

Estudo da casuística, rastreio e seguimento das famílias com polipose associada ao gene *MYH* (PAM) seguidas na consulta de Tumores Hereditários dos Hospitais da Universidade de Coimbra.

Resumo

Introdução: Uma nova síndrome de polipose adenomatosa colo-rectal foi associada a mutações do gene *MYH*, implicado na reparação do ADN por excisão de bases. Mutações bialélicas no gene *MYH* condicionam um distúrbio de transmissão autossómica recessiva cujo fenótipo é de polipose colo-rectal atenuada ou clássica semelhante ao da Polipose Adenomatosa Familiar que pode evoluir para cancro colo-rectal. O objectivo do estudo consiste na análise dos doentes com polipose associada ao gene *MYH* seguidos em Consulta de Tumores Hereditários dos Hospitais da Universidade de Coimbra para determinar a frequência de cancro colo-rectal nestes doentes, avaliar o risco de degenerescência associado às mutações Y165C e G382D e contribuir para a definição de critérios que permitam identificar nos doentes com cancro colo-rectal os portadores de mutações do gene *MYH*.

Métodos: Os dados clínicos, endoscópicos e cirúrgicos dos 22 doentes seguidos em Consulta de Tumores Hereditários por polipose associada ao gene *MYH* foram obtidos pela consulta dos respectivos processos clínicos.

Resultados: A idade média dos probandos (10 mulheres e 12 homens) no momento do diagnóstico da polipose associada ao gene *MYH* era de 48,1 anos (limites, 25-72). A maioria dos indivíduos com mutações bialélicas apresentava polipose atenuada (81%). Quinze pacientes (71,4%) tinham cancro colo-rectal (idade média, 51,6; limites, 34-72 anos). Entre os 22 pacientes, 17 eram homozigotos ou heterozigotos compostos para as mutações *missense*

Y165C e G382D. Conclui-se que a mutação G382D tem maior risco de degenerescência que a Y165C ($p = 0,036$; OR = 11,000 e IC95%:1,103-109,674).

A percentagem de doentes com estas mutações alélicas era de 82%. Só um doente apresentava pólipos duodenais. Sete das 14 famílias geneticamente estudadas apresentaram um padrão de transmissão hereditária vertical. Catorze dos 15 doentes com cancro colo-rectal foram sujeitos a ressecção cirúrgica: 10 a colectomia total, 3 proctocolectomia reconstrutiva e um a hemicolectomia esquerda. Três foram submetidos a ressecção profiláctica.

Conclusão: Neste estudo confirmou-se que os portadores bialélicos apresentam um risco de cancro colo-rectal aumentado. A polipose associada ao *MYH* constitui uma predisposição hereditária frequente com uma componente dominante considerável. Os portadores da mutação devem ser sujeitos a uma vigilância a começar no momento do diagnóstico, incluindo endoscopia digestiva alta e colonoscopia. O seguimento a prestar aos familiares deve ser semelhante ao das outras síndromes recessivas, embora se admita que portadores monoalélicos tenham risco aumentado para cancro colo-rectal.

Abstract

Introduction: A new colorectal adenomatous polyposis syndrome was described in association with mutations in the excision repair gene *MYH*. Biallelic mutations in *MYH* cause an autosomal recessively inherited disorder that can be a phenocopy of familial adenomatous polyposis, with both classical and attenuated polyposis, along with FAP-like extra-colonic manifestations, or just colorectal cancer. The aim of this study was to investigate patients with *MYH*-associated polyposis (MAP) followed by the Hereditary Tumors Group of Coimbra University Hospital in order to examine the frequency of colorectal cancer in this syndrome, the risk of degeneration with specific germline *MYH* mutations and contribute to devising a set of clinical criteria to identify *MYH* carriers among newly diagnosed CRC.

Methods: Clinical, endoscopic and surgical data were collected from the medical notes of the 22 patients followed in the Coimbra University Hospital by *MYH*-associated polyposis.

Results: The mean age of patients (10 women and 12 men) at the time of diagnosis of MAP was 48.1 years (range, 25-72 years). Most individuals with biallelic *MYH* mutation exhibit attenuated polyposis (81%). Fifteen patients (71.4%) had colorectal cancer (mean age, 51.6; range, 34-72 years). Among the 22 patients, 17 were either homozygous or compound heterozygotes for the missense changes Y165C and G382D. The percentage of these mutated alleles among *MYH* polyposis patients was 82%. The degeneration risk is higher in patients with G382D mutation than in patients with Y165C mutation ($p = 0.036$; OR = 11.000 e IC95%:1.103-109.674). Duodenal adenomas were diagnosed in one case. Seven of the fourteen families genetically tested showed evidence for vertical transmission. Fourteen of 15 patients with CCR had surgical resections: ten total colectomies, 3 reconstructive proctocolectomies (RP) and one left hemicolectomy. Three patients underwent prophylactic resection (RP).

Conclusion: This study confirmed that biallelic germline *MYH* gene mutation carriers have an increased risk of colorectal cancer. MAP is a frequent inherited colorectal cancer predisposition with a strong dominance component. *MYH* mutation carriers should be proposed an early screening program, starting at the time of diagnosis, which includes endoscopies of the upper digestive tract and the colorectum. Relatives of MAP patients should be counseled as for any other recessive condition, although it remains possible that carriers of a single mutation are at modestly increased risk of colorectal cancer.

Palavras-chave: *MYH*, polipose adenomatosa associada ao gene *MYH* (PAM), cancro colorectal (CCR), polipose adenomatosa atenuada.

Introdução

Em Portugal o carcinoma colo-rectal (CCR) é a neoplasia mais incidente e prevalente no sexo masculino, e a segunda no sexo feminino (Pinheiro *et al.*, 2003). Os factores genéticos e hereditários desempenham um papel importante na carcinogénese do CCR, já que em aproximadamente 20 a 25% dos indivíduos afectados é encontrada uma história familiar sugestiva (Johns *et al.*, 2001). Contudo, só em 3-5% dos casos são encontradas condições genéticas conhecidas que predisõem a CCR familiar (Balaguer *et al.*, 2007; Johnson *et al.*, 2005).

As duas síndromes hereditárias de CCR mais bem estudadas, a Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) e o Cancro Colo-rectal Hereditário Não-Polipóico, são desordens de natureza autossómica dominante e responsáveis por aproximadamente 2% e 0.1-1% dos casos de CCR, respectivamente (Wang *et al.*, 2004). Em 2002 Al Tassan e colaboradores descreveram uma síndrome de polipose adenomatosa colo-rectal em três irmãos afectados por CCR, em que o padrão de transmissão mendeliana era recessivo e que revelou estar associada a mutações no gene *MutY human homologue* (*MYH* ou *MutYH*).

Os tumores associados a mutações do gene *MYH*, localizado no braço curto do cromossoma 1 (1p32.1-34.3) (Slupska *et al.*, 1996), seguem uma via genética distinta de reparação do ADN (Lipton *et al.*, 2003). O gene *MYH* codifica uma proteína da via de reparação do ADN por excisão de bases, que é formada por 3 enzimas (*MYH*, *OGG1* e *MTH1*) que contribuem para a protecção das células contra espécies reactivas de oxigénio, produzidas durante o metabolismo aeróbio e com potencial mutagénico (Croitoru *et al.*, 2004). A *MYH* é uma glicosilase que remove bases de adenina incorrectamente emparelhadas com a 8-hidroxiguanina durante o processo de replicação celular (Balaguer *et al.*, 2007).

Quando esta enzima está mutada ocorrem transversões G:C→T:A nos genes alvo, incluindo os genes *APC* e *K-ras* (Al Tassan *et al.*, 2002 e Lipton *et al.*, 2003), codificando uma proteína não funcional e truncada.

O diagnóstico diferencial das síndromes de polipose colo-rectal, polipose associada ao gene *MYH* (PAM) e PAF, constitui um desafio para os médicos por serem condições raras e com fenótipos semelhantes. Apesar de na PAM a idade de diagnóstico ser mais tardia e a história familiar de polipose ser menos evidente, os testes genéticos são necessários para as distinguir. O rastreio genético para mutações do gene *MYH* revela-se positivo em 30-40% dos indivíduos com polipose atenuada (menos de 100 pólipos) (O'Shea *et al.*, 2008), enquanto só em 5-15% dos casos estão presentes mutações do gene *APC* (Bouguen *et al.*, 2007; Lefevre *et al.*, 2009). Todavia, mutações bialélicas *MYH* são encontradas em 30-40% dos doentes com polipose típica (100 ou mais pólipos) *APC* negativa (Sieber *et al.*, 2003). As mutações *missense* Y165C e G382D foram referidas por vários autores como as mais frequentes em portadores com ancestrais europeus (Jass *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2005; Sieber *et al.*, 2003; Balaguer *et al.*, 2007). É relevante determinar a sua frequência na amostra em estudo, bem como de outras variantes já descritas por autores portugueses (Isidro *et al.*, 2004; Leite *et al.*, 2005 e Mão de Ferro *et al.*, 2006). O risco de CCR está aumentado em portadores de mutações do gene *MYH*. Por esta razão, é objectivo principal deste estudo determinar a sua frequência nos doentes registados na Consulta de Tumores Hereditários dos Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC), bem como verificar se há maior risco de degenerescência associado a determinado genótipo. Pretende-se também analisar o tipo de transmissão familiar, a presença de manifestações extra-cólicas e orientações terapêuticas (endoscópicas ou cirúrgicas).

Amostra e Métodos

Foram seleccionados todos os doentes portadores de mutações germinativas do gene *MYH*, monoalélicos ou bialélicos, registados e seguidos na Consulta de Tumores Hereditários dos HUC desde 2003 até ao mês de Fevereiro do ano 2010. O rastreio de mutações do gene *MYH* foi efectuado em indivíduos com fenótipo de polipose adenomatosa típica (presença de 100 ou mais pólipos colo-rectais) em que não foram encontradas mutações do gene *APC*, polipose adenomatosa atenuada (doentes com 15 a 99 pólipos) ou carcinoma colo-rectal associado a múltiplos adenomas.

Os dados de cada um dos doentes foram obtidos pela consulta do respectivo processo clínico, mantendo o princípio ético do sigilo médico relativo à identidade de cada probando. Procedeu-se ao registo do sexo de cada um dos probandos, idade na altura do diagnóstico, mutações identificadas nos testes genéticos, apresentação clínica (polipose ou polipose e carcinoma colo-rectal), número de pólipos encontrados na colonoscopia ou peça de excisão operatória, estadiamento TNM, presença de tumores síncronos e de eventuais manifestações extra-cólicas. Estudou-se a história familiar de cada doente para a existência de possíveis familiares afectados (ascendentes, irmãos e descendentes) por polipose colo-rectal e/ou CCR. Foram apontadas as intervenções cirúrgicas ou outro tratamento, nomeadamente endoscópico, a que tenham sido sujeitos e o respectivo seguimento na consulta de Tumores Hereditários.

Foi realizada uma caracterização global da amostra de vinte e dois doentes. Para as variáveis qualitativas foram determinadas frequências absolutas e frequências relativas. A média amostral, o desvio padrão, os quartis, valores mínimos e máximos foram utilizados para caracterizar a Idade de Diagnóstico. Nas diversas comparações realizadas, as caracterizações dos grupos foram feitas utilizando as mesmas estatísticas descritivas. A

comparação das características qualitativas binárias entre dois grupos foi feita pelo teste *Qui-Quadrado* ou pelo teste *Exacto de Fisher*, conforme o mais apropriado. Para determinar a força destas associações foi obtido o valor do *Odds Ratio* e respectivo intervalo de confiança a 95%. Quando se compararam os valores das variáveis quantitativas entre dois grupos, nomeadamente a distribuição dos valores e as suas medianas, foi utilizado o teste de *Mann-Whitney*. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%. O software utilizado foi o SPSS 13.0.

Resultados

Idade no diagnóstico de PAM

Neste estudo incluem-se os 22 pacientes com mutações do gene *MYH* seguidos em Consulta de Tumores Hereditários. Deste grupo, 10 elementos são do sexo feminino (45,5%) e 12 do sexo masculino (54,5%). A idade média dos doentes na altura do diagnóstico clínico de PAM era de 48,1 anos, com idades compreendidas entre os 25 e os 72 anos (mediana, 48,5; desvio padrão $\pm 11,55$). Os dados clínicos e mutações referentes aos probandos em estudo estão apontados na Tabela I.

Análise das mutações MYH e do genótipo

No rastreio genético foram identificadas 9 mutações: Y165C, G382D, E396fsX437, C494A, Y114H, R168H, R231H, C1186 e c.347-1G. As mutações *missense* Y165C e G382D são as mais frequentes em indivíduos de raça branca, estando presentes em 18 doentes (82,2%), dos quais 11 são homocigotos (3 homocigotos G382D e 8 homocigotos Y165C), 6 heterocigotos compostos e um monoalélico para a mutação Y165C. Sendo assim, estas duas mutações perfazem 72,1% dos alelos mutados identificados nos testes genéticos dos doentes estudados.

Mutações germinativas bialélicas foram encontradas em 21 dos 22 probandos. Dos 21 portadores bialélicos de mutações do gene *MYH*, 13 são homocigotos e 8 heterocigotos compostos. A idade média de diagnóstico nestes últimos pacientes era de 49,2 anos (mediana, 49; limites, 33-72 anos). O portador monoalélico, o mais jovem dos 22 probandos, tinha 25 anos na altura em que lhe foi diagnosticada a PAM.

Tabela I: Mutações e dados clínicos dos pacientes com polipose associada ao gene *MYH*.

| Doente | Sexo | Mutação 1 | Mutação 2 | Idade | Diagnóstico | N.º de Pólipos | TNM | T. Sincronos | Tratamento | Manif. Extra-cólicas | História familiar | Seguimento |
|--------|------|------------|--------------|-------|----------------|----------------|------|--------------|--------------|----------------------|-------------------|------------|
| 1 | F | Y165C | E396fsX437 | 50 | Polipose + CCR | 30 | T3N0 | | CT | | Horizontal | |
| 2 | M | G382D | G382D | 51 | Polipose + CCR | 20 | T3N+ | | CT | Pólipos Duodenais | Horizontal | |
| 3 | F | G382D | G382D | 48 | Polipose + CCR | 60 | T3N0 | | HC | | Vertical | |
| 4 | M | Y165C | Y165C | 49 | Polipose + CCR | 80 | T3N0 | | CT | | Index | |
| 5 | M | G382D | G382D | 44 | Polipose + CCR | 50-100 | T1N+ | | PCR | | Vertical | |
| 6 | M | Y165C | c.347-1G | 67 | Polipose + CCR | 30 | T3N0 | | CT | | Horizontal | Falecido |
| 7 | F | Y165C | R168H | 52 | Polipose + CCR | 80 | T3N+ | | CT | | Index | |
| 8 | F | Y165C | Y165C + MLH1 | 40 | Polipose | 70 | | | PCR | | Vertical | |
| 9 | F | Y114H | Y114H | 57 | Polipose + CCR | 50-70 | T3N+ | T3N+ | CT | | Horizontal | |
| 10 | M | Y165C | G382D | 68 | Polipose + CCR | 70 | T3N0 | T1N0 | PCR | | Vertical | |
| 11 | F | E396fsX437 | R231H | 34 | Polipose + CCR | 50-100 | T4N2 | | CT | | Vertical | Falecido |
| 12 | M | Y165C | G382D | 54 | Polipose | 80 | | | CT | | Index | |
| 13 | F | Y165C | Y165C | 51 | Polipose + CCR | 100-200 | T3N0 | T2N0 | CT | | Horizontal | |
| 14 | F | Y165C | Y165C | 48 | Polipose + CCR | 100-200 | T4N0 | | CT | | Horizontal | |
| 15 | F | Y165C | Y165C | 33 | Polipose | 50-100 | | | Polipectomia | | Vertical | |
| 16 | M | E396fsX437 | E396fsX437 | 35 | Polipose + CCR | >100 | T3N0 | | PCR | | Horizontal | Falecido |
| 17 | F | Y165C | C494A | 72 | Polipose + CCR | 15 | T1 | | Polipectomia | | Index | |
| 18 | F | C494A | C1186 | 48 | Polipose + CCR | 50-100 | T1N0 | | CT | | Vertical | |
| 19 | M | Y165C | Y165C | 49 | Polipose | 20-50 | | | Polipectomia | | Index | |
| 20 | M | Y165C | | 25 | Polipose | 20-50 | | | Polipectomia | | Index | |
| 21 | M | Y165C | Y165C | 45 | Polipose | 100-200 | | | PCR | | Index | |
| 22 | M | Y165C | Y165C | 38 | Polipose | 22 | | | Polipectomia | | Index | |

Abreviaturas: F, feminino; M, masculino; CT, colectomia total; PCR proctocolectomia reconstrutiva; HC, hemicolectomia.

Fenótipo

O número de pólipos encontrados nos doentes da amostra é muito variável. Considerando duas apresentações fenotípicas possíveis, polipose adenomatosa clássica (contagem total de 100 ou mais pólipos) ou atenuada (até 100 pólipos colo-rectais), 18 dos 22 doentes (81,8%) apresentavam um fenótipo de polipose adenomatosa atenuada. Apenas 4 (18,2%) desses doentes tinham polipose adenomatosa típica. Nenhum probando apresentava menos de 15 pólipos na altura do diagnóstico. Na amostra em estudo, a idade média de diagnóstico de PAM e/ou CCR nos doentes com menos de 100 pólipos é superior (média, 48,8; mediana, 49; desvio padrão $\pm 12,4$) à apresentada pelos indivíduos com mais de 100 pólipos (média, 44,8; mediana, 46,5; desvio padrão $\pm 6,9$) (Figura 1). No entanto, esta diferença não é estatisticamente significativa ao nível de 5%, $p = 0,484$.

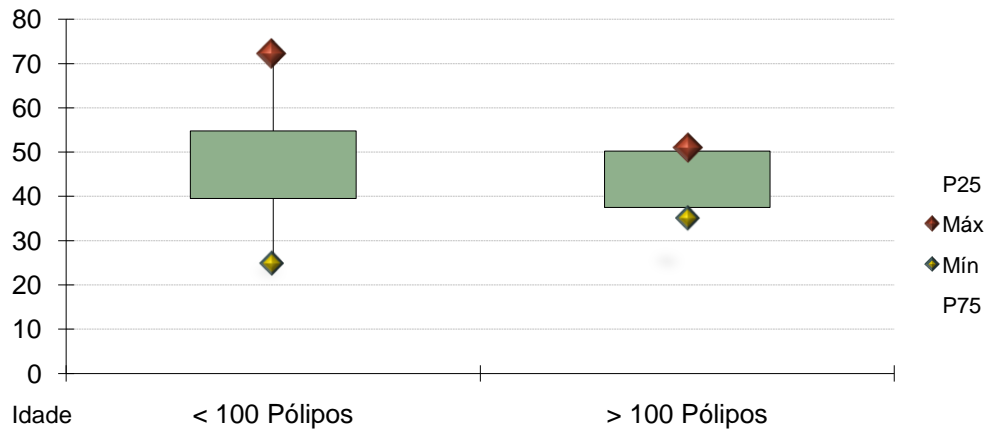


Gráfico 1 - Associação entre o fenótipo (<100 pólipos ou >100 pólipos) e a idade no momento do diagnóstico.

Espectro clínico dos doentes com CCR associado à PAM

Dos 22 doentes com mutações do gene *MYH*, homocigotos ou heterocigotos compostos e heterocigoto, 15 (67,9%) apresentavam degeneração maligna dos pólipos com evolução para carcinoma colo-rectal na altura do diagnóstico da PAM. A idade média nesse grupo era de 51,6 anos (desvio padrão \pm 10,8; limites, 34-72 anos). Recorrendo à classificação TNM para o estadiamento de tumores malignos, dois doentes (9%) apresentavam tumores estadiados em T4, dez (45,4%) T3 e três (13,5%) T1. Desses doentes, 3 associavam um tumor síncrono (doentes identificados com os números 9, 10 e 13 na Tabela I).

No que se refere à associação entre o diagnóstico de CCR e o fenótipo, determinou-se a percentagem de CCR em cada um dos grupos referentes ao número de pólipos. Os doentes com polipose atenuada apresentam uma taxa de CCR de 66,7%, enquanto os que têm mais de 100 pólipos apresentam CCR em 15% dos probandos. Pelo Teste Exacto de Fisher, não se encontra diferença entre os dois grupos de doentes quanto à presença de CCR ($p=1,00$; OR, 1,50; IC 95%, 0,13-16,67).

Com o objectivo de avaliar o risco de degenerescência associado à mutação Y165C e G382D, estudou-se a presença de CCR em probandos bialélicos homocigotos para mutações Y165C e G382D e heterocigotos compostos Y165C/G382D (Gráfico 2). Para isso, foi determinada a percentagem de CCR no grupo de doentes com estas mutações e no grupo com as restantes mutações identificadas nos testes genéticos. No grupo de doentes com o genótipo Y165C/Y165C ou Y165C/G382, a taxa de CCR foi de 40% enquanto nos doentes com os outros genótipos corresponde a 91,7%. Portanto, o risco de degenerescência associado a mutações Y165C é menor do que para as restantes mutações ($p = 0,020$; OR, 0,071; IC 95%, 0,001-0,841). No caso do grupo de probandos com genótipo homocigoto para a mutação G382D ou heterocigoto composto Y165C/G382D, a taxa de cancro colo-rectal neste grupo foi

de 80% e nos doentes com todas as outras mutações de 64,7% (Gráfico 3). Pelo teste de Fisher calculou-se o valor de p que mostrou ser 1,00, pelo que o risco de degenerescência é semelhante nos dois grupos.

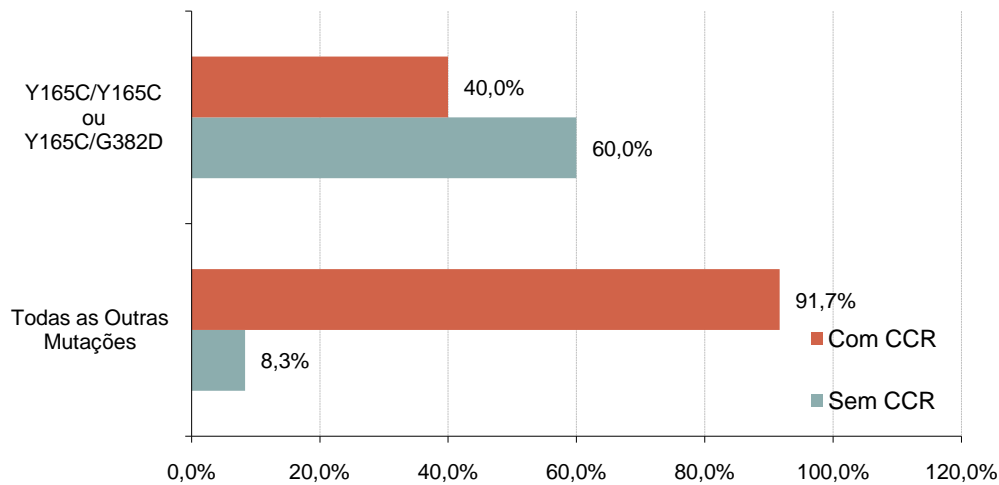


Gráfico 2 – Incidência de CCR em indivíduos homocigotos para a mutação Y165C e de heterocigotos compostos Y165C/G382D e em indivíduos com outras mutações (E396fsX437, C494A, Y114H, R168H, R231H, C1186 e c.347-1G).

Para determinar o risco de degenerescência associado às mutações Y165C e G382D, determinou-se a percentagem de CCR de cada um dos alelos (Gráfico 4). A mutação Y165C está presente em 38,9% dos alelos dos doentes com CCR e a mutação G382D em 87,5%. Parece que a mutação G382D tem maior risco de degenerescência que a Y165C ($p = 0,036$; OR = 11,000 e IC95%:1,103-109,674).

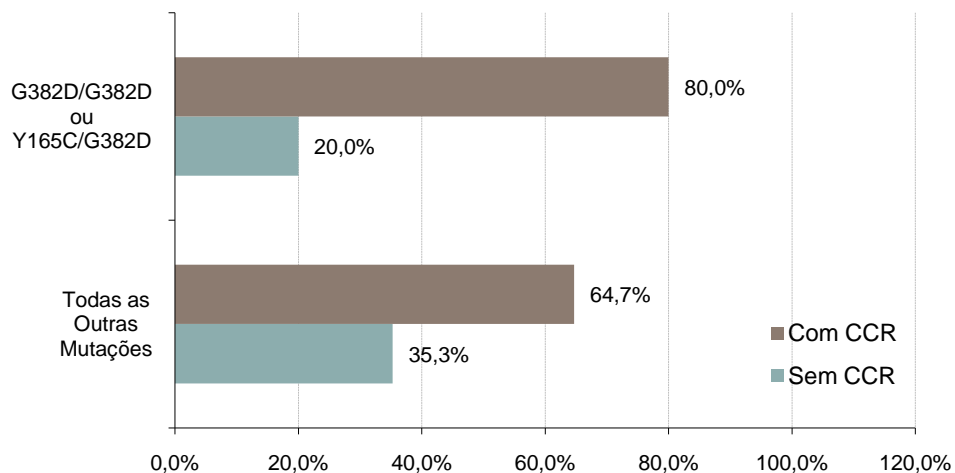


Gráfico 3 - Incidência de CCR em indivíduos homocigotos para a mutação G382D e de heterocigotos compostos Y165C/G382D e em indivíduos com outras mutações (E396fsX437, C494A, Y114H, R168H, R231H, C1186 e c.347-1G).

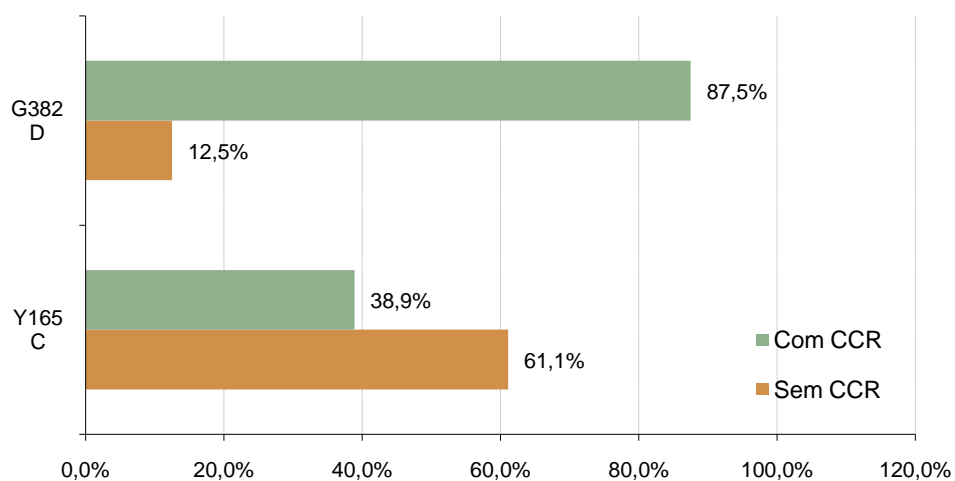


Gráfico 4 - Percentagem de doentes portadores de mutações Y165C e G382D que apresentam CCR.

Opções Terapêuticas

Todos os indivíduos que integram a amostra em estudo foram sujeitos a tratamento. Foram efectuadas 17 intervenções cirúrgicas (77,3%) e 5 doentes foram submetidos a polipectomia (22,7%) no decorrer da vigilância endoscópica. De entre os 15 doentes com o diagnóstico simultâneo de PAM e CCR - 10 foram sujeitos a colectomia total, 3 a proctocolectomia reconstrutiva, um a polipectomia e um a hemicolectomia esquerda. No caso deste último doente (doente 4, Tabela I), durante a vigilância endoscópica pós-hemicolectomia foram encontrados 50 novos pólipos no cólon, tendo-se optado por completar a colectomia total com ressecção do cólon direito. Em três doentes com PAM optou-se pela cirurgia profiláctica, em dois fez-se proctocolectomia reconstrutiva, porque apresentavam pólipos rectais, e no outro, colectomia total. Os quatro indivíduos restantes foram tratados através de polipectomia endoscópica no decurso do seu seguimento até à data de recolha dos dados para o presente estudo. Três doentes (13,6%) faleceram por recorrência tumoral, dois com estadiamento tumoral ao diagnóstico T2N0 e um com tumor T4N2.

História Familiar dos probandos

No que se refere ao estudo da história familiar, é importante considerar que todos os probandos provêm de famílias diferentes e que falta estudar a família de 8 doentes (36,4%). Sendo assim, averiguámos o padrão de transmissão familiar de CCR nas famílias dos restantes 14 elementos desta amostra. Ao contrário do que seria de esperar numa síndrome com um padrão de transmissão autossómico recessivo, sete indivíduos (31,8%) apresentavam uma história familiar de CCR compatível com um padrão de transmissão vertical (mais frequentemente observado em síndromes hereditárias autossómicas dominantes), com cancro cólico em quatro famílias e polipose múltipla em três. Os restantes pacientes apresentavam

uma história familiar com características consistentes com um padrão de transmissão horizontal.

Manifestações Extra-cólicas

Em relação às manifestações extra-cólicas, em apenas um dos doentes foram encontrados pólipos duodenais na endoscopia digestiva alta. Nenhum dos restantes apresentava alguma das alterações descritas (tumores desmóides, cancro da mama, adenomas gástricos ou hipertrofia congénita do epitélio pigmentar da retina) em associação com mutações do gene *MYH*.

Discussão

Fenótipo dos portadores de mutações MYH

A PAM está associada ao desenvolvimento precoce de múltiplos pólipos adenomatosos colo-rectais. O fenótipo é frequentemente sugestivo de polipose adenomatosa atenuada (15-100 pólipos) associada a mutações *APC*, mas, em alguns casos, a polipose pode ser suficientemente profusa para simular a PAF clássica (Lindor, 2009). O motivo para estas discrepâncias é desconhecido, mas pode estar dependente do genótipo. Cerca de 81,8% dos doentes (monoalélicos ou bialélicos) seguidos na consulta de Tumores Hereditários dos HUC apresentavam um fenótipo de polipose atenuada, só 18,2% tinham mais de 100 pólipos na altura do diagnóstico clínico. Sendo assim, o fenótipo da amostra está em concordância com o que está descrito na literatura, ou seja, a maioria dos portadores bialélicos insere-se no grupo de doentes com 15-100 pólipos colo-rectais (Bouguen *et al.*, 2007; Enholm *et al.*, 2003; Sampson *et al.*, 2003; Sieber *et al.*, 2003). Cerca de 5-7,5% dos doentes com PAM apresentam um fenótipo de polipose típica (Nielsen *et al.*, 2005; Sieber *et al.*, 2003). Contudo, há um estudo publicado por Farrington *et al.* (2005) em que num terço dos portadores bialélicos de mutações *MYH* foi feito o diagnóstico de carcinoma do cólon na ausência de polipose colo-rectal. Dados semelhantes foram obtidos por outros autores o que mostra que a presença de polipose adenomatosa múltipla não pode ser usada como critério único para pesquisa de mutações do gene *MYH* em doentes com CCR (Avezzi *et al.*, 2008; Croitoru *et al.*, 2004; Webb *et al.*, 2006).

No estudo desenvolvido por Sieber *et al.* (2003), os doentes com mais de 100 pólipos apresentavam a idade média de diagnóstico de 48 anos (limites, 30-70), enquanto nos doentes com um número de formações polipóides inferior a 100 a idade média era de 56 anos (limites,

45-59 anos). A idade de diagnóstico na PAM é em média 10 anos mais tardia do que a apresentada pelos doentes com PAF (Gismondi *et al.*, 2004). A média de idade dos doentes bialélicos em estudo (média, 49,2; limites, 25-72) é semelhante à apresentada por outras amostras (Enholm *et al.*, 2003; Joel *et al.*, 2005; Kanter-Smoler *et al.*, 2006; Nielsen *et al.*, 2005; Sampson *et al.*, 2003). Na amostra em análise, os doentes com mais de 100 pólipos tinham a idade média de 44,8 anos e naqueles com fenótipo de polipose atenuada era de 48,8 anos, o que permite concluir que estes resultados estão de acordo com os descritos na literatura (Sieber *et al.*, 2003). Posto isto, pode-se assumir que o grupo de doentes em que a probabilidade dos testes genéticos serem positivos é maior corresponde ao dos indivíduos com polipose adenomatosa atenuada negativa para mutações do gene *APC* (Sampson *et al.*, 2003; Sieber *et al.*, 2003).

Espectro de mutações MYH

As mutações *missense* Y165C e G382D parecem ser as duas mais frequentes nos portadores com ascendência europeia (Jones *et al.*, 2002; Farrington *et al.*, 2005; Bouguen *et al.*, 2007). No caso da amostra em estudo, 82% dos probandos eram portadores das variantes Y165C e/ou G382D. Na população estudada por Bouguen *et al.* (2007), a frequência destas mutações foi de 71,4%. Outros estudos referem a presença das mutações Y165C e G382D em 80% dos doentes com PAM (Al Tassan *et al.*, 2002; Lipton e Tomlinson, 2004; Sieber *et al.*, 2003). Para além destas mutações *missense*, foram encontradas outras 7 variantes, nomeadamente as descritas pela primeira vez por Isidro *et al.* (2004). Nesta perspectiva, quando se proceder ao estudo molecular, todo o gene deve ser sequenciado.

Num estudo desenvolvido por Croitoru *et al.* (2004), o risco de CCR mostrou-se mais elevado em doentes portadores de mutações Y165C do que nos portadores G382D. Também

Balaguer *et al.* (2007) encontrou evidências que suportam esta hipótese. No presente estudo a mutação G382D parece ter maior risco de degenerescência para cancro colo-rectal do que a mutação Y165C. No entanto, é preciso ter em conta que o estudo pode estar enviesado pela pequena dimensão da amostra.

Risco de cancro colo-rectal em portadores bialélicos

Desde a descrição da PAM que vários estudos têm sido realizados com o objectivo de determinar o risco de CCR em doentes com polipose adenomatosa múltipla associada a mutações do gene *MYH*. Estima-se que alterações bialélicas no gene *MYH* conduzem a um aumento de 50 vezes o risco de CCR em relação ao da população em geral, e que o risco cumulativo aos 70 anos existe em 80% dos indivíduos com mutações bialélicas (Jenkins *et al.*, 2006). No entanto, outros autores estimam que esse risco é mais elevado (90-93 vezes), com penetrância quase completa aos 60 anos (Farrington *et al.*, 2005; Tenesa *et al.*, 2006).

Aproximadamente 40-50% dos doentes com mutações bialélicas *MYH* apresentam CCR na altura do diagnóstico, com idade média de diagnóstico a variar entre os 43 e 58 anos (Sampson *et al.*, 2003; Sieber *et al.*, 2003; Gismondi *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2004). No caso da amostra em estudo, 71,4% dos doentes apresentavam CCR quando foi feito o diagnóstico de PAM e tinham a idade média de 51.6 anos (limites, 34 e 72). Kanter-Smoler *et al.* (2006) obtiveram resultados semelhantes numa amostra composta por doentes suecos bem como, Lefevre *et al.* (2006) num grupo de portadores franceses.

Risco de CCR em portadores monoalélicos

Croitoru *et al.* (2004) foram os primeiros a publicar um estudo em que são descritas evidências indirectas, ainda que modestas, do aumento do risco de CCR em portadores de mutações monoalélicas do gene *MYH*. A partir daí outros estudos obtiveram resultados semelhantes, corroborando esta hipótese e sugerindo que o gene *MYH* tem uma componente dominante adicional e significativa (Olschwang *et al.*, 2007; Webb *et al.*, 2006;). Jenkins *et al.* (2006) fizeram um estudo de base populacional em que os portadores monoalélicos apresentavam um risco de CCR 3 vezes superior ao da população em geral. Na amostra estudada por Balaguer *et al.* (2007), todos os portadores monoalélicos apresentavam CCR quando lhe diagnosticaram PAM. Farrington *et al.* (2005) sugerem que o risco de CCR nos portadores monoalélicos só é diferente do da população em geral para grupos etários com mais 55 anos. Todavia, Jenkins *et al.* (2006) refutam essa hipótese porque não encontraram diferença significativa entre o risco de CCR neste grupo com o existente em portadores com menos ou mais de 55 anos. Por se tratar de uma situação descrita recentemente, nenhum estudo usou uma amostra constituída por portadores monoalélicos em número estatisticamente significativo para confirmar a veracidade dessa associação (Tenesa *et al.*, 2006).

História Familiar de doentes com PAM

Atendendo que a probabilidade de um doente ter familiares afectados é diferente consoante seja portador do gene *APC* mutado ou de mutações do gene *MYH*, é importante procurar na história familiar de cada doente características que possam distinguir os portadores de mutações *MYH* dos portadores de mutações *APC*. Tratando-se de uma síndrome autossómica recessiva, o padrão da transmissão familiar da doença deverá ser horizontal

(Gammom *et al.*, 2007). Nielsen *et al.* (2005) verificaram que a maioria dos doentes com PAM apresentava uma história familiar compatível com hereditariedade recessiva ou correspondiam a casos esporádicos. No entanto, Jo *et al.* (2005) constataram que 66,7% dos doentes da sua amostra apresentavam história familiar de CCR ou polipose de transmissão vertical, enquanto em apenas 11,1% das famílias eram encontradas características de transmissão horizontal. Vários dos portadores monoalélicos estudados por Sieber *et al.* (2003) apresentavam história familiar de CCR sugestiva de hereditariedade dominante. No caso da amostra em estudo, metade das famílias com estudo genético ($n=14$) apresentava características de transmissão vertical da mutação ($n=7$). Esta observação poderá estar relacionada com o grau de penetrância do alelo mutado nos portadores monoalélicos, que se traduz clinicamente por múltiplos pólipos e/ou CCR (Wang *et al.*, 2004).

Manifestações extra-intestinais na PAM

As manifestações extra-intestinais são mais raras nos portadores de mutações *MYH* do que em portadores do gene *APC* mutado. Vogt *et al.* (2009) constataram, a partir de um estudo europeu multicêntrico, que o risco de portadores do gene *MYH* mutado desenvolverem neoplasias extra-cólicas é de 38%, o dobro da população em geral. Os pólipos duodenais ocorrem em 20-25% dos portadores bialélicos (Sampson *et al.*, 2003; Sieber *et al.*, 2003) contudo, o risco de degeneração maligna é de apenas 4% (Vogt *et al.*, 2009). Os pólipos gástricos, que são frequentes na PAF, estão presentes em cerca de 11% dos portadores bialélicos. A hipertrofia do epitélio pigmentar da retina e os tumores desmóides são achados raros. Contrariamente, assiste-se ao aumento do número de casos descritos de tumores da bexiga, pele, ovário, endométrio e mama (Enholm *et al.*, 2003; Jo *et al.*, 2005; Nielsen *et al.*, 2004; Sampson *et al.*, 2003; Sieber *et al.*, 2003). Na amostra em análise só um doente

apresentava manifestações extra-cólicas, alguns pólipos duodenais na endoscopia digestiva alta (EDA), o que está de acordo com as observações de Kanter-Smoler *et al.* (2006) e Lefevre *et al.* (2006). Já Nielsen *et al.* (2005) encontraram pólipos gástricos e duodenais na EDA de 31% dos indivíduos com PAM incluídos na sua amostra.

Seguimento e Tratamento de portadores de mutações MYH

Como a história natural de CCR em doentes com PAM não é bem conhecida, o seguimento destes doentes deve incluir a vigilância endoscópica do tracto digestivo superior e inferior, considerando a colectomia quando o número, tamanho e/ou displasia dos pólipos não forem controláveis por polipectomia endoscópica ou quando é previsível que o probando não colabore num programa de vigilância contínua (Wang *et al.*, 2004). Nos doentes bialélicos assintomáticos a primeira colonoscopia deve ser feita entre os 25 e os 30 anos e repetida de 2 em 2 anos, quando não são encontradas alterações (Gammom *et al.*, 2007). A EDA também é recomendada, devendo a primeira ser realizada entre os 25 e os 35 anos de idade e repetida todos os 2-5 anos. Por outro lado, Leite *et al.* (2005) sugerem que a colonoscopia e polipectomia não são suficientes para prevenir o CCR, particularmente quando não for possível excisar endoscopicamente todos os pólipos colo-rectais. Em relação aos portadores monoalélicos, o seguimento deve ser semelhante ao prestado a doentes com história familiar de CCR, em que a vigilância endoscópica deverá começar aos 40 anos e, na ausência de lesões, repetida de 5 em 5 anos (Levin *et al.*, 2008).

O tratamento dos doentes com PAM deve ser ponderado com base no risco de malignização. Normalmente o tratamento do CCR associado a múltiplos adenomas consiste na colectomia total. Quando há cancro rectal ou mais de 10-20 pólipos rectais, a cirurgia preferível é a proctocolectomia reconstrutiva (Leite *et al.*, 2005). No caso dos portadores

estudados por Lipton e Tomlinson (2004), todos os portadores bialélicos foram sujeitos a colectomia total com anastomose ileo-rectal ou bolsa ileal.

Relativamente aos familiares de portadores de mutações *MYH*, como o risco de CCR associado a mutações monoalélicas não está esclarecido, o rastreio genético de irmãos de portadores bialélicos (probabilidade de 50% de serem monoalélicos e de 25% para genótipo de alto risco) deve estar incluído no protocolo de estudo de famílias afectadas. Todos os filhos e progenitores de portadores bialélicos são obrigatoriamente portadores de um alelo mutado, pelo que todos os familiares em 1º grau devem fazer colonoscopia, a primeira aos 25 anos e, se não forem encontradas formações adenomatosas, repetir 3-5 anos depois (Kastrinos e Syngal, 2007; Wang *et al.*, 2004).

Concluindo, como o espectro clínico da PAM é amplo e o risco de evolução para CCR é elevado, o rastreio genético pré-sintomático de mutações *MYH* deve ser feito em todos os indivíduos com história familiar de CCR ou de polipose múltipla com um padrão de transmissão compatível com hereditariedade recessiva e naqueles com irmãos portadores de mutações *MYH*. Desta forma, os portadores identificados atempadamente poderão beneficiar de vigilância endoscópica e tratamento profiláctico.

Referências

Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, *et al.* (2002) Inherited variants of *MYH* associated with somatic G:C→T:A mutations in colorectal tumors. *Nature Genetics* 30:227-232.

Avezzù A, Agostini M, Pucciarelli S, Lise M, *et al.* (2008) The Role of *MYH* gene in genetic predisposition to colorectal cancer: Another piece of the puzzle. *Cancer Letters* 268:308-313.

Balaguer F, Castellví-Bel S, Castells A, Andreu M, *et al.* (2007) Identification of *MYH* Mutation Carriers in Colorectal Cancer: A Multicenter, Case-Control, Population-Based Study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 5:379-387.

Bouguen G, Manfredi S, Blayau M, *et al.* (2007) Colorectal Adenomatous Polyposis Associated with *MYH* Mutations: Genotype and Phenotype Characteristics. *Dis Colon Rectum* 50:1612-1617.

Croitoru ME, Cleary SP, Di Nicola N, Michael M, Selander T, *et al.* (2004) Association between Biallelic and Monoallelic Germline *MYH* Gene Mutations and Colorectal Cancer Risk. *Journal of the National Cancer Institute* 21:1631-1634.

Enholm S, Hienonen T, Suomalainen A, *et al.* (2003) Proportion and phenotype of *MYH*-associated colorectal neoplasia in population-based series of Finnish colorectal cancer patients. *Am J Pathol* 163:827-832.

Farrington SM, Tenesa A, Barnetson R, *et al.* (2005) Germline Susceptibility to Colorectal cancer Due to Base-Excision Repair Gene Defects. *American Journal of Human Genetics* 77:112-119.

Gammon A, Kohlmann W, Burt R (2007) Can We Identify the High-Risk Patients to Be Screened? A Genetic Approach *Digestion* 76:7-19.

Gismondi V, Meta M, Bonelli L, *et al.* (2004) Prevalence of the Y165C, G382D and 1395delGGA germline mutations of the *MYH* gene in Italian Patients with adenomatous polyposis coli and colorectal adenomas. *Int. J. Cancer* 109:680-684.

Isidro G, Laranjeira F, Pires A, Leite J, *et al.* (2004) Germline MUTYH (*MYH*) Mutations in Portuguese Individuals with Multiple Colorectal Adenomas. *Human Mutation – Mutation in brief* #753 Online.

Jass JR (2008) Colorectal polyposis: From phenotype diagnosis. *Pathology – Research and Practice* 204: 431-447.

Jenkins MA, Croitoru ME, Monga N, Cleary SP, *et al.* (2006) Risk of Colorectal Cancer in Monoallelic and Biallelic Carriers of *MYH* Mutations: A Population-Based Case-Family Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 15: 312-314.

Jo WS, Bandipalliam P, Shannon KM, *et al.* (2005) Correlation of Polyp Number and Family History of Colon Cancer with Germline *MYH* Mutations. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 3:1022-1028.

Johns LE, Houlston RS (2001) A systematic review and meta-analysis of familial colorectal cancer risk. *American Journal of Gastroenterology* 96:2992-3003.

Johnson V, Lipton LR, Cummings C, *et al.* (2005) Analysis of somatic molecular changes, clinicopathological features, family history, and germline mutations in colorectal cancer families: evidence for efficient diagnosis of HNPCC and for the existence of distinct groups of non-HNPCC families. *J Med Genet* 42:756-762.

Kastrinos F, Syngal S (2007) Recently Identified Colon Cancer Predispositions: *MYH* and *MSH6* Mutations. *Semin Oncol* 34:418-424.

Kanter-Smoler G, Björk J, Fritzell K, *et al.* (2006) Novel Findings in Swedish Patients with *MYH*-associated polyposis: Mutation Detection and Clinical Characterization. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 4:499-506.

Lefevre JH, Parc Y, Svrcek M, Kerneis S, *et al.* (2009) *APC*, *MYH*, and correlation Genotype-Phenotype in Colorectal Polyposis. *Annals of Surgical Oncology* 16:871-877.

Lefevre JH, Rodrigue CM, Mourra N, Bennis M, *et al.* (2006) Implication of *MYH* in Colorectal Polyposis. *Annals of Surgery* 6:874-880.

Leite JS, Isidro G, Martins M, Regateiro F, Albuquerque O, Amaro P, Romãozinho JM, *et al.* (2005) Is prophylactic colectomy indicated in patients with *MYH*-associated polyposis? *Colorectal Disease* 7:327-331.

Levin B, Lieberman DA, McFarland B, *et al.* (2008) Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology* 134:1570-1595.

Lindor NM (2009) Hereditary colorectal cancer: *MYH*-associated polyposis and other newly identified disorders. *Best Practice & Clinical Gastroenterology* 23:75-87.

Lipton L, Tomlinson I (2004) The multiple Colorectal Adenoma Phenotype and *MYH*, a Base Excision Repair Gene. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2:633-638.

Mão de Ferro S, Lage P, Suspiro A, Fidalgo P, *et al.* (2007) Polipose Associada ao *MYH*: Fenótipo Grave na Homozigotia para a Mutação *1103delC*. *Acta Médica Portuguesa* 20:243-247.

Nielsen M, Franken PF, Reinards THCM, Weiss MM, *et al.* (2005) Multiplicity in polyp count and extracolonic manifestations in 40 Dutch patients with *MYH* associated polyposis coli (MAP). *J Med Genet* 42:e54.

Olschwang S, Blanché H, Moncuit C, Thomas G (2007) Similar Colorectal Cancer Risk in Patients with Monoallelic and Biallelic Mutations in the *MYH* Gene Identified in a Population with Adenomatous Polyposis. *Genetic Testing* 11:315-320.

O'Shea AM, Cleary SP, Croitoru MA, Kim H, *et al.* (2008) Pathological features of colorectal carcinomas in *MYH*-associated polyposis. *Histopathology* 53:184-194.

Pinheiro JS (2003) Cancer incidence and mortality in Portugal. *European Journal of Cancer* 39:2507-2520.

Sampson JR, Dolwani S, Jones S, *et al.* (2003) Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of *MYH*. *Lancet* 362:39-41.

Sieber OM, Lipton L, Crabtree M, Heinemann K, *et al.* (2003) Multiple Colorectal Adenomas, Classic Adenomatous Polyposis, and Germ-Line Mutations in *MYH*. *The New England Journal of Medicine* 348: 791-799.

Slupska MM, Baikalov R, Kristo P, *et al.* (1998) Cloning and sequencing a human homolog (*hMYH*) of the *Escherichia coli* *mutY* gene whose function is required for the repair of oxidative DNA damage. *Journal of Bacteriology* 178:3885-3892.

Tenesa A, Campbell H, Barnetson R, *et al.* (2006) Association of MutYH and colorectal cancer. *British Journal of Cancer* 95:239-242.

Vogt S, Jones S, Christian D, *et al.* (2009) Expanded extracolonic tumor spectrum in the MUTYH-associated polyposis. *Gastroenterology* 137:1976-1985.

Wang L, Baudhuin LM, Boardman LA, *et al.* (2004) *MYH* Mutations in Patients with Attenuated and Classic Polyposis and With Young-Onset Colorectal Cancer without Polyps. *Gastroenterology* 127:9-16.

Webb EL, Rudd MF, Houlston RS (2006) Colorectal Cancer Risk in Monoallelic Carriers of *MYH* Variants. *The American Journal of Human Genetics* 79: 768-771.

Agradecimentos:

Professor Doutor Júlio F. Soares Leite

Professora Doutora Ana Teresa Almeida Santos

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra