

Associação de polimorfismos localizados em regiões regulatórias do splicing dos genes *ADCY3* e *CREB1* com o prognóstico do melanoma cutâneo

Área: Genética

Autores: Janet Keller Silva, Caroline Torricelli, Cristiane de Oliveira, Gabriela Vilas Bôas Gomez, Wesley de Lima Oliveira, José Augusto Rinck-Junior, Carmen Silvia Passos Lima, Gustavo Jacob Lourenço

Resumo:

Introdução: O melanoma cutâneo (MC) tem origem nos melanócitos, que são células produtoras da melanina, cuja função é proteger as camadas mais profundas da pele contra os efeitos ocasionados pelos raios ultravioletas do sol. O MC corresponde cerca de 5% das neoplasias de pele, entretanto, ele é apontado como a mais grave, devido ao seu alto potencial metastático e refratariedade à terapêutica medicamentosa. Pacientes com lesões de pele superficiais diagnosticadas precocemente, são, em geral, curados da doença, sendo que cerca de 95% daqueles com lesões minimamente invasivas sobrevivem por dez anos ou mais. Em contraste, se o diagnóstico é tardio, a sobrevida dos pacientes diminui para 10% em casos com metástases extra-cutâneas em cinco anos. A proliferação dos melanócitos é controlada por proteínas da via da melanogênese: a enzima adenilato ciclase 3 (*ADCY3*) ativa a proteína quinase A (PKA) que fosforila a proteína responsiva ao AMP cíclico (*CREB1*). A *CREB1* é considerada um fator de transcrição do gene *MITF*, relacionado com o controle da proliferação dos melanócitos. Os polimorfismos gênicos de base única (SNPs) *ADCY3* c.675+9196T>G (rs11900505) e *CREB1* c.303+373G>A

(rs10932201), localizados em regiões regulatórias do processamento do RNA mensageiro dos respectivos genes, parecem alterar o mecanismo de *splicing*. Recentemente, observamos que os referidos SNPs podem alterar o risco de ocorrência do MC, entretanto, não há estudos que determinem seus papéis na sobrevida dos pacientes com MC. **Objetivos:** Verificar a influência dos distintos genótipos dos SNPs *ADCY3* c.675+9196T>G e *CREB1* c.303+373G>A na sobrevida livre de recidiva (SLR) e na sobrevida específica de melanoma (SEM) em pacientes com a doença. **Material e métodos:** Foram avaliados 239 pacientes com MC (124 homens, 115 mulheres, 214 brancos, 24 não brancos, idade mediana: 55 anos, variação: 19-89 anos) atendidos nos ambulatórios de Oncologia Clínica e de Dermatologia do Hospital de Clínicas da Unicamp, no período de abril de 2000 a abril de 2015. As características clínicas foram obtidas por meio de questionários específicos e as características do tumor por meio dos prontuários de cada paciente. Os pacientes foram submetidos ao tratamento cirúrgico para remoção da lesão e a tratamentos complementares com quimioterapia (n= 23) e/ou radioterapia (n= 13). A identificação dos genótipos dos SNPs *ADCY3* c.675+9196T>G e *CREB1* c.303+373G>A foi realizada pela análise do DNA genômico dos leucócitos do sangue periférico de todos os pacientes por meio da PCR em tempo real, com ensaios TaqMan[®]. A SLR foi calculada a partir da data do diagnóstico até a data da primeira progressão ou recidiva ou óbito determinado pela doença ou perda de segmento. A SEM foi calculada a partir da data do diagnóstico até a data do óbito determinado pela doença ou perda de segmento. Os tempos de SLR e SEM foram estimados por meio das curvas de Kaplan-Meier (KM) e a comparação entre as curvas foi realizada por meio do teste de log-rank. O fator prognóstico de cada

variável foi avaliado por meio das análises univariada e multivariada de Cox. Os resultados obtidos foram validados internamente por meio do método de reamostragem *bootstrap*, utilizando 1.000 replicações. Fatores com valores de $P \leq 0,05$ foram considerados significativos. **Resultados:** O tempo mediano de seguimento dos pacientes com MC foi de 85 meses (variação: 3-205 meses). No momento da última análise, em outubro de 2017, 165 pacientes estavam vivos sem doença, 10 estavam vivos com a doença, 50 estavam mortos devido a causas relacionadas à doença e 14 devido a outras causas. Aos 60 meses de seguimento, a SLR foi menor em pacientes com índice de Breslow maior do que 1,5 mm (50,9% vs. 89,8%; $P < 0,0001$), níveis de Clark III, IV ou V (72,8% vs. 90,0%; $P < 0,0001$), estágio clínico III ou IV (24,7% vs. 81,4%, $P < 0,0001$) e com o genótipo homozigoto selvagem TT do gene *ADCY3* associado ao genótipo homozigoto variante AA do gene *CREB1* (56,3% vs. 72,9%, $P = 0,04$), por meio da estimativa de KM e isso se manteve na análise univariada de Cox. Os pacientes com os genótipos combinados *ADCY3* TT e *CREB1* AA apresentaram risco cerca quatro vezes maior de apresentar recidiva da doença do que os outros pacientes (IC 95%: 1,88-10,20; $P = 0,001$; $P_{bootstrap} = 0,005$; análise multivariada de Cox). Aos 60 meses de seguimento, a SEM foi menor em pacientes com índice de Breslow maior do que 1,5 mm (73,3% vs. 99,1%; $P < 0,0001$), níveis de Clark III, IV ou V (80,0% vs. 95,3%; $P < 0,0001$), estágio clínico III ou IV (53,3% vs. 93,5%, $P < 0,0001$) e com o genótipo homozigoto selvagem TT do gene *ADCY3* (79,6% vs. 85,8%, $P = 0,05$), por meio da estimativa de KM e isso se manteve na análise univariada de Cox. Os pacientes com o genótipo *ADCY3* TT apresentaram risco cerca de duas vezes maior de evoluir para o óbito devido à doença do que os demais (IC 95%: 0,99-3,02; $P = 0,05$; análise univariada de Cox). **Conclusões:** Nossos

resultados sugerem que o SNP *ADCY3* c.675+9196T>G, isolado ou associado ao SNP *CREB1* c.303+373G>A constitui um importante fator prognóstico para o MC. Entretanto, estudos adicionais com pacientes de diversas regiões do mundo devem ser realizados para confirmar nossos resultados e assim, identificar pacientes que mereçam receber terapêutica mais agressiva do que os demais. **Apoio financeiro:** FAPESP e CNPq.