Figura 10 - heredograma da família CH03; indivíduo II-7). A confirmação da herança paterna da VPG não foi possível devido ao falecimento paterno por CCR aos 30 anos, anterior à pesquisa. O participante e sua mãe realizaram o aconselhamento genético pós-teste e estão sendo acompanhados pela equipe multidisciplinar do HUPAA.

c. Variante c.1315_1316dup (p.Ala440Glnfs*15)

No participante índice da família CH09 (Figura 16 - heredograma da família CH09, indivíduo III-20) foi identificada por painel NGS a heterozigose da alteração c.1315_1316dup no gene *APC*. Essa duplicação do nucleotídeo citosina na posição nucleotídica 1.315 do éxon

11 promove a substituição do aminoácido alanina no códon 440 por glutamina e, a partir desse ponto, mudança da matriz de leitura, levando a criação de um códon de parada prematuro após 15 aminoácidos (p.Ala440Glnfs*15), desta forma gerando uma proteína anômala com apenas 16% do seu tamanho original (455 de 2.843 aminoácidos). Esta alteração não foi previamente relatada na literatura, contudo alterações semelhantes foram descritas em pacientes com PAF e é considerada patogênica (Friedl *et al.*, 2001; Lagarde *et al.*, 2010).

Semelhante aos participantes das famílias CH02 e CH03, a heterozigose desta VPG justifica o fenótipo de inúmeros pólipos apresentado pelo participante, assim como o diagnóstico de CCR. A participante possui dois filhos sob risco de terem herdado a VPG. Durante a realização deste trabalho um deles (indivíduo IV-18) realizou o teste genético, não sendo identificada a VPG. O resultado do teste genético (ausência da VPG) neste filho trouxe tanto benefícios clínicos, como a redução na vigilância intensificada, quanto psicológico, como redução da ansiedade e estigma familiar. Por residir em outro estado, o segundo filho ainda não compareceu para coleta biológica e realização do teste. A participante permanece sendo acompanhada pela equipe multidisciplinar do HUPAA/UFAL.

5.3.2. Variantes identificadas no gene *MUTYH*

O gene *MUTYH* (*mutY DNA glycosylase*) está localizado na região 3, banda 4 do braço curto do cromossomo 1 (1p34.1), contém 22 éxons e sua proteína é composta por 546 aminoácidos, codificando uma enzima envolvida na via de reparo por excisão de base (BER), tendo como principal função o reparo do DNA através da excisão de adeninas mal incorporadas ao lado da 8-oxoguanina (Curia *et al.*, 2020). Além disso, está envolvida em funções cognitivas relacionadas à memória (Abentung *et al.*, 2024). Possui padrão de herança autossômico recessivo, onde alterações patogênicas em homozigose ou heterozigose composta causam a MAP, elevando o risco ao desenvolvimento de CCR através da polipose, estando também associado aos cânceres de mama e gástrico (Al-Tassan *et al.*, 2002; Aretz *et al.*, 2006; Poulsen; Bisgaard, 2008; UniProt, 2025; NCBI, 2025).

a. Variante c.452A>G (p.Tyr151Cys)

No participante índice da família CH07 (IV-4) foi identificada por painel NGS a heterozigose da alteração c.452A>G no gene *MUTYH*. A substituição de uma adenina por uma guanina no nucleotídeo codificante 452 do éxon 7 resulta na substituição do aminoácido tirosina

por cisteína na posição proteica 151 (p.Tyr151Cys). Esta variante foi previamente relatada na literatura em pacientes com polipose intestinal associada ao gene *MUTYH*, uma SPHCCR, sendo classificada como patogênica quando em homozigose ou heterozigose composta (Al-Tassan *et al.*, 2002).

b. Variante c.1063delC (p.Ala357Profs*23)

Também no gene *MUTYH* do participante índice da família CH07 (IV-4) foi identificada por painel NGS a heterozigose da alteração c.1063delC. A deleção do nucleotídeo citosina na posição codificante 1063 do éxon 11 promove a substituição do aminoácido alanina por prolina na posição 357 e, a partir desse ponto, ocorre a mudança de matriz de leitura, levando a criação de um códon de parada prematuro após 23 aminoácidos (p.Ala357Profs*23), desta forma gerando uma proteína anômala com apenas 69,6% do seu tamanho original (380 de 546 aminoácidos). Esta variante foi previamente descrita na literatura em pacientes com polipose intestinal associada ao gene *MUTYH*, uma SPHCCR, sendo classificada como patogênica quando em homozigose ou heterozigose composta (Aretz *et al.*, 2006).

Uma vez que a polipose associada ao gene *MUTYH* apresenta padrão de herança autossômica recessiva, a identificação de duas alterações no gene *MUTYH* em associação ao fenótipo apresentado pelo indivíduo IV-4 (CH07), nos permite inferir que estas VPG se apresentam em heterozigose composta. Em doenças cujo fenótipo apresentam padrão de herança autossômico recessivo a análise de segregação das VPG é essencial para se estabelecer a correlação genótipo-fenótipo. Por esta razão, após a padronização da PCR-AE e validação das VPG no participante, foi realizada a análise de segregação das variantes identificadas nos genitores, o que nos permitiu afirmar a herança materna (III-15) da VPG c.1063delC e paterna (III-14) da VPG c.452A>G, confirmado a hipótese de heterozigose composta e justificando os diversos pólipos adenomatosos encontrados no trato gastrointestinal do participante. Foi realizado o aconselhamento genético pós-teste e o participante está sendo acompanhado pela equipe multidisciplinar do HUPAA. Seus progenitores não desejaram realizar o aconselhamento pós-teste. Devido o padrão de herança autossômico recessivo e a não consanguinidade do participante índice com o indivíduo IV-5, a prole resultante (V-5 e V-6) não corre risco de desenvolvimento de MAP em decorrência das alterações portadas pelo genitor, sendo indivíduos obrigatoriamente heterozigotos para uma das duas VPG identificadas.

5.3.3. Variantes identificadas no gene *SMAD4*

O gene *SMAD4* (*SMAD family member 4*), situado na região 2, banda 1 do braço longo do cromossomo 18 (18q21.2), contém 14 éxons e sua proteína é composta por 552 aminoácidos e é um supressor tumoral envolvido na via de sinalização do TGF-beta, regulando a proliferação celular, diferenciação e estabilidade vascular. Este gene codifica uma proteína que atua inibindo a proliferação de células epiteliais, também havendo efeito inibitório sobre os tumores, reduzindo a angiogênese e aumentando a hiperpermeabilidade dos vasos sanguíneos (Mafficini *et al.*, 2022; Banerjee *et al.*, 2023). Possui padrão de herança autossômico dominante, onde VPG neste gene causam a síndrome de JPS e síndrome de telangiectasia hemorrágica hereditária, elevando os riscos ao desenvolvimento de CCR e pancreático (Mafficini *et al.*, 2022; UniProt, 2025; NCBI, 2025).

a. Variante c.1139+3A>G

No participante índice da família CH08 (indivíduo III-2) foi identificada por painel NGS a heterozigose da alteração c.1139+3A>G no gene *SMAD4*. Essa substituição do nucleotídeo adenina por guanina afeta a terceira base de um sítio doador de *splicing*. Esta alteração é atualmente classificada como VUS por não haver dados na literatura que permitam confirmar sua patogenicidade, contudo a variante foi relatada previamente na literatura em estudos que sugerem que a variante está associada à JPS, uma SPHCCR (Mafficini *et al.*, 2022).

A identificação desta VUS nesta participante, em conjunto com o fenótipo apresentado de polipose gástrica e intestinal, além das manifestações extra colônicas de anemia e enterorragia, sintomatologia já descrita em associação com SPJ, corrobora a hipótese de que a variante possa ser reclassificada como patogênica.

A participante realizou o aconselhamento genético pós-teste e está sendo acompanhada pela equipe multidisciplinar do HUPAA.

5.3.4. Variantes identificadas no gene *BRCA1*

O gene *BRCA1* (*Brest Cancer 1*), situado na região 2, banda 1 do braço longo do cromossomo 17 (17q21), contém 31 éxons e codifica uma proteína com 1.863 aminoácidos, é um gene supressor de tumor relacionado com o reparo das quebras da fita dupla de DNA induzidas por recombinação homóloga. A proteína codificada pelo gene interage diretamente

com outras proteínas (RAD51; Ctlp e complexo MRN) responsáveis pela resposta aos danos no DNA, regulação do ciclo celular, remodelação da cromatina e regulação da transcrição (Zhang; Powell, 2005; Stecklein *et al.*, 2012). Os fenótipos descritos seguem padrão de herança autossômico dominante, e VPG neste gene estão associadas à perda total ou parcial de função do complexo de reparo do DNA, levando ao acúmulo de alterações patogênicas e predisposição ao desenvolvimento de cânceres (Stefansson *et al.*, 2012; Valle *et al.*, 2017; UniProt, 2025; NCBI, 2025).

a. Variante c.1687C>T (p.Gln563*)

No participante índice da família CH04 (indivíduo IV-8) foi identificada pelo painel NGS a heterozigose da alteração c.1687C>T no gene *BRCA1*. Essa substituição do nucleotídeo citosina por uma adenina no éxon 10 promove a troca do aminoácido glutamina na posição 563 por um códon de parada prematuro (p.Gln563*), desta forma gerando uma proteína anômala com apenas 30,2% do seu tamanho original (562 de 1.863 aminoácidos). Esta alteração foi previamente descrita na literatura associada à síndrome de predisposição hereditária a cânceres e é considerada patogênica (Shattuck-Eidens *et al.*, 1995; Janavičius, 2010).

O gene *BRCA1* está relacionado ao desenvolvimento de cânceres de mama e ovário (mais frequentemente associados) até cânceres de próstata, pâncreas e colorretal (associações mais raras) (Stefansson *et al.*, 2012; Valle *et al.*, 2017) e apresenta padrão de herança autossômica dominante. Sendo assim, a heterozigose da VPG identificada no participante (CH04 - IV-8) pode justificar o fenótipo de CCR apresentado, entretanto são necessários estudos adicionais para uma melhor compreensão de seu impacto clínico e funcional. Tanto o participante quanto sua genitora (CH04 - III-5) e sua meia-irmã materna (IV-7) realizaram aconselhamento genético pós-teste e estão sendo acompanhados.

5.3.5. Participantes CH05, CH06, CH10, CH11, CH12, CH13, CH15 e CH16

Não foram identificadas VPG ou VUS fortemente associadas à SPHCCR nos 42 genes analisados no painel de NGS, entretanto não se exclui a possibilidade dos participantes possuírem alguma SPHCCR devido a alterações em genes tradicionalmente não-associados às predisposições ao CCR.

Com base nos resultados, a taxa de positividade nesta amostra foi de 42,8% (6/14) sendo a correlação genótipo-fenótipo fortemente estabelecida em 28,6% da amostra (4/14).

6. CONCLUSÕES

Foram identificadas seis VPG e uma VUS em quatro genes distintos, em 6 das 14 famílias analisadas. Três genes (*APC*, *MUTYH* e *SMAD4*) estão fortemente associados às SPHCCR, enquanto o *BRCA1*, tradicionalmente vinculado ao câncer de mama e ovário, foi identificado em um caso de CCR não poliposo, sugerindo possível ampliação fenotípica.

O gene *APC* foi o mais representado entre as SPHCCR poliposas, em concordância com a literatura. A VUS identificada no *SMAD4*, associada ao fenótipo clínico, poderá ser reclassificada como patogênica.

A padronização da PCR-AE permitiu a validação eficiente das variantes detectadas por NGS.

A correlação genótipo-fenótipo foi estabelecida em 28,6% das famílias analisadas. Considerando-se apenas aquelas com variantes identificadas essa correlação foi de 66,7%, reforçando a relevância da análise molecular no contexto clínico das SPHCCR.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A padronização da técnica de PCR-AE no LGMH/HUPAA/UFAL para validação das variantes genéticas identificadas representa um avanço significativo na capacidade diagnóstica local. Essa metodologia, de menor custo e maior acessibilidade, viabiliza a testagem em cascata de familiares sob risco, mediante aconselhamento genético pré-teste, com potencial de incorporação ao Sistema Único de Saúde (SUS), ampliando o acesso ao diagnóstico genético no contexto das SPHCCR.

Os achados deste estudo têm implicações diretas no manejo clínico personalizado, incluindo estratégias de prevenção, diagnóstico precoce, intervenções profiláticas e aconselhamento genético. Além disso, o conhecimento das variantes por parte dos participantes e seus familiares pode favorecer o planejamento reprodutivo, reduzir a ansiedade frente ao risco genético e fortalecer o acesso a redes de apoio clínico especializado.

Do ponto de vista científico, os resultados reforçam a literatura ao evidenciar a heterogeneidade fenotípica das SPHCCR e a sua sobreposição em diferentes síndromes. A realização deste estudo na população alagoana, por meio de iniciativa científica gratuita, destaca a importância da implementação de políticas públicas voltadas às doenças raras promovendo equidade no acesso ao cuidado integral, conforme estabelecido pela Portaria GM/MS n.º 199, de 30 de janeiro de 2014, que instituiu a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras (Ministério da Saúde, 2014).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABENTUNG, Andreas Abentung *et al.* DNA glycosylases Ogg1 and Mutyh mediate gene expression of PRC2 target genes important for neuronal processes underlying memory formation. **bioRxiv**, 4 abr. 2024.

AL-TASSAN, Nada *et al.* Inherited variants of MYH associated with somatic G:C→T:a mutations in colorectal tumors. **Nature Genetics**, v. 30, n. 2, p. 227-232, 30 jan. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng828>. Acesso em: 7 abr. 2025.

AOUN, Rami James N.; KALADY, Matthew F. Hereditary colorectal cancer: from diagnosis to surgical options. **Clinics in Colon and Rectal Surgery**, 3 jul. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0044-1787884>. Acesso em: 7 abr. 2025.

APC APC regulator of WNT signaling pathway [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/324>. Acesso em: 19 maio 2025.

ARETZ, Stefan *et al.* MUTYH-associated polyposis: 70 of 71 patients with biallelic mutations present with an attenuated or atypical phenotype. **International Journal of Cancer**, v. 119, n. 4, p. 807-814, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijc.21905>. Acesso em: 7 abr. 2025.

ARETZ, Stefan. The Differential Diagnosis and Early Detection of Hereditary Gastrointestinal Polyposis Syndromes. **Deutsches Aerzteblatt Online**, 12 mar. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3238/arztebl.2010.0163>. Acesso em: 7 abr. 2025.

BEHJATI, Sam; TARPEY, Patrick S. What is next generation sequencing? **Archives of disease in childhood - Education & practice edition**, v. 98, n. 6, p. 236-238, 28 ago. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304340>. Acesso em: 7 abr. 2025.

BLEIJENBERG, Arne Gc *et al.* Personalised surveillance for serrated polyposis syndrome: results from a prospective 5-year international cohort study. **Gut**, v. 69, n. 1, p. 112-121, 13 abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-318134>. Acesso em: 7 abr. 2025.

BRCA1 BRCA1 DNA repair associated [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/672>. Acesso em: 19 maio 2025.

BRINCH, Heidi Hesselø *et al.* Germline pathogenic variants in RNF43 in patients with and without serrated polyposis syndrome. **Familial Cancer**, v. 24, n. 1, 15 nov. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10689-024-00428-6>. Acesso em: 7 abr. 2025.

BROSENS, Lodewijk Aa. Juvenile polyposis syndrome. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 44, p. 4839, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i44.4839>. Acesso em: 7 abr. 2025.

CALVIÑO, José Manuel Mera; DE LA BALLINA GONZÁLEZ, Enrique González. Hereditary polyposis CRC. In: CALVIÑO, José Manuel Mera; DE LA BALLINA

GONZÁLEZ, Enrique González. **Foundations of colorectal cancer**. [S. l.]: Elsevier, 2022. p. 195-203. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-90055-3.00047-8>. Acesso em: 19 maio 2025.

CÂNCER de cólon e reto — Instituto Nacional de Câncer - INCA. 30 jan. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/sintese-de-resultados-e-comentarios/cancer-de-colon-e-reto>. Acesso em: 7 abr. 2025.

CÂNCER hereditário: o que é e diagnóstico - Blog Mendelics. 17 dez. 2024. Disponível em: [https://blog.mendelics.com.br/cancer-hereditario/#:~:text=As%20alterações%20genéticas%20que%20causam,\(alterações%20somáticas%20ou%20adquiridas\)](https://blog.mendelics.com.br/cancer-hereditario/#:~:text=As%20alterações%20genéticas%20que%20causam,(alterações%20somáticas%20ou%20adquiridas)). Acesso em: 7 abr. 2025.

CARBALLAL, Sabela *et al.* Colorectal cancer risk factors in patients with serrated polyposis syndrome: a large multicentre study. **Gut**, v. 65, n. 11, p. 1829-1837, 11 ago. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309647>. Acesso em: 7 abr. 2025.

CLEARY, Sean P. *et al.* Germline MutY human homologue mutations and colorectal cancer: a multisite case-control study. **Gastroenterology**, v. 136, n. 4, p. 1251-1260, abr. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.12.050>. Acesso em: 7 abr. 2025.

COLEMAN, William B.; TSONGALIS, Gregory J. **Molecular basis of human cancer**. [S. l.]: Humana Press, 2016. ISBN 9781597454582.

CURIA, Maria Cristina; CATALANO, Teresa; ACETO, Gitana Maria. MUTYH: not just polyposis. **World Journal of Clinical Oncology**, v. 11, n. 7, p. 428-449, 24 jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5306/wjco.v11.i7.428>. Acesso em: 7 abr. 2025.

DACA ALVAREZ, Maria *et al.* The inherited and familial component of early-onset colorectal cancer. **Cells**, v. 10, n. 3, p. 710, 23 mar. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells10030710>. Acesso em: 7 abr. 2025.

DANIELL, Julian *et al.* An exploration of genotype-phenotype link between Peutz-Jeghers syndrome and STK11: a review. **Familial Cancer**, v. 17, n. 3, p. 421-427, 12 set. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10689-017-0037-3>. Acesso em: 7 abr. 2025.

DINARVAND, Peyman *et al.* Familial Adenomatous Polyposis syndrome: an update and review of extraintestinal manifestations. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 143, n. 11, p. 1382-1398, 29 maio 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0570-ra>. Acesso em: 7 abr. 2025.

FERLAY, J. *et al.* **Cancer today**. 2024. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/today/en>. Acesso em: 7 abr. 2025.

FERLAY, Katharina *et al.* Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'Care for CMMRD' (C4CMMRD). **Journal of Medical Genetics**, v. 51, n. 6, p. 355-365, 15 abr. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2014-102284>. Acesso em: 7 abr. 2025.

FRIEDL, W. Can APC mutation analysis contribute to therapeutic decisions in familial adenomatous polyposis? Experience from 680 FAP families. **Gut**, v. 48, n. 4, p. 515-521, 1 abr. 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/gut.48.4.515>. Acesso em: 7 abr. 2025.

FRIEDL, Waltraut; ARETZ, Stefan. Familial Adenomatous Polyposis: experience from a study of 1164 unrelated german polyposis patients. **Hereditary Cancer in Clinical Practice**, v. 3, n. 3, p. 95, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1897-4287-3-3-95>. Acesso em: 7 abr. 2025.

GALA, Manish K. *et al.* Germline mutations in oncogene-induced senescence pathways are associated with multiple sessile serrated adenomas. **Gastroenterology**, v. 146, n. 2, p. 520-529.e6, fev. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.10.045>. Acesso em: 7 abr. 2025.

GAMMON, Amanda *et al.* Hamartomatous polyposis syndromes. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 23, n. 2, p. 219-231, abr. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2009.02.007>. Acesso em: 7 abr. 2025.

GAMMON, Amanda *et al.* Hamartomatous polyposis syndromes. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 23, n. 2, p. 219-231, abr. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2009.02.007>. Acesso em: 7 abr. 2025.

GARCIA, Felipe Antonio de Oliveira *et al.* New insights on familial colorectal cancer type X syndrome. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 18 fev. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06782-8>. Acesso em: 7 abr. 2025.

HEARLE, Nicholas *et al.* Frequency and spectrum of cancers in the Peutz-Jeghers Syndrome. **Clinical Cancer Research**, v. 12, n. 10, p. 3209-3215, 15 maio 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-06-0083>. Acesso em: 7 abr. 2025.

HOWE, J. R. Mutations in the SMAD4/DPC4 gene in Juvenile Polyposis. **Science**, v. 280, n. 5366, p. 1086-1088, 15 maio 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.280.5366.1086>. Acesso em: 7 abr. 2025.

IJSPEERT, J. E. G. *et al.* Clinical risk factors of colorectal cancer in patients with serrated polyposis syndrome: a multicentre cohort analysis. **Gut**, v. 66, n. 2, p. 278-284, 24 nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310630>. Acesso em: 7 abr. 2025.

ISHIDA, Hideyuki *et al.* Update on our investigation of malignant tumors associated with Peutz-Jeghers syndrome in Japan. **Surgery Today**, v. 46, n. 11, p. 1231-1242, 8 jan. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00595-015-1296-y>. Acesso em: 7 abr. 2025.

JAEGGER, Emma *et al.* Hereditary mixed polyposis syndrome is caused by a 40-kb upstream duplication that leads to increased and ectopic expression of the BMP antagonist GREM1. **Nature Genetics**, v. 44, n. 6, p. 699-703, 6 maio 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng.2263>. Acesso em: 7 abr. 2025.

JANAVIČIUS, Ramūnas. Founder BRCA1/2 mutations in the Europe: implications for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control. **EPMA Journal**, v. 1, n. 3, p. 397-412, 27 jun. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13167-010-0037-y>. Acesso em: 7 abr. 2025.

JUVENILE polyposis syndrome - genereviews® - NCBI bookshelf. 3 fev. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1469/>. Acesso em: 7 abr. 2025.

KERR, Sarah E. *et al.* APC germline mutations in individuals being evaluated for familial adenomatous polyposis. **The Journal of Molecular Diagnostics**, v. 15, n. 1, p. 31-43, jan. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2012.07.005>. Acesso em: 7 abr. 2025.

KIDAMBI, Trilokesh D. *et al.* Hereditary polyposis syndromes. **Current Treatment Options in Gastroenterology**, v. 17, n. 4, p. 650-665, 8 nov. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11938-019-00251-4>. Acesso em: 7 abr. 2025.

KIM, Duck-Woo. Hereditary colorectal cancer. **Journal of Genetic Medicine**, v. 7, n. 1, p. 24-36, 30 jun. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.5734/jgm.2010.7.1.24>. Acesso em: 7 abr. 2025.

KNUDSON, A. G. Genetics of human cancer. **Annual Review of Genetics**, v. 20, n. 1, p. 231-251, dez. 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.20.120186.001311>. Acesso em: 7 abr. 2025.

KÖVÁRI, Bence; KIM, Baek H.; LAUWERS, Gregory Y. The pathology of gastric and duodenal polyps: current concepts. **Histopathology**, v. 78, n. 1, p. 106-124, 31 dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/his.14275>. Acesso em: 7 abr. 2025.

LAGARDE, A. *et al.* Germline APC mutation spectrum derived from 863 genomic variations identified through a 15-year medical genetics service to French patients with FAP. **Journal of Medical Genetics**, v. 47, n. 10, p. 721-722, 3 ago. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/jmg.2010.078964>. Acesso em: 7 abr. 2025.

LEVINE, Joel S.; AHNEN, Dennis J. Adenomatous polyps of the colon. **New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 24, p. 2551-2557, 14 dez. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/nejmcp063038>. Acesso em: 7 abr. 2025.

LINDSAY, Holly *et al.* Germline POLE mutation in a child with hypermutated medulloblastoma and features of constitutional mismatch repair deficiency. **Molecular Case Studies**, v. 5, n. 5, p. a004499, out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/mcs.a004499>. Acesso em: 7 abr. 2025.

LUBBE, Steven J. *et al.* Clinical implications of the colorectal cancer risk associated with MUTYH mutation. **Journal of Clinical Oncology**, v. 27, n. 24, p. 3975-3980, 20 ago. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1200/jco.2008.21.6853>. Acesso em: 7 abr. 2025.

MAFFICINI, Andrea *et al.* Juvenile polyposis diagnosed with an integrated histological, immunohistochemical and molecular approach identifying new SMAD4 pathogenic variants.

Familial Cancer, 25 jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10689-022-00289-x>. Acesso em: 7 abr. 2025.

MAJITHIA, Jinita *et al.* Imaging recommendations for diagnosis, staging, and management of hereditary malignancies. **Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology**, 1 mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0042-1760325>. Acesso em: 19 maio 2025.

MANKANEY, Gautam; ROUPHAEL, Carol; BURKE, Carol A. Serrated polyposis syndrome. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 4, p. 777-779, abr. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2019.09.006>. Acesso em: 7 abr. 2025.

MARRA, G.; BOLAND, C. R. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: the syndrome, the genes, and historical perspectives. **JNCI Journal of the National Cancer Institute**, v. 87, n. 15, p. 1114-1125, 2 ago. 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jnci/87.15.1114>. Acesso em: 7 abr. 2025.

MASANNAT, Tarek *et al.* D239Y germline variant of NTHL1 glycosylase increases susceptibility to colorectal cancer in mice. **Physiology**, v. 39, S1, maio 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physiol.2024.39.s1.2118>. Acesso em: 7 abr. 2025.

MINISTÉRIO da Saúde. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt0199_30_01_2014.html. Acesso em: 19 maio 2025.

MIYOSHI, Y. *et al.* Germ-line mutations of the APC gene in 53 familial adenomatous polyposis patients. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89, n. 10, p. 4452-4456, 15 maio 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.89.10.4452>. Acesso em: 7 abr. 2025.

MORK, Maureen E. *et al.* High prevalence of hereditary cancer syndromes in adolescents and young adults with colorectal cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 33, n. 31, p. 3544-3549, 1 nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1200/jco.2015.61.4503>. Acesso em: 7 abr. 2025.

MUTYH mutY DNA glycosylase [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4595>. Acesso em: 19 maio 2025.

NEJADTAGHI, Mahdiah *et al.* Familial Colorectal Cancer Type X (FCCTX) and the correlation with various genes—A systematic review. **Current Problems in Cancer**, v. 41, n. 6, p. 388-397, nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.currproblcancer.2017.10.002>. Acesso em: 7 abr. 2025.

NESS, Reid M. *et al.* NCCN guidelines® insights: colorectal cancer screening, version 1.2024. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 22, n. 7, p. 438-446, set. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.6004/jnccn.2024.0047>. Acesso em: 7 abr. 2025.

NEWTON, Kf *et al.* Genotype-phenotype correlation in colorectal polyposis. **Clinical Genetics**, v. 81, n. 6, p. 521-531, 25 jul. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01740.x>. Acesso em: 19 maio 2025.

NIEMINEN, Taina T. *et al.* Germline mutation of RPS20, encoding a ribosomal protein, causes predisposition to hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma without DNA mismatch repair deficiency. **Gastroenterology**, v. 147, n. 3, p. 595-598.e5, set. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.06.009>. Acesso em: 7 abr. 2025.

NIEUWENHUIS, M. H.; VASEN, H. F. A. Correlations between mutation site in APC and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): a review of the literature. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 61, n. 2, p. 153-161, fev. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.07.004>. Acesso em: 7 abr. 2025.

NURMI, Anna K. *et al.* NTHL1 is a recessive cancer susceptibility gene. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 30 nov. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47441-w>. Acesso em: 7 abr. 2025.

PAPP, Janos *et al.* High prevalence of germline STK11 mutations in Hungarian Peutz-Jeghers Syndrome patients. **BMC Medical Genetics**, v. 11, n. 1, 30 nov. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2350-11-169>. Acesso em: 7 abr. 2025.

PATEL, R. *et al.* MUTYH -associated polyposis – colorectal phenotype and management. **Colorectal Disease**, v. 22, n. 10, p. 1271-1278, 18 maio 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/codi.15078>. Acesso em: 19 maio 2025.

PELTOMÄKI, Päivi. Lynch syndrome genes. **Familial Cancer**, v. 4, n. 3, p. 227-232, set. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10689-004-7993-0>. Acesso em: 7 abr. 2025.

POULSEN, M.; BISGAARD, M. MUTYH associated polyposis (MAP). **Current Genomics**, v. 9, n. 6, p. 420-435, 1 set. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/138920208785699562>. Acesso em: 7 abr. 2025.

PROVENZALE, Dawn *et al.* NCCN guidelines insights: colorectal cancer screening, version 2.2020. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 18, n. 10, p. 1312-1320, out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.6004/jnccn.2020.0048>. Acesso em: 7 abr. 2025.

RICHARDS, Sue *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the american college of medical genetics and genomics and the association for molecular pathology. **Genetics in Medicine**, v. 17, n. 5, p. 405-423, 5 mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>. Acesso em: 19 maio 2025.

RODRÍGUEZ-ALCALDE, Daniel *et al.* High incidence of advanced colorectal neoplasia during endoscopic surveillance in serrated polyposis syndrome. **Endoscopy**, v. 51, n. 02, p. 142-151, 1 ago. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/a-0656-5557>. Acesso em: 7 abr. 2025.

ROSTY, Christophe *et al.* Serrated polyps of the large intestine: current understanding of diagnosis, pathogenesis, and clinical management. **Journal of Gastroenterology**, v. 48, n. 3, p. 287-302, 4 dez. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00535-012-0720-y>. Acesso em: 7 abr. 2025.

SAMBROOK, Joseph; FRITSCH, Edward F.; MANIATIS, Tom. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2. ed. Cold Spring Harbor, N.Y: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989. 3 p. ISBN 0879693096.

SANDHU, Ajay Pal Singh *et al.* Decoding cancer risk: understanding gene-environment interactions in cancer development. **Cureus**, 19 jul. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.7759/cureus.64936>. Acesso em: 7 abr. 2025.

SAWICKI, Tomasz *et al.* A review of colorectal cancer in terms of epidemiology, risk factors, development, symptoms and diagnosis. **Cancers**, v. 13, n. 9, p. 2025, 22 abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cancers13092025>. Acesso em: 7 abr. 2025.

SEPPÄLÄ, Toni T.; BURKHART, Richard A.; KATONA, Bryson W. Hereditary colorectal, gastric, and pancreatic cancer: comprehensive review. **BJS Open**, v. 7, n. 3, 5 maio 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bjsopen/zrad023>. Acesso em: 7 abr. 2025.

SHATTUCK-EIDENS, Donna. A collaborative survey of 80 mutations in the BRCA1 breast and ovarian cancer susceptibility gene. **JAMA**, v. 273, n. 7, p. 535, 15 fev. 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.1995.03520310033026>. Acesso em: 7 abr. 2025.

SHUSSMAN, N.; WEXNER, S. D. Colorectal polyps and polyposis syndromes. **Gastroenterology Report**, v. 2, n. 1, p. 1-15, 23 jan. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/gastro/got041>. Acesso em: 7 abr. 2025.

SMAD4 SMAD family member 4 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4089>. Acesso em: 19 maio 2025.

STECKLEIN, S. R. *et al.* BRCA1 and HSP90 cooperate in homologous and non-homologous DNA double-strand-break repair and G2/M checkpoint activation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 34, p. 13650-13655, 6 ago. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1203326109>. Acesso em: 7 abr. 2025.

STEFANSSON, Olafur Andri; ESTELLER, Manel. BRCA1 as a tumor suppressor linked to the regulation of epigenetic states: keeping oncomiRs under control. **Breast Cancer Research**, v. 14, n. 2, 16 mar. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/bcr3119>. Acesso em: 7 abr. 2025.

TAN, Min-Han *et al.* Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. **Clinical Cancer Research**, v. 18, n. 2, p. 400-407, 15 jan. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-11-2283>. Acesso em: 7 abr. 2025.

TISCHKOWITZ, Marc *et al.* Cancer Surveillance Guideline for individuals with PTEN hamartoma tumour syndrome. **European Journal of Human Genetics**, v. 28, n. 10, p. 1387-1393, 12 jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41431-020-0651-7>. Acesso em: 7 abr. 2025.

TURNBULL, Clare; HODGSON, Shirley. Genetic predisposition to cancer. **Clinical Medicine**, v. 5, n. 5, p. 491-498, 1 set. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.5-5-491>. Acesso em: 7 abr. 2025.

UNIPROT. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P25054/entry#sequences>. Acesso em: 16 maio 2025.

UNIPROT. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P38398/entry#sequences>. Acesso em: 16 maio 2025.

UNIPROT. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q13485/entry#sequences>. Acesso em: 16 maio 2025.

UNIPROT. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9UIF7/entry#sequences>. Acesso em: 16 maio 2025.

UNIYAL, Meena Jhanwar. Em BRCA1 em in cancer cell cycle and genomic stability. **Frontiers in Bioscience**, v. 8, n. 6, p. s1107-1117, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.2741/1131>. Acesso em: 7 abr. 2025.

VALLE, Laura *et al.* Update on genetic predisposition to colorectal cancer and polyposis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 69, p. 10-26, out. 2019a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.03.001>. Acesso em: 7 abr. 2025.

VALLE, Laura. Lynch syndrome: a single hereditary cancer syndrome or multiple syndromes defined by different mismatch repair genes? **Gastroenterology**, maio 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2023.04.027>. Acesso em: 19 maio 2025.

VALLE, Laura. Recent discoveries in the genetics of familial colorectal cancer and polyposis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 15, n. 6, p. 809-819, jun. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.09.148>. Acesso em: 7 abr. 2025.

VAN LEERDAM, Monique E. *et al.* Endoscopic management of polyposis syndromes: european society of gastrointestinal endoscopy (ESGE) guideline. **Endoscopy**, v. 51, n. 09, p. 877-895, 23 jul. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/a-0965-0605>. Acesso em: 7 abr. 2025.

VASEN, Hans F. A.; TOMLINSON, Ian; CASTELLS, Antoni. Clinical management of hereditary colorectal cancer syndromes. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 12, n. 2, p. 88-97, 13 jan. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.229>. Acesso em: 7 abr. 2025.

WALLER, Alexia; FINDEIS, Sarah; LEE, Michael. Familial adenomatous polyposis. **Journal of Pediatric Genetics**, v. 05, n. 02, p. 078-083, 15 mar. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0036-1579760>. Acesso em: 7 abr. 2025.

WEBPATHOLOGY. Hamartomatous polyp - Large bowel. WebPathology, s.l., s.d. Disponível em: <https://www.webpathology.com/images/gastrointestinal/large-bowel/hamartomatous-polyps/42509>. Acesso em 7 abr. 2025

WEREN, Robbert D. A. *et al.* A germline homozygous mutation in the base-excision repair gene NTHL1 causes adenomatous polyposis and colorectal cancer. **Nature Genetics**, v. 47, n. 6, p. 668-671, 4 maio 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng.3287>. Acesso em: 7 abr. 2025.

WEREN, Robbert D.A. *et al.* NTHL1 and MUTYH polyposis syndromes: two sides of the same coin? **The Journal of Pathology**, v. 244, n. 2, p. 135-142, 14 dez. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/path.5002>. Acesso em: 7 abr. 2025.

WEREN, Robbert Da *et al.* NTHL1 and MUTYH polyposis syndromes: two sides of the same coin? **The Journal of Pathology**, v. 244, n. 2, p. 135-142, 14 dez. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/path.5002>. Acesso em: 7 abr. 2025.

WHAT IS cancer? 11 out. 2021. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. Acesso em: 7 abr. 2025.

WHAT IS cancer? Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. Acesso em: 19 maio 2025.

WHITELAW, S. C. *et al.* Clinical and molecular features of the hereditary mixed polyposis syndrome. **Gastroenterology**, v. 112, n. 2, p. 327-334, fev. 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/gast.1997.v112.pm9024286>. Acesso em: 7 abr. 2025.

WIMMER, Katharina *et al.* Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'Care for CMMRD' (C4CMMRD). **Journal of Medical Genetics**, v. 51, n. 6, p. 355-365, 15 abr. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2014-102284>. Acesso em: 7 abr. 2025.

ZHANG, Junran; POWELL, Simon N. The role of the BRCA1 tumor suppressor in DNA double-strand break repair. **Molecular Cancer Research**, v. 3, n. 10, p. 531-539, out. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-05-0192>. Acesso em: 7 abr. 2025.