

FUNDAÇÃO FACULDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE PORTO ALEGRE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
DISCIPLINA DE GENÉTICA HUMANA

POLIPOSE ADENOMATOSA FAMILIAR

ANA PAULA PFITSCHER CAVALHEIRO *

ANDRÉ LUÍS ALVES FRAGA *

ELISA SCHNEIDER *

FERNANDA CARAVER *

FERNANDA DE ARAÚJO WEBER *

ORIENTADORES:

ALINE FORNARI **

RAFAELA ORTIGARA **

(*) Acadêmicos de Medicina da 4ª série da FFFCMPA

(**) Monitoras da Disciplina de Genética Humana da FFFCMPA

Porto Alegre, novembro de 2002.

RESUMO

A polipose adenomatosa familiar (FAP) é uma doença autossômica dominante caracterizada pelo desenvolvimento de numerosos pólipos adenomatosos e um grande risco para o surgimento de tumores colo-retais. Essa doença tem penetrância quase completa, porém expressividade muito variada entre os indivíduos heterozigotos. Em homozigose, geralmente resulta em morte embrionária. O mais relevante gene dessa doença é o APC, descoberto em 1991. Uma mutação germinativa é responsável pela FAP, e posterior mutação somática leva à carcinogênese. A perda da heterozigose parece ser um evento fundamental para que ocorra a transformação maligna dos adenomas. Nesse estudo, serão estudados aspectos tais como a síndrome hereditária FAP, a patogênese, as bases moleculares, as relações genótipo-fenótipo, o diagnóstico e o tratamento.

ABSTRACT

Familial adenomatous polyposis (FAP) is an autosomal dominant disorder characterized by the development of numerous adenomatous polyps and a high risk of colorectal cancer. This disease has an almost complete penetrance, but with a great variation in expression in heterozygosity. Homozygosity is usually embryonic lethal. The most important gene in this disease is APC, first reported in 1991. Germline mutation is the cause of FAP and somatic mutation leads to carcinogenesis. The loss of heterozygosity seems to be the most important event necessary to malignant transformation of adenomas. This review approaches aspects such as FAP hereditary syndrome, pathogenesis, molecular basis, genotype-phenotype correlations, diagnosis and treatment.

ÍNDICE

1.	Descrição	5
2.	Histórico e Nomenclatura	7
3.	Padrão de Herança e Prevalência	9
4.	Características Clínicas	12
5.	Estrutura e Função Gênica	30
6.	Patogênese	41
7.	Mutações	49
8.	Correlação Genótipo-Fenótipo	63
9.	Diagnóstico	67
10.	Diagnóstico Diferencial	77
11.	Diagnóstico Pré-natal	81
12.	Manejo	85
13.	Rastreamento	92
14.	Aconselhamento Genético	99
15.	Referências	107

1. DESCRIÇÃO

Polipose Adenomatosa Familiar (FAP, do inglês *familial adenomatous polyposis*) é uma das mais claramente definidas e bem compreendidas síndromes herdadas de câncer colo-retal ^{1,2}. É uma desordem autossômica dominante que tipicamente se apresenta sob a forma de câncer de cólon e reto em adultos jovens, secundária à extensa polipose adenomatosa presente no cólon destes pacientes ³. Ou seja, é uma condição clínica em que há uma tendência herdada para que se desenvolvam grande número de pólipos adenomatosos (ou simplesmente adenomas) ⁴. Constitui-se, na verdade, em uma síndrome que predispõe o paciente afetado a desenvolver a neoplasia colônica. Centenas a milhares de pólipos pré-cancerosos desenvolvem-se entre os 7 e os 36 anos (média de idade de 16 anos). Aos 35 anos, 95% dos indivíduos com a moléstia possuem pólipos, sendo que, se não for feita colectomia, a neoplasia é inevitável ⁶. Ou seja, embora esses pólipos sejam inicialmente lesões benignas e não sejam individualmente ameaçadores, o grande número deles garante que ao menos algum irá progredir para uma lesão invasiva ⁵. A média de idade em que este evento ocorre, ou seja, a malignização das lesões, é de 39 anos (entre 34 e 43 anos, geralmente) ⁶.

Manifestações extra-colônicas podem também estar presentes, incluindo-se pólipos no fundo gástrico e duodeno, osteomas, anormalidades dentárias,

hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina, tumores de tecidos moles, tumores desmóides e outros cânceres associados ⁶, tais como tumores do SNC, da tireóide e hepatoblastomas ³, sendo que as crianças de 0 a 7 anos apresentam um risco aumentado para ocorrência deste último tumor ^{3,4}. Aspectos que auxiliam no diagnóstico incluem lesões pigmentadas na retina, conhecidas como hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina, cistos maxilares, cistos sebáceos e osteomas. O gene APC no locus cromossômico 5p21 encontra-se mutado na FAP ³.

2. HISTÓRICO E NOMENCLATURA

A polipose adenomatosa familiar foi pela primeira vez observada em meados do século XVIII, e sua natureza genética já era conhecida em 1900. Entretanto, sua patogênese molecular foi elucidada apenas na década de 80. A primeira pista que levou a descoberta foi uma deleção intersticial citogeneticamente evidente do cromossomo 5q num paciente com polipose ⁷. Esta observação estimulou estudos que demonstraram estreita ligação entre a doença e marcadores no cromossomo 5q21 ^{8,9}. Seguindo-se o caminho demarcado pelas alterações germinativas nos pacientes com FAP e as alterações somáticas nos tumores colo-retais esporádicos, tornou-se possível identificar o gene responsável pela doença e provar que ele realmente causava a moléstia, demonstrando-se a co-segregação dos alelos do gene mutante nos afetados relacionados (parentesco) ¹⁰.

Polipose múltipla do cólon, polipose hereditária do cólon, polipose múltipla familiar e polipose familiar do cólon foram termos utilizados inicialmente para esta enfermidade. A designação “polipose adenomatosa familiar” é a mais freqüentemente utilizada atualmente, baseada, em parte, no fato de os pólipos não serem confinados ao cólon ³.

O gene específico no cromossomo 5, sítio da mutação responsável por esta moléstia, é simbolizado por APC, proveniente da designação utilizada no passado

para a doença, *adenomatous polyposis coli*. Neste trabalho, usaremos FAP para polipose adenomatosa familiar e APC para designar o gene³.

A síndrome de Gardner (SG), polipose colônica com tumores extra-intestinais, especialmente osteomas, e lesões na retina características, é conhecida por ser uma variante fenotípica da FAP, causada pela mutação no gene APC³, embora muitas vezes seja usada para designar FAP em pacientes com manifestações extra-colônicas.

3. PADRÕES DE HERANÇA E PREVALÊNCIA

Aproximadamente 130.000 casos de câncer colo-retal são diagnosticados anualmente nos Estados Unidos, sendo que em torno de 15% apresentam um componente hereditário. A FAP e o câncer hereditário colo-retal não-polipóide juntos contribuem com mais de 5% do total de casos novos deste tipo de câncer. A prevalência de FAP, entretanto, é conflitante entre os diversos estudos desenvolvidos sobre o assunto, variando de 2,29 - 3,2 por 100.000 habitantes ^{11,12} (relacionada aos registros nacionais americanos) até 1 caso a cada 8.000 pessoas.

A doença historicamente contribuiu com aproximadamente 0,5% de todos os cânceres colo-retais, porém esse percentual vem diminuindo na medida em que mais membros de famílias de risco buscam o diagnóstico precoce através da detecção de pólipos por meio de exames especializados e submetem-se ao tratamento profilático (colectomia) com sucesso.

Existe uma incidência aumentada entre os judeus Ashkenazim (oriundos da Europa Oriental) em decorrência de uma mutação específica (troca de uma timina por uma adenosina no códon 3920 do gene APC), encontrada em 6% de todas as pessoas dessa linhagem. Quando esses judeus, por sua vez, apresentam história familiar de câncer colo-retal, a mutação é encontrada em 28% ¹³.

A desordem apresenta um padrão de herança autossômico dominante, o que significa que os indivíduos afetados são geneticamente heterozigotos e que os descendentes de um paciente afetado têm 50% de chance de serem também portadores da mutação, assim como cada progenitor tem 50% de possibilidade de transmitir o alelo mutado. Apenas as crianças homozigotas recessivas (25%) não desenvolverão a doença e normalmente não poderão transmiti-la. Na maioria das mutações, homozigose resulta em morte embrionária ¹⁴. Entretanto, aproximadamente um terço das pessoas afetadas não possuem nenhum parente com a mesma desordem. Esses indivíduos, que são os primeiros na família a apresentar a moléstia, têm uma nova mutação no gene APC, podendo, obviamente, transmiti-la para sua prole ⁴.

A doença apresenta uma penetrância quase completa, porém com surpreendente variabilidade na expressão do fenótipo ³.

Um estudo dinamarquês analisou o registro nacional e incluiu todos os casos de FAP, bem como seus parentes, notificados entre 1920 e 1949. Comparando o número de descendentes afetados e não afetados nascidos de progenitores com a doença durante o mesmo período, identificou que a penetrância da doença para casos herdados se aproxima de 100% na idade de 40 anos. A estimativa do índice mutacional é de que 9 mutações em cada milhão de gametas estariam presentes em cada geração, e a proporção de novos mutantes foi estimada em 25%. O fitness para os pacientes entre 15 e 29 anos se aproximava de 1, enquanto que para pacientes acima de 30 anos era reduzida, mas aumentava durante as 3 décadas (de 0,44 a 0,71), provavelmente porque o tratamento se tornou mais difundido e eficiente. Como foi usado o fitness global no

período, 0,87, para estimar o índice de mutação pelo método indireto, encontrou um valor mais baixo do que pelo método direto, a saber, 5 mutações por milhão de gametas por geração.

4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

A FAP é caracterizada por polipose adenomatosa do cólon e reto (nos casos extremos, o intestino é coberto com uma miríade de pólipos). Esta é uma doença pré-maligna, onde um ou mais pólipos progridem de displasia para câncer nos portadores não tratados. A carcinogênese pode se apresentar em qualquer idade, desde a infância até a sétima década.

Muitos pacientes desenvolvem os pólipos de forma assintomática. Entretanto, alguns sintomas podem ocorrer ⁴:

- presença de sangue rutilante acompanhando as evacuações;
- períodos de diarreia e/ou constipação não explicados pela dieta ou por viroses;
- dor em cólica na região gástrica;
- sensação freqüente de distensão abdominal;
- perda de peso persistente e não explicada;
- astenia.

As características clínicas das lesões malignas, por sua vez, são aquelas comuns a todas as neoplasias semelhantes adquiridas, tais como perda de peso, inanição, obstrução intestinal ou diarreia hemorrágica ³.

Ocasionalmente, as manifestações extra-colônicas da síndrome podem dominar a apresentação clínica ³. No passado, pacientes com essas

manifestações eram tratados como pertencendo a um distinto fenótipo, rotulado como síndrome de Gardner. Avaliações detalhadas, no entanto, mostraram que a maioria dos pacientes com FAP tem uma ou mais manifestações dessa natureza³.

Em suma, atualmente se reconhece que a FAP tem um amplo espectro de manifestações clínicas e, somado a FAP clássica, inclui três outros fenótipos, que no passado eram descritos como sendo entidades clínicas distintas: FAP atenuada, Síndrome de Gardner e Síndrome de Turcot⁶.

FAP CLÁSSICA

Pólipos adenomatosos colo-retais começam a aparecer em média aos 16 anos (dos 7 aos 36)¹⁵. Aos 10 anos de idade, apenas 15% dos portadores manifestam os adenomas, entretanto, aos 20, esse valor sobe para 75% e aos 30, para 90%. Aos 35 anos, 95% dos indivíduos têm pólipos. Uma vez presentes, rapidamente crescem em número, sendo que, quando há completa expressão colônica, podem ser observadas de centenas a milhares de lesões. Se não for feita colectomia, o câncer é inevitável. Nesses casos, onde o indivíduo não é tratado, aos 39 anos a maioria começa a apresentar neoplasia (média de 34 a 43 anos). Aos 21 anos, 7% dos pacientes desenvolvem câncer, 87% aos 45 anos e 93% aos 50. Embora muito raros, existem indivíduos assintomáticos ainda aos 50 anos⁶. Variabilidade fenotípica inter e intrafamiliar é comum¹⁶. Outras manifestações de FAP que podem estar presentes:

PÓLIPOS GÁSTRICOS

Os pólipos gástricos podem ser tanto de glândulas fúndicas quanto adenomatosos. Pólipos gástricos de glândulas fúndicas são hamartomatosos e ocorrem em aproximadamente metade dos pacientes com FAP, sendo localizados no fundo e corpo do estômago. Embora esses pólipos sejam considerados como tendo baixo potencial de malignidade, já foram descritos casos com alto grau de displasia. Por sua vez, os pólipos adenomatosos gástricos ocorrem em 10% dos indivíduos com FAP e são usualmente confinados ao antro gástrico. O risco para neoplasia gástrica é pequeno ⁶.

PÓLIPOS ADENOMATOSOS DO INTESTINO DELGADO

Um sistema de classificação para pólipos duodenais baseado no número e tamanho dos pólipos, histologia e grau de displasia foi desenvolvido para nortear o seguimento dos pacientes ^{6,17}. A presença e o número de pólipos adenomatosos depende da localização específica no intestino delgado. Pólipos adenomatosos do duodeno são observados em 50-90% dos pacientes com FAP, sendo comumente encontrados na segunda e terceira porções do duodeno, principalmente junto à região da papila maior ^{6,18}. Esse agrupamento em torno da ampola de Vater sugere fortemente um envolvimento da bile no processo fisiopatológico ³. O risco de malignização no intestino delgado gira em torno de 14 a 21%, sendo que a maioria ocorre no duodeno ⁶. Nenhuma associação clara foi encontrada entre o número de pólipos colônicos e o número de pólipos do trato gastrintestinal alto ⁶

Pólipos adenomatosos da região periampolar (incluindo a papila duodenal e a ampola de Vater) são vistos em pelo menos 50% dos indivíduos. Pólipos nesta área podem causar obstrução do ducto pancreático, resultando em pancreatite (esta complicação acontece com grande frequência na FAP). Esses pólipos são geralmente pequenos e requerem uma visão lateral à endoscopia para serem diagnosticados. O risco de malignização dos pólipos da região periampolar é mais alto do que o dos presentes em outras partes do duodeno ⁶.

Por serem os pólipos usualmente pequenos, sésseis, múltiplos e difíceis de serem removidos, o benefício da vigilância endoscópica seria a detecção precoce de câncer, sendo sem dúvida superior ao benefício da erradicação dos pólipos. Ainda, não há evidências claras até o momento de que o rastreamento e o tratamento precoce levem a uma melhora no prognóstico. Ao contrário das lesões polipóides do intestino grosso, cuja remoção cirúrgica já está consolidada como método terapêutico, o tratamento das lesões adenomatosas do duodeno permanece aberto para debates. O risco de desenvolvimento de neoplasia periampolar não é elevado o suficiente para que se justifique uma abordagem cirúrgica profilática agressiva (técnica de Whipple) imediatamente após a descoberta de adenomas. A morbi-mortalidade deste procedimento deve ser mensurada em relação aos benefícios do rastreamento ¹⁸.

MANIFESTAÇÕES EXTRA-COLÔNICAS

Está bem estabelecido que os pacientes com FAP apresentam risco considerável de desenvolver manifestações extra-colônicas. Tumores desmóides da cavidade abdominal, adenomas duodenais e carcinomas são os de maior

gravidade ¹⁸. Mutações em determinados locais do gene APC parecem favorecer a ocorrência dessas manifestações extra-intestinais, que tendem a se transmitir de maneira constante nas famílias 6. Essas características também apresentam variações intra e interfamiliares e não se correlacionam com a expressão fenotípica colo-retal: muitos dos indivíduos com FAP atenuada apresentam numerosas lesões de pele ³.

Osteomas

Osteomas são crescimentos ósseos encontrados mais comumente no crânio e na mandíbula, podendo, entretanto, ocorrer em qualquer osso do corpo (fig. 1 e 2). Geralmente não causam manifestações clínicas e não malignizam. Essas lesões podem aparecer nas crianças antes do desenvolvimento dos pólipos colônicos.

Um estudo japonês analisou durante dez anos 26 portadores de FAP e comparou-os a um grupo controle de 264 pessoas. Concluiu que as lesões osteomatosas estavam presentes em 62% dos pacientes portadores e em apenas 14% dos controles. A comparação dos números e áreas das lesões entre os grupos demonstrou sintomas patognomônicos específicos nos radiogramas panorâmicos de aproximadamente 42% dos pacientes com FAP ¹⁹.



Fig. 1 – Osteoma na região frontal



Fig. 2 – Lesão osteomatosa na região mandibular, causando o deslocamento de prótese inferior

Anormalidades dentárias

Atraso na dentição, ausência congênita de um ou mais dentes, dentes supranumerários, cistos dentários e odontomas são reportados em aproximadamente 17% dos indivíduos com FAP, em contraste a 1 ou 2% que ocorrem na população em geral ⁶.



Fig. 3 – Exostose da região pré-molar esquerda

Hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina (HCEPR)

HCEPR são lesões discretas, planas e pigmentadas que ocorrem na retina, porém inócuas⁶. As manchas podem ter 1 ou 2 discos de diâmetro com uma área circunjascente de despigmentação. São muitas vezes denominadas de escaras pigmentadas. As lesões podem ser confundidas com melanomas da retina. O centro da lesão pode revelar atrofia coriorretiniana e hiperpigmentação periférica. A observação de HCEPR múltipla ou bilateral pode ser uma indicação de que a doença seja transmitida por um membro da família afetada, enquanto que lesões que não correspondem a estas características podem ser vistas na população em geral, já que nestas pessoas a maioria das HCEPR são unilaterais, solitárias e aparentemente não relacionadas a outras desordens oculares ou sistêmicas. A HCEPR não é uma manifestação relacionada exclusivamente à mutação no locus APC. Além disto, pode ocorrer associada a outras síndromes de cânceres familiares. Acredita-se que estas lesões estejam presentes já ao nascimento⁶. Já foi descrito um caso em que se diagnosticou HCEPR em um bebê de 3 meses de idade, o que corrobora esta hipótese de que a patologia seja congênita. Tradicionalmente, são lesões estacionárias benignas, mas já foram relatados casos em que se transformaram em tumores sólidos e elevados. Em virtude disto, devem ser observadas periodicamente a fim de se detectar o desenvolvimento de neoplasias³.

A HCEPR é um achado freqüente na síndrome de Gardner e podem ser uma pista valiosa da presença do gene APC em pessoas que não desenvolveram ainda outras manifestações da FAP. O exame ocular combinado com dados sobre

a idade de início da doença e marcadores genéticos parece ser altamente efetivo na exclusão de não portadores. O fenótipo que apresenta HCPER é um marcador mais poderoso de síndrome de Gardner do que outras características ³.

A visualização destas lesões deve ser examinada através de um exame de fundo de olho com oftalmoscópio indireto através de pupila dilatada com midriático ⁶.

Lesões cutâneas benignas

Estas lesões incluem cistos epidermóides e fibromas, sendo que podem ser encontradas em qualquer parte do corpo, incluindo a face. São motivo de preocupação de natureza cosmética por parte dos pacientes ⁶.

Tumores desmóides

Tumores desmóides são proliferações fibromatosas em uma matriz de colágeno, sendo também conhecidos como tumores mesentéricos. Podem aparecer associados à FAP, à variante clínica síndrome de Gardner, a outras síndromes de cânceres colo-retais ou esporadicamente. Entretanto, têm sido relacionados ao gene APC mutante mesmo nos casos não relacionados à FAP ³. Representam a segunda causa mais importante de morte nos pacientes portadores de FAP (após câncer colo-retal).

Fazendo-se uma generalização, pode-se afirmar, de acordo com diversos estudos, que aproximadamente 10% das crianças e adultos com FAP desenvolvem esses tumores, sendo que os índices variaram entre 8 e 38% ²⁰ (a incidência variou de acordo com os métodos de averiguação de cada estudo e

com a localização da mutação no gene APC). Esse risco, no entanto, é dependente da faixa etária e do sexo, sendo estimado em 8% para os homens e 13% para as mulheres, o que indica uma leve prevalência no sexo feminino ³. O risco de aparecimento de tumores desmóides na população com FAP é 852 vezes maior do que na população em geral ⁶.

A etiologia e a patogênese deste tumor fibroso benigno são pobremente compreendidas, mas se sabe que ele provém da proliferação de miofibroblastos maduros ^{6,18}. Eles freqüentemente ocorrem após procedimentos cirúrgicos ou traumas fisiológicos, e tanto fatores genéticos como endocrinológicos estão implicados. Não metastatizam, porém, a despeito deste fato, são localmente invasivos e crescem agressivamente, ameaçando a vida, ⁶. Podem atingir enormes dimensões, comprimindo vísceras, e invadir por contigüidade estruturas adjacentes, fator causador de grande morbi-mortalidade ^{3,18,20}. Muitas vezes recidivam ²⁰. Postula-se a hipótese de que outra lesão fibromatosa patologicamente distinta, chamada “fibroma associado de Gardner” (FAG), seja uma lesão precursora. Fatores predisponentes independentes desses tumores incluem a mutação no APC na região 3' do códon 1444, história familiar, sexo feminino e a presença de osteomas ⁶.

A história natural destes tumores é variada. Estima-se que 10% evoluam para cura, 50% permaneçam estáveis por períodos prolongados de tempo, 30% flutuem e 10% cresçam rapidamente. Os tumores desmóides formam-se predominantemente no interior do abdômen ou em sua parede, embora também possam se desenvolver em outras localizações (extra-abdominais) ^{3,6}. Os tumores que crescem nas paredes não causam morbi-mortalidade significativa e a recidiva

após exérese cirúrgica é comum. Já os intracavitários podem causar sérias complicações; a terapêutica geralmente falha e a cirurgia neste sítio é particularmente arriscada ³. Eles geralmente surgem precocemente no curso da doença e podem levar a obstrução ou infarto intestinal, bem como obstrução ou infarto ureteral. Podem, além disto, comprimir outras vísceras abdominais ou complicar cirurgias nesses locais. Um estudo detectou que em torno de 5% dos pacientes com FAP apresentam morbi-mortalidade aumentada em decorrência destes tumores ⁶. Outro, no entanto, atribuiu-lhes 11% de toda a mortalidade dos pacientes com FAP, enquanto um terceiro ensaio creditou-lhes a responsabilidade por 31% de mortalidade após colectomia. É possível que ocorreram espontaneamente ou seguindo cirurgias abdominais, gravidez ou uso de anticoncepcionais orais ⁶. Geralmente surgem após cirurgias.

O tratamento bem sucedido é dificilmente obtido, já que a terapia cirúrgica requer a remoção de porção considerável do intestino delgado, além de poder gerar um sangramento incontrolável, especialmente, como já mencionado, quando se trata de tumores intracavitários. A quimioterapia com agentes citotóxicos aparenta ser promissora, mas até agora os dados são insuficientes para que conclusões possam ser firmadas. Os regimes medicamentosos que interferem com o metabolismo hormonal do tumor ainda se encontram em iguais condições de desenvolvimento que os agentes quimioterápicos ¹⁸.

Tumores desmóides são melhor avaliados através de Tomografia Computadorizada (TC) ou Ressonância Nuclear Magnética (RNM) ⁶.

Massas adrenais

Embora não bem estudadas, uma associação estatisticamente significativa entre massas adrenais e FAP foi reportada. Enquanto 1 a 3% da população não afetada apresenta uma massa adrenal, uma análise retrospectiva identificou tais massas em 7,4% dos pacientes com FAP e um outro estudo, desta vez, prospectivo, encontrou um índice de 13% de massas maiores ou iguais a 1 cm através de TC abdominal ²¹. Não existem evidências, porém, de que a natureza histológica dessas lesões seja distinta daquelas diagnosticadas no restante da população ²¹. A maior parte destas massas era de adenomas adrenocorticais, e associavam-se a endocrinopatias ou hipertensão arterial sistêmica (HAS).

Outro estudo revelou, a partir da análise de 738 pacientes portadores de FAP, que a incidência de incidentalomas nesses pacientes parece ser mais alta do que na população em geral, porém, a detecção incidental de uma massa adrenal nesses indivíduos tem, provavelmente, uma relevância clínica limitada. Assim, o manejo dos pacientes com FAP deve ser igual ao do resto da população. Não existem ainda evidências suficientes para que se faça um rastreamento nos portadores ²¹.

Hepatoblastomas

Inúmeros grupos notaram uma associação entre FAP e hepatoblastoma ³, sendo que esses tumores são mais freqüentes em crianças de 0 a 7 anos ^{3,4}. Os registros mantidos desde 1973 pela Johns Hopkins University de famílias com FAP foram estudados e revelaram que 7 membros destas linhagens tiveram hepatoblastoma, diagnosticado entre 1 mês e 4,5 anos de idade. Seis deles

provinham de famílias com síndrome de Gardner e um de uma família com FAP, porém sem manifestações extra-intestinais. A partir destes dados, calculou-se o risco relativo de desenvolvimento de hepatoblastoma em pessoas com o gene APC desde o nascimento até os 4 anos como sendo de 3,3 por 1.000 pessoas/ano³.

Outro estudo retrospectivo encontrou que 0,42% das crianças nascidas de pais com FAP tiveram hepatoblastoma (incidência semelhante à do estudo anterior), o que é um índice significativamente mais alto do que a população em geral (1 caso para cada 100.000 habitantes)³.

Cânceres extra-colônicos

Diversos cânceres extra-colônicos ocorrem com uma incidência aumentada em indivíduos com FAP⁶. Após colectomia, uma das principais causas de morte é a malignidade gastrintestinal, já que a maioria dos pacientes também desenvolve pólipos nessa região¹⁷. Unem-se a estas causas a malignização dos pólipos duodenais e os tumores desmóides¹⁸. As lesões no antro gástrico e duodeno são especialmente dadas à malignização. Em virtude disto, recomenda-se que os portadores de FAP realizem rastreamento para estas lesões através de endoscopias regulares e biópsias¹⁷. Lesões malignas no jejuno ou íleo são raras³.

- O **carcinoma duodenal** tem sido reportado em uma faixa etária ampla (de 17 a 81 anos), sendo a média de idade ao diagnóstico de 45 a 52 anos⁶.
- **Adenocarcinoma gástrico** ocorre em 0,5% dos indivíduos com FAP que residem em locais de culturas ocidentais, porém apresentam incidência

aumentada nos países de cultura oriental, tais como Japão e Coréia ^{3,6}. Cinquenta por cento dos japoneses portadores de FAP terão adenomas gástricos e o desenvolvimento de câncer gástrico é extremamente mais freqüente que o duodenal, ao contrário do que ocorre no ocidente, onde os duodenais são mais comuns ³. O risco de desenvolver este tipo de neoplasia parece ser 10 vezes maior entre os pacientes com FAP do que na população em geral ²⁰.

- **Câncer de tireóide** afeta aproximadamente 2% dos indivíduos com FAP, sendo a média de idade ao diagnóstico de 28 anos (de 12 a 62 anos) ²². Observa-se uma preponderância no sexo feminino, além de ocorrência familiar. O tipo histológico predominante é o carcinoma papilar, podendo comumente apresentar um padrão cribiforme.

Gravidez:

Informações limitadas estão disponíveis em relação ao impacto da gravidez em mulheres com FAP. Um estudo com 58 pacientes observou a mesma freqüência de fertilidade, gravidez e parto entre as mulheres afetadas e o grupo controle. Mulheres que haviam se submetido a colectomia apresentaram o mesmo risco obstétrico de complicações que qualquer outra mulher que tivesse já se submetido a uma cirurgia abdominal de grande porte. Como fármacos anti-estrogênicos têm sido utilizados no tratamento de tumores desmóides com sucesso, o desenvolvimento desses tumores parece ser afetado pelos hormônios produzidos durante a gravidez. Entretanto, outro estudo mostrou que mulheres que tiveram uma gestação prévia e desenvolveram um tumor desmóide

apresentavam significativamente menos complicações relacionadas a esses tumores do que aquelas que nunca haviam estado grávidas ⁶.

Síndromes associadas:

Foram descritos os casos de dois pacientes romenos (sem laços de parentesco) portadores de FAP com fenótipos extra-colônicos não usuais, ou seja, diversas anormalidades de origem mesodérmica fortemente assemelhadas à **síndrome de Marfan** (SM). Um deles era um homem de 28 anos extraordinariamente alto e magro (especialmente se comparado aos progenitores e irmãos), portador de algumas das características comuns à síndrome, porém com um retardo mental moderado. O segundo também era do sexo masculino, de 38 anos, e apresentava também o fenótipo do Marfan. O diagnóstico de FAP estava perfeitamente estabelecido, de acordo com todos os critérios, sendo que o segundo paciente apresentava ainda história familiar desta doença (mãe e irmã afetadas). A irmã também apresentava algumas características da SM. A citogenética convencional e o método FISH não revelaram rearranjos cromossômicos do 5q, onde ambos os genes, APC e FBN2, estão localizados (mutações no FBN2 são responsáveis pela síndrome Marfan-like). No segundo caso, a mutação causadora de FAP no APC foi encontrada no sítio juncional doador (*donor splice site*) do exon 4 e mostrou-se resultar em uma *frameshift* e um códon de terminação prematura. Postulou-se que as anormalidades do tecido conjuntivo resultaram de mutações germinativas no APC em combinação com fatores modificadores específicos, genéticos ou ambientais ²³.

FAP ATENUADA

A FAP atenuada (FAPA) é uma entidade clínica heterogênea caracterizada pelo desenvolvimento de menos de 100 pólipos (sincrônicos ou metacrônicos) no cólon e reto. A incidência é desconhecida, mas acredita-se que seja tão rara quanto a FAP clássica. A média de idade ao diagnóstico de câncer de cólon é de 50 a 55 anos, o que significa 10 a 15 anos mais tarde do que a doença clássica, porém permanecendo mais cedo do que a população não afetada que desenvolve neoplasia de cólon esporadicamente. Pólipos e câncer no trato gastrintestinal alto podem também ser vistos em pessoas com FAP atenuada e, embora as manifestações extra-intestinais possam estar presentes, tumores desmóides e lesões por HCEPR são raros ⁶.

Pacientes com FAPA são freqüentemente encontrados em famílias que também possuem indivíduos com FAP clássica, e a forma atenuada associa-se com uma mutação variante no gene APC em alguns casos. Mutações *missense* também foram relacionadas ao fenótipo. Têm sido propostas três classes de mutações: (1) aquelas associadas com a terminação 5' do APC e do exon 4, na qual pacientes podem manifestar de 2 a mais de 500 adenomas, incluindo o clássico fenótipo FAP e pólipos no trato gastrintestinal superior; (2) fenótipos associados ao exon 9, na qual pacientes podem ter de 1 a 150 adenomas, porém sem sinais no trato gastrintestinal superior e (3) mutações na região 3', na qual os pacientes apresentam realmente poucos adenomas (menos de 50).

Um pesquisador sugeriu que a deleção heterozigótica de todo o gene APC pode estar relacionada com a FAP atenuada, que apresenta distribuição mais

proximal dos adenomas se comparada à forma clássica, sendo que alguns são sésseis e outros podem ser não-polipóides ou achatados ³.

Testes genéticos para detecção do APC mutado podem ser um componente importante na avaliação dos pacientes em que se suspeita da doença, sendo que os métodos diagnósticos são os mesmos utilizados para a FAP clássica.

SÍNDROME DE GARDNER (SG)

Síndrome de Gardner é a associação de polipose adenomatosa colônica (e, às vezes, polipose gástrica ou do intestino delgado ³), osteomas craniofaciais ^{3,23} e tumores de tecidos moles (cistos epidermóides, fibromas e tumores desmóides) ^{3,6}, além de HCPER (é possível, inclusive, que essas lesões sejam as únicas manifestações da síndrome). Osteomas globóides da mandíbula com sobreposição fibromatosa são característicos. Alterações osteomatosas no crânio com fibromas associados (da fronte, por exemplo) também são observados. Cistos sebáceos ou epidermóides ocorrem nas costas ³. Embora tenha sido considerada no passado como uma entidade clínica distinta, sabe-se que as mutações no gene APC geram tanto a FAP quanto a SG ⁶.

Anomalias dentárias também já foram reportadas na SG, sendo que o primeiro relato ocorreu em 1962. Incluem dentes impactados, supranumerários, ausência congênita de dentes e anormalidades morfológicas (longas e pontiagudas implantações nos dentes posteriores) ³. Um pesquisador encontrou

18% de anormalidades em pacientes e osteomas mandibulares foram ainda mais freqüentes ¹². Esses osteomas aparecem no radiograma como lesões radiopacas sem um halo translúcido em 95% dos pacientes ³.

Um estudo demonstrou, entretanto, que a SG também pode manifestar tumores intracraniais benignos, não neurogliais, associados à apresentação usual ²³. Além destes tumores, pode também apresentar carcinomas de tireóide numa incidência 100 vezes maior do que o restante dos indivíduos ³.

SÍNDROME DE TURCOT (ST)

A síndrome de Turcot é rara e caracteriza-se clinicamente pela ocorrência de um tumor cerebral primário e de múltiplos adenomas colo-retais ³. Os tumores do Sistema Nervoso Central costumam ser malignos (SNC), usualmente meduloblastomas ou, com uma incidência um pouco inferior, glioblastomas multiformes ²³. Já foram descritos também casos de ependimomas. Quanto aos pólipos, estes encontram-se presentes em menor quantidade do que na FAP (entre 20 e 300, normalmente) ²⁵.

Demonstrou-se que a associação entre essas características clínicas provém de pelo menos dois tipos distintos de defeitos germinativos: mutação no gene APC, que é responsável pela FAP, ou mutação nos genes de reparo PMS2 ou MLH1 ^{3,25}.

Dois terços das pessoas com ST têm uma mutação no gene APC e um terço têm mutações em um dos genes reparadores do DNA, o que causa câncer

de cólon hereditário não-polipóide (CCHNP) ⁶. Os tumores do SNC nos pacientes com CCHNP são geralmente glioblastomas multiformes.

5. ESTRUTURA E FUNÇÃO GÊNICA

5.1 O GENE APC

O gene APC está no cromossomo 5q21 e tem junções (*splicing*) alternativas em múltiplas regiões codificadoras e não-codificadoras e a principal região de transcrição tem 15 exons. Com 8532 pares de bases correspondendo a 2844 aminoácidos, resulta em uma proteína de 311,8 Kd. O exon 15 é bastante grande, perfazendo mais de $\frac{3}{4}$ da região codificadora do gene ⁶.

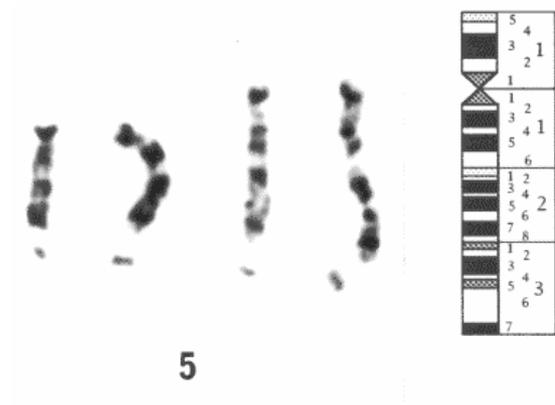


Fig. 4 - Cromossomo 5 em foto e diagrama. O gene APC fica no braço longo na região 2 entre o locus 1 e 2.

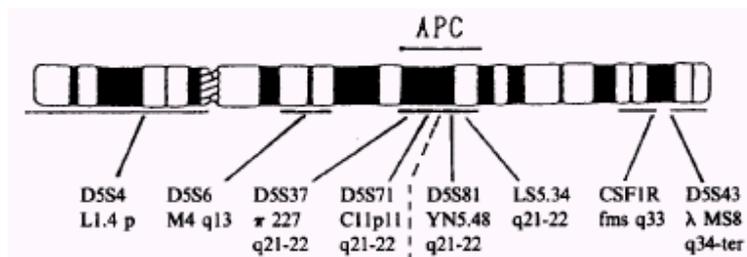
A descoberta do gene APC

Mapeamento do gene APC do cromossomo 5q21-22 e detecção da perda da heterozigose no locus do APC em tumores colo-retais:

A localização cromossômica do gene da FAP permaneceu desconhecida por longo tempo, pois nenhuma deleção específica era identificada em cromossomos ou mesmo em tecidos normais ou tumorais de pacientes com FAP. Em 1986, Herrera ⁷ detectou uma deleção constitucional no cromossomo 5q13-15 nas células linfóides de pacientes com a síndrome de Gardner. Estudos de rastreamento foram feitos em numerosas famílias com FAP usando marcadores RFLP no cromossomo 5q, e uma forte associação entre o gene da doença e o C11p11 (D5S71) em 5q21-22 foi demonstrada em 1987 por Bodmer e Leppert. A perda da heterozigose no cromossomo 5q foi detectada pela primeira vez em carcinomas colo-retais esporádicos e, logo após, na FAP, usando *probes* RFLP C11p11, o que sugeriu que o gene da doença era um mutante de um gene supressor de tumores.

Usando os *probes* RFLP, se analisou a perda da região no cromossomo 5q em adenomas e carcinomas colo-retais em pacientes com e sem FAP. A perda de heterozigose (LOH, do inglês *loss of heterizigosity*) no cromossomo 5 foi analisada em 137 tumores colo-retais ²⁶ em pacientes com FAP usando 7 *probes* RFLP mapeados para o cromossomo 5 (tab. 1). Mais de 87% dos tumores com LOH no cromossomo 5q exibiram uma perda em 5q21-22. A maior perda em LOH foi observada em YN5.48. As freqüências de LOH eram menores em regiões mais

proximais, que incluem M4 (5q13), e em regiões mais distais, que incluem *fms* (5q33) e MS8 (5q34-qter). Apenas em poucos tumores foi observada a perda do braço curto (L1.4), sendo rara a perda completa do cromossomo 5. Não houve diferença na taxa de perdas observadas entre adenomas e carcinomas²⁰.



Tab. 1 - regiões identificadas do gene APC.

Embora tenha sido difícil determinar o mecanismo exato de LOH por densitometria do alelo restante, análises semiquantitativas do locus do APC sugeriram que a perda de heterozigose em três tumores FAP ocorreu por perda na duplicação, ou nas recombinações mitóticas, em que ocorriam duas cópias do alelo restante (homozigose), e nove tumores FAP mostraram LOH por deleção de um alelo (hemizigose)²⁰.

5.2 ESTRUTURA DA PROTEÍNA APC

A estrutura peptídica codificada pelo APC tem locais de seqüência similares à miosina e queratina. Na porção amino-terminal e na central, o gene contém

seqüências que têm potencial espiro-espiralado, o que indica que a proteína APC tem habilidade para formar homo e heteroligômeros ²⁰.

A proteína APC ocorre em múltiplas formas, variando de peso molecular entre, aproximadamente, 90 a 300 Kda. Essa variação provavelmente origina-se de junções (*splicing*) alternativas no mRNA, embora modificações pós-transducionais e degradação possam ter algum papel. No APC mais abundantemente transcrito, falta o menor exon, 10A, e codifica uma proteína de 2844 aminoácidos. Essa proteína é expressa em epitélios específicos (freqüentemente pós-replicativos) e células mesenquimais de vários tecidos fetais

Table 1. General expression pattern of the APC protein

Tissue	Regions of expression
Fetal	
Colon	Crypts
Kidney	Tubules
Pancreas	Ducts
Small intestine	Crypt and vilous epithelium
Adult	
Bladder	Umbrella and intermediate urothelial cells
Breast	Terminal duct lobular unit epithelium
Colon	Crypts, luminal surface
Proliferative endometrium	Occasional glandular and stromal cells
Gall bladder	Epithelium
Kidney	Tubules and collecting ducts
Liver	Bile duct epithelium
Lung	Bronchial epithelial cells
Nipple	Lactiferous ducts
Oesophagus	Squamous epithelium excluding the basal cell layer
Pancreas	Duct, islets and occasional acinar cells
Parotid gland	Ducts
Placenta	Cyto- and syncytiotrophoblast
Skeletal muscle	Not clearly described
Skin	Stratum granulosum and stratum spinosum of epidermis, sebaceous glands, apocrine glands, eccrine glands
Small intestine	Crypt and vilous epithelium
Stomach	Not clearly described
Gastric pits	Chief and oxyntic cells
Submandibular gland	Ducts
Testis	Germ cells and Leydig cells
Thymus	Hassall's corpuscles and dendritic cells

Tab. 2 – Locais de expressão da proteína APC

e adultos.

Dois elementos principais demonstraram interagir com a β -catenina; uma repetição imperfeita de 15 aa (ocorrendo três vezes entre os resíduos 1020-1169) e mais uma repetição imperfeita de 20 aa (ocorrendo sete vezes entre os resíduos 1262-2033). Cada uma dessas repetições de 20aa contém um lugar SXXXS de consenso que age como um substrato para a fosforilação da glicogênio sintetase quinase 3 β . As repetições 15 e 20 aa mostraram um alto grau de homologia e foram conservadas através das espécies ²⁷.

A APC medeia a ligação dos microtúbulos quando temporariamente superexpressada nas células epiteliais e engatilha a polimerização da tubulina in vitro. A associação com microtúbulos se dá via uma região entre os aminoácidos 2200-2400 aa. Mais sinais estão presentes na ligação entre a β -catenina e os microtúbulos, que se pensa serem mediados pelo recentemente descrito APC de localização nuclear ²⁷.

A terminação-carboxi do APC (resíduos 2560-2843) interage com os microtúbulos associados à proteína EB1 ²⁷.

Há três locais de ligação com o DNA presentes no APC, um com 20 repetições de aa e outro dois no terço da terminação carboxi da proteína APC. Esses três locais contêm grupamentos de seqüências elementares principais S(T)PXX, que mediam a interação com o DNA e outras proteínas de ligação. Coincidindo com outras proteínas que portam o elemento S(T)PXX, a APC liga-se preferencialmente a seqüências ricas em A-T no DNA.

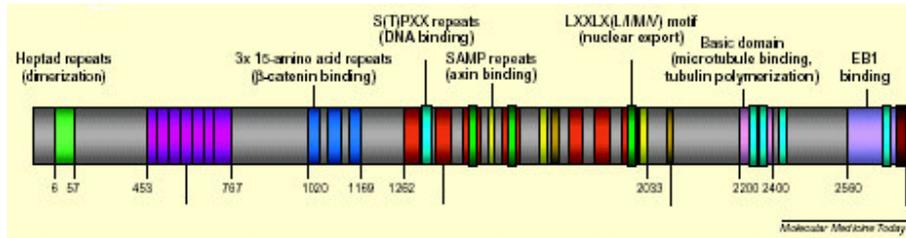


Fig. 5 - Estrutura da proteína APC

5.3 Localização da proteína APC

A proteína formada pelo APC é hidrofílica e provavelmente não possui peptídeos que a sinalizem nas regiões transmembrana, ou estruturas sinalizadoras nucleares, o que fez sugerir inicialmente sua localização citoplasmática ²⁶. Como foi após provado, a proteína APC tem realmente uma localização difusa no citoplasma, se acumulando nas regiões laterais e subapicais de certas células, em particular as de localização superficial ²⁷.

Células epiteliais de mesma linhagem podem mostrar notáveis diferenças na localização sub-celular da proteína APC. Por exemplo, a expressão do APC está quase ausente nos enterócitos situados na base das criptas intestinais são quase sempre APC negativas, no entanto sua expressão aumenta à medida em que vai-se aproximando do terço superior da cripta e superfície luminal, onde todas as células expressam o APC. Além do mais, enterócitos na superfície luminal mostraram acúmulo dessa proteína ao longo das suas superfícies apicais.

Assim, a expressão do APC parece aumentar com a maturação do enterócito, assim que a célula migra da base da cripta para a superfície luminal²⁷.

Uma proteína nuclear do APC tem sido detectada no epitélio humano, nos fibroblastos e no epitélio colo-retal, concentrada numa discreta região sub-nuclear, o *nucleoli*. A distribuição celular relativa do APC citoplasmático e nuclear no epitélio foi muito parecida em todos mamíferos estudados²⁷.

5.4 Funções da proteína APC e a sua implicação na tumorigênese

Inicialmente, a seqüência da grande proteína APC não permitia prever especificamente a sua função intracelular. O primeiro indício foi decorrente da identificação da β -catenina como uma proteína que se ligava ao APC²⁸. A β -catenina foi originalmente identificada como um componente intracelular essencial para o complexo de adesão da caderina. Contudo, agora se sabe que ela também representa um importante componente da via de sinalização da transdução Wiggless/Wnt²⁹.

Em células não estimuladas, isto é, na falta do sinal extracelular Wnt, a β -catenina livre é fosforilada e ligada ao chamado “complexo de destruição”, que consiste basicamente nas proteínas axina e conductina, na glicogênio sintetase quinase 3 β (GSK3 β) e no APC. Essa fosforilação leva a uma sinalização da β -catenina para a ubiquitina e subsequente degradação proteolítica. Resumindo, na falta de estimulação extracelular, a β -catenina é destruída²⁹.

Na presença do sinal Wnt, a β -catenina inativa a GSK3 β no complexo de destruição. Esse processo de inativação não é bem entendido, mas envolve uma proteína chamada *Dishevelled* (em tradução livre, amarrotada). Como consequência disso, a β -catenina se torna estável e dirige-se ao núcleo. Há se associa a proteínas ligadoras de DNA da família dos fatores das células T (Tcf), para servir como um co-fator essencial para a transcrição. Portanto, quando ativada, a β -catenina favorece a transcrição do DNA ²⁹.

Entretanto, além de controlar a via Wnt, o APC pode ter outras funções. A β -catenina não funciona apenas como uma transmissora do sinal Wnt, mas também como um componente essencial para as junções das aderências celulares, onde fornece uma ligação entre a caderina-E e a α -catenina, ligando a actina à suas proteínas associadas. O APC pode assim controlar a adesão das células regulando a estabilidade e a localização sub-celular da β -catenina. O APC também se associa diretamente aos microtúbulos do citoesqueleto. Essa função envolve a terminação-C e é independente da sua capacidade de regular a via de sinalização Wnt ²⁹.

Como foi mostrado, o APC codifica uma proteína multifuncional que pode participar de vários processos celulares como adesão e migração celular, transdução de sinal, reunião dos microtúbulos e segregação cromossômica. Contudo, apesar do fato que cada um desses papéis seja potencialmente ligado à tumorigênese, parece que a principal função supressora de tumor do APC está na capacidade de regular adequadamente os níveis intracelulares da β -catenina. Além do mais, embora a grande maioria dos tumores colo-retais contenha

mutações no APC, aqueles com esse gene intacto carregam mutações ativas na β -catenina que alteram funcionalmente locais significantes de fosforilação²⁹.

E se admitirmos que a função supressora de tumores do APC está realmente em sua capacidade de controlar os níveis de β -catenina na célula, que os sinais reguladores negativos da Wnt/ β -catenina são, na realidade, responsáveis pela tumorigênese?

Os primeiros dois sinais reguladores negativos da via de transdução identificados foram o MYC e a ciclina D1, que são claramente relevantes para a formação do tumor por causa do seu papel na proliferação, apoptose e progressão do ciclo celular. Mudanças no padrão de expressão normal do MYC e ciclina D1 costumam afetar a renovação normal do epitélio intestinal, causando um aumento das taxas de proliferação. Vários estudos encontraram um aumento no número de células em ciclo de divisão em tumores colo-retais. Outros genes sinalizadores Wnt, como a natrilisina, o CD44, o MYC e o receptor ativador da uroquinase tipo plasminogênio, parecem mais propensos a ter um papel na promoção do tumor do que na iniciação dele²⁹.

No epitélio intestinal normal, usualmente a expressão da β -catenina é maior no compartimento proliferativo, enquanto diminui nos últimos dois terços mais perto da cripta. De acordo com essa afirmativa, o APC citoplasmático marcado é bastante aumentado nas células pós-replicativas nas porções mais superiores da cripta, sugerindo um aumento no nível de expressão com a maturação, enquanto isso é virtualmente ausente nas regiões da cripta onde as células estão ativamente se dividindo. Esse padrão de expressão está de acordo com o papel

sinalizador da β -catenina em manter a propriedade das células tronco e controlar a diferenciação no intestino. Estudos em ratos indicam que a ativação dos sinais reguladores negativos como MYC, TCF1 e ciclina D1 é necessária para manter a capacidade proliferativa³⁰. Movendo-se ao longo do eixo cripta-vilosidades, um aumento na expressão do APC impede a sinalização da β -catenina e permite a diferenciação. A ativação da sinalização da β -catenina por mutações no APC é, portanto, provável que vá resultar num aumento do compartimento das células tronco e diminuição da diferenciação²⁸.

Entretanto, o APC mutado não tem um papel desregulador na via Wnt limitado apenas aos estágios iniciais da seqüência adenoma-carcinoma. A β -catenina nuclear marcada se correlaciona fortemente com o tamanho do tumor e com a displasia, e altos níveis de β -catenina nucleares têm sido achada nas linhas de frente dos adenocarcinomas. Assim, a progressão de um adenoma inicial para um carcinoma invasivo é associado com um aumento progressivo dos níveis de β -catenina. De acordo com esses dados, diversos sinais reguladores negativos da via sinalizadora APC/ β -catenina como o MYC, matrilisina, CD44 e receptor ativador da uroquinase tipo plasminogênio, mostram correlações similares com a progressão tumoral e têm sido implicados no grau de invasão e metástases²⁸.

Recentemente, demonstrou-se que a terminação-C do APC está envolvida na estabilidade cromossomal e mitose. O APC se localiza no cinetócoro na metáfase e essa localização provavelmente depende da interação entre o APC e a EB1. Em concordância, essas células com APC mutante têm abundantes fusos de microtúbulos que falham em se conectar aos cinetócoros e são caracterizados

pela inabilidade do cromossomo. Além do mais, células que perderam a função dos dois alelos do APC têm centrômeros supranumerários, um possível defeito que não está relacionado à função de captura do cinetócoro pelo APC ²⁸.

Então, o APC tem uma dupla função na mitose, uma junção apropriada do fuso mitótico ao cinetócoro e a regulação da divisão do centrômero na interação desse com a tubulina. Enquanto a perda da função matriz levará a uma não-disjunção e tetraploidia, defeitos na divisão do centrômero irão resultar em células mitóticas com fusos multipolares que aplicam forças multidirecionais ao cinetócoro, resultando em quebra e fragmentação do cromossomo ²⁸.

Em um estudo sobre as perdas cromossomais em cânceres colo-retais em humanos, observou-se uma dicotomia similar: enquanto aproximadamente 40% das perdas eram resultantes de uma não-disjunção mitótica, em mais da metade dos casos, as fusões entre diferentes cromossomos eram provavelmente derivadas de quebras em *double-strand* (em tradução livre, dupla-margem) e recombinação intercromossomal ²⁸.

6. PATOGÊNESE

Pacientes com mutações germinativas do APC não desenvolvem necessariamente CRC (câncer colo-retal), essas pessoas simplesmente possuem um risco muito maior do que a população em geral para que isso ocorra ⁵.

Estudos epidemiológicos sugeriram fortemente que a dieta pode influenciar a incidência de CRC. Contudo, os hábitos alimentares são tão complexos que é difícil determinar que componentes da dieta são responsáveis por essa modulação. A descoberta da MOM1 suporta essa ideia que lipídios estão entre os componentes alimentares críticos. O conteúdo lipídico da dieta varia dramaticamente, talvez explicando as diferenças geográficas nas incidências do CRC e as altas taxas de câncer colo-retal associado com dietas que contenham grandes quantidades de carne vermelha ³¹.

Como as mutações no APC inicia a tumorigênese colo-retal? Dos aproximadamente 100.000 genes no núcleo humano, por que a mutação de um, apenas um gene leva ao desenvolvimento da polipose? E por que pacientes com tais mutações herdadas não desenvolvem câncer em outros órgãos, apesar do fato do APC ser tão amplamente expresso? Especulou-se que um único gene, o *apc*, age como um “sentinela” da proliferação do epitélio e que a inativação desse sentinela é necessária para a proliferação da rede celular. Normalmente, genes sentinelas são responsáveis por manter um número constante de células em

renovação, certificando-se que as células respondam apropriadamente à situações que requerem o crescimento da rede celular (ex.: dano celular). Uma mutação no sentinela leva a um permanente desequilíbrio na divisão e na morte celular. Ao contrário, mutações em outros genes na presença de genes supressores tumorais normais não levam a uma perturbação do crescimento sustentável⁵.

O que acontece se mutações de outros genes envolvidos no CRC ocorrem antes das do APC? Aparentemente, tais mutações não iniciam eficientemente o processo neoplásico. Um exemplo é dado pelo supressor de tumores p53, que estão geneticamente alterado em mais de 80% dos tumores de colo e reto. Ainda, pacientes com mutações germinativas do p53 não desenvolvem polipose e, de fato, não têm risco aumentado de desenvolver esse tipo de câncer. Portanto, embora esteja claro que o p53 tem um papel na tumorigênese colo-retal, é igualmente claro que ele não pode iniciar o processo de um modo similar ao APC⁵.

Pode ser argumentado que a proteína p53 não é expressa no epitélio colo-retal normal e não é, presumivelmente, envolvida no controle do equilíbrio normal entre a morte e o nascimento das células colônicas. Portanto, a mutação do p53 numa célula do epitélio do colo normal pode não ter nenhum efeito fisiológico. Ao contrário, a proteína RAS é expressa no epitélio colônico normal, e mutações no RAS freqüentemente ocorrem em tumores de colo assim que eles progridem. Então, o que ocorre se a mutação do RAS ocorre na célula epitelial normal? Interessantemente, tais mutações não parecem levar a uma neoplasia colo-retal.

Células com mutações no gene RAS são extremamente comuns e forma focos de células hiperproliferativas. Mas essas células tem uma organização extra e intercelular normal, ao contrário de células displásicas com genes APC mutados. Além do mais, as células hiperplásicas contendo genes RAS mutantes, ao contrário das que tem genes mutantes APC, tem pouco ou nenhum potencial para formar tumores importantes clinicamente e podem eventualmente regredir para apoptose ⁵.



Fig. 6: Histologia normal e neoplásico do epitélio colônico.

Tais estudos sugerem que não é a simples acumulação de mutações, o que importa mais é a ordem em que elas acontecem para que ocorra a propensão para a ocorrência de neoplasia, e que apenas uma falha dos genes que afetam o crescimento celular podem realmente iniciar o processo neoplásico. Embora o APC seja expresso amplamente, ele pode funcionar como um sentinela no epitélio colo-retal. Em outros tipos de células, a sua função pode ser redundante ou menos dispendioso, diferentes produtos gênicos provavelmente fazem o papel de sentinela. Outros potenciais sentinelas incluem o gene NF1 das células de Schwann, o gene RB no epitélio da retina e o gene VHL nas células do rim ⁵.

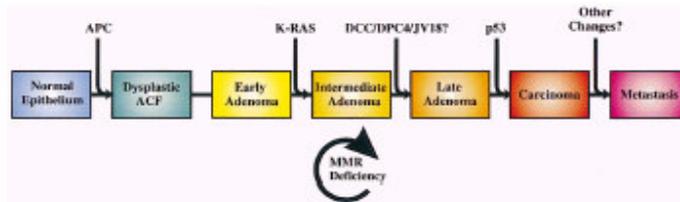


Fig. 7 - Mudanças genéticas associadas com a tumorigênese colo-retal: mutações no APC iniciam o processo neoplásico e o progresso tumoral resulta de mutações nos outros genes indicados. Pacientes com mutações hereditárias da FAP podem desenvolver numerosos focos aberrantes displásicos, e alguns deles progredem assim que eles adquirem outras mutações indicadas na figura.

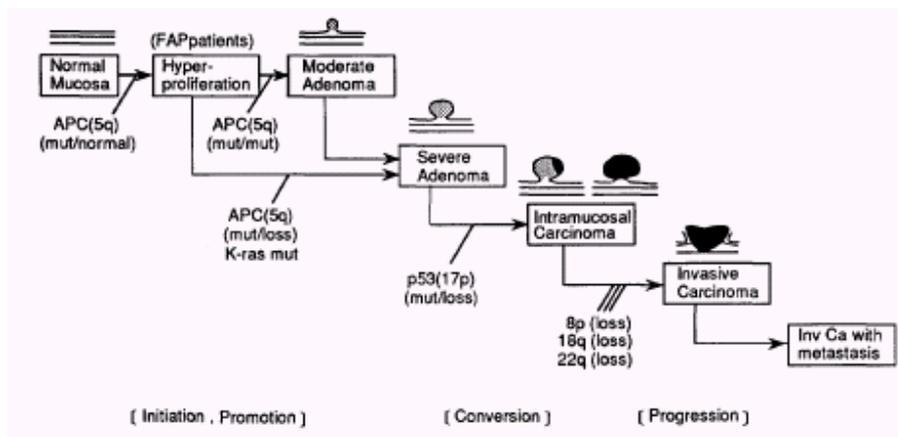


Fig. 8 – Mecanismos da carcinogênese colo-retal em pacientes com e sem FAP, na seqüência de adenoma para carcinoma.

6.2 Modelos da função do APC na tumorigênese colo-retal

Apesar dos avanços na identificação dos domínios funcionais do APC, as conseqüências das mutações do APC para a função protéica e no fenótipo da doença não são ainda bem entendidos. Vários modelos têm sido descritos tentando explicar como as mutações do APC levam ao crescimento de tumores colo-retais. Com base nas evidências correntes, nenhum modelo sozinho podem explicar todos os achados ²⁷.

Hipótese de Knudson

A mais notável natureza do gene supressor tumoral é que a inativação do gene é freqüentemente causada pela LOH na região cromossomal que inclui esse gene. Inativação de ambos alelos do gene supressor tumoral por dois eventos foi formulada por Knudson em 1971 para a tumorigênese do retinoblastoma hereditário, em que tumores da forma hereditária ocorrem por meio de uma segunda mudança genética nas células do retinoblastoma que já tinha o primeiro evento por hereditariedade, enquanto tumores esporádicos desenvolvem-se por meio de duas mudanças genéticas que ocorrem na mesma célula do retinoblasto. Portanto, quando uma mutação adicional ocorre somaticamente no outro alelo normal (segundo evento), causando perda de função no gene de supressão tumoral, isso levaria à formação de um tumor ²⁰. O grande número de tumores que podem ser analisados em estágios precoces no FAP proporcionou o tipo de evidência direta para suportar essa hipótese. Contudo, a existência de MCR, a

associação entre o primeiro e o segundo evento, a existência do terceiro evento, a relativa baixa frequência do CRC (câncer colo-retal) com ambos alelos do APC nulos, tudo isso sugere uma simples perda de função subótima para a tumorigênese. Assim, o seletivo modelo de perda de função propõem que as proteínas APC promovem tumorigênese mais efetivamente se elas retêm alguma função amino-terminal ²⁷.

Ainda não está claro porque algumas funções N-terminais estão normalmente preservadas em células tumorais. Um problema nessa análise é que algumas proteínas truncadas, como aquelas que terminam muito perto do códon 1300, são mais estáveis que outras. Assim, uma mutação no códon 1309 deve ser selecionada, não muito por sua posição precisa em domínios funcionais, mas mais por sua estabilidade. Apesar desse fator de confusão, parece provável que a perda bi-alélica das funções N-terminais é menos desvantajosa ou até menos deletéria para as células colônicas tumorais ²⁷.

Função Dominante Negativa

Embora a evidência de que o APC seja um oncogene é bastante limitada, sua ação como um homodímero sugere que uma mutação dominante negativa pode ocorrer. Sustentando esse modelo, há a observação que a transcrição mediada pela β -catenina/TCF é fortemente inibida pela adição de um mutante truncado do APC no códon 1309, enquanto mutantes truncados nos códons 386 ou 1456 levam a um efeito mais moderado na atividade do APC do tipo selvagem. Estudos em enterócitos de neoplasias intestinal múltipla em ratos (um modelo de FAP) mostraram uma reduzida migração nas células portadoras de apenas um

alelo mutante do APC e o epitélio intestinal normal mostravam elevadas taxas de fissura nas criptas. Contudo, um modelo de simples dominância negativa implica que o primeiro evento ou evento germinativo é suficiente para que a tumorigênese ocorra, e não explica a presença do segundo evento, ou o evento somático usualmente observado nos adenomas. Esse modelo, ainda, não explica a existência de pacientes com FAP com deleções citogenéticas envolvendo o APC ou a falta de tumores intestinais em camundongos transgênicos que tinham altos níveis de expressão de APC truncado no epitélio intestinal ²⁷.

Dosagem gênica / Haploinsuficiência

Uma possibilidade interessante é que, sob certas circunstâncias, não seriam necessárias duas mutações no APC para iniciar o crescimento tumoral. Isso pode ser devido a efeitos dominantes negativos ou pelo modelo de dosagem gênica/haploinsuficiência. Esse modelo é consistente com o fracasso em achar o segundo evento em muitos pólipos iniciais com FAP, um fenômeno normalmente encontrado com o uso de técnicas limitada. Uma possibilidade intrigante é que a tumorigênese ocorra somente se os níveis de APC desçam até certo limiar. Normalmente, apenas uma cópia do APC já é suficiente para manter níveis de proteínas acima desse limite, mas em certos momentos – talvez durante um rápido crescimento ou reparo celular – um único alelo do tipo selvagem não pode produzir suficiente quantidade de proteínas funcionais, pois apenas um quarto dos dímeros serão constituídos de duas proteínas normais ²⁷.

Estabilidade genômica

Recentemente, tem sido proposto para o APC uma função na estabilidade genômica. O domínio que faz a ligação dos microtúbulos pode funcionar na segregação cromossômica e a maioria das mutações truncadas do APC causam perda dessa região da proteína. Contra essa hipótese, existe o fato de que adenomas iniciais da FAP parecem ser quase diplóides e que vários CRC esporádicos com mutação no APC não tem instabilidade cariotípica ²⁷.

Genes Modificadores

Variações no fenótipo da doença entre membros da mesma família com FAP é freqüentemente visto. No modelo animal para FAP, que portam gene APC mutante e desenvolvem vários adenomas intestinais, uma variação dramática no número de tumores levam à identificação do gene Mom1. Um bom candidato para ser o gene correspondente em humanos é da fosfolipase A2, mas o gene PLA2G2A não abriga nenhuma variante funcional conhecida. Há, contudo, uma boa evidência para a existência desses genes modificados em humanos ²⁷.

7. MUTAÇÕES

Um oncogene (KRAS) e três genes supressores tumorais (APC, SMAD4, Tp53) são os principais alvos das mudanças genéticas²⁹ ocorridas na FAP e decorrente CCR. Pelo menos uma seqüência de quatro mudanças genéticas precisam ocorrer para promover a evolução até a carcinogênese²⁷ (fig. 9).

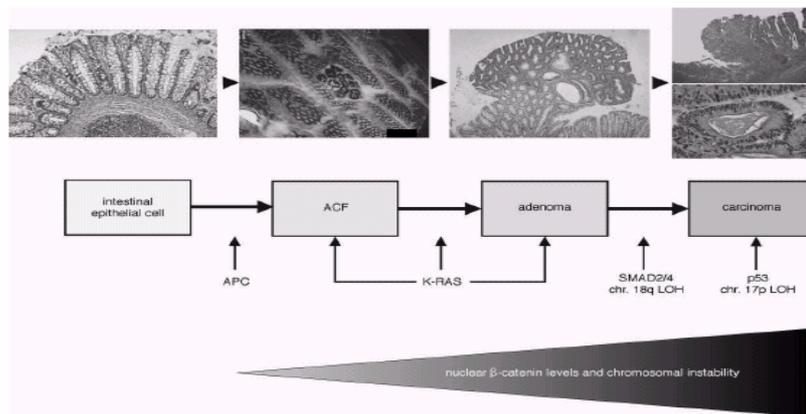


Fig. 1. Sequential genetic changes leading to the evolution of colorectal cancer. chr, chromosome; LOH, loss of heterozygosity.

Fig. 9

Em particular o gene APC parece ser o responsável por desencadear a cascata de eventos que eventualmente levam a transformação maligna no intestino grosso²⁹.

O polimorfismo do APC predispõe a mutações. A inativação do gene APC é geralmente um dos eventos mais precoces na tumorigênese colo-retal³². A alta frequência de perda na região do cromossomo 5 que inclui o gene APC (5q21)

sugere que a perda da heterozigose desse gene esteja envolvida na carcinogênese do cólon nos pacientes com FAP²⁰.

Até 1996, já tinham sido identificadas 737 mutações no gene APC, das quais 332 são germinativas e 402 somáticas³³. As mutações germinativas do gene APC são as responsáveis pela ocorrência de FAP, e as mutações somáticas são as que levam à transformação maligna dos adenomas²⁷. Quase todas levam à formação de uma proteína APC truncada, ou seja, com perda de função, e ocorrem tanto por mutação *nonsense* (30%) como por mutação *frameshift* (68%)³³. A maioria ocorre na primeira metade da região codificadora do gene. As mutações germinativas predominam na mutado 5´do prime, enquanto que as somáticas ocorrem principalmente na região chamada *mutation cluster region* (MCR), entre os códons 1284 e 1580 do gene³³. Nas mutações germinativas, 2 códons hotspots foram identificados, um na posição 1061 e outro na posição 1309. nas mutações somáticas também se identificou 2 hotspots, nas regiões 1309 e 1450³³.

Algumas definições:

Mutação germinativa: é uma mutação herdada que está presente em todas as células do organismo²⁷.

Mutação somática: mutação ocorrida em qualquer célula do corpo, excetuando os gametas²⁷.

Mutação *nonsense*: é a substituição de uma base única do DNA que resulta em um códon e terminação de cadeia³⁴.

Mutação *frameshift*: é uma mutação que envolve uma deleção ou inserção que não seja um múltiplo exato e três pares de base e, portanto, muda a estrutura de leitura do gene a partir da mutação ³⁴.

Hotspots: locais onde preferentemente ocorrem as mutações ³⁴.

Códon 1309: essa região contém a repetição AAAAG. O evento mutacional mais freqüentemente descrito nessa região é a deleção de 5 pares de bases levando à formação de um *stop* códon logo após a deleção. Sete eventos mutacionais podem levar à seqüência mutada. Não se sabe qual desses eventos é a origem da mutação, e se condiciona que cada evento possa ser diferente de um tumor para outro ³⁵. Essa mutação pode ocorrer também nos códons 1308, 1307 ou 1306.

Códon 1061: essa região contém a repetição AAAAC. O evento mutacional mais freqüentemente descrito nessa região é também uma deleção de 5 pares de bases levando à formação de um *stop* códon logo após a deleção. Quatro diferentes eventos mutacionais podem levar à seqüência mutada ³⁵.

Códon 1462: essa região contém uma série de repetições AG. Tanto deleções AG (mais freqüentes) como GAG (menos freqüentes) foram observadas. O evento mutacional descrito mais freqüentemente nessa região é a deleção de 2 pares de bases. Cinco diferentes eventos mutacionais podem levar a seqüência mutada ³⁵.

7.1 MUTAÇÕES GERMINATIVAS

Mutações germinativas do gene APC foram descritas como causadoras da FAP, e resultam em fenótipos que diferem em penetrância, severidade dos pólipos e expressão de características extra colônicas. Entretanto, a maioria dos pacientes com FAP portam mutações germinativas na extremidade 5' do gene APC. Dois códons, 1061 e 1309, são hotspots mutacionais e representam aproximadamente 11% e 17% de todas as mutações germinativas até então encontradas. Aproximadamente 95% das mutações germinativas são *nonsense* (28%) ou frameshift (67%)²⁷.

7.1.1 Fenótipos associados com mutações germinativas

- FAP clássica

É altamente penetrante. Mutações germinativas entre os códons 168 e 1680 são associadas com FAP clássica, enquanto mutações germinativas entre os códons 1250 e 1464, principalmente perto do códon 1300, são associadas com maior números de pólipos (fig. 10)²⁷.

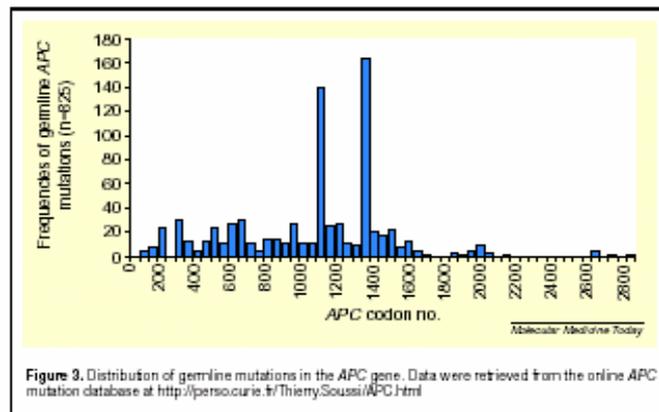


Fig. 10

- Características extra-colônicas

A expressão de algumas características extra colônicas se correlacionam com mutação germinativas específicas do APC.

Hipertrofia congênita do epitélio pigmentado da retina (CHRPE, do inglês *hypertrophy of the retinal pigment epithelium*) é associado com mutações germinativas entre os códons 457 e 1444, mas é também descrita em pacientes com mutações germinativas no exon 9. Mutações entre 1395 e 1560 se relacionam com alta freqüência de osteoma mandibular e tumores desmóides²⁷.

- FAP atenuada

Esse fenótipo é associado com mutações germinativas ocorrendo na região 5` (códons 78-167) e 3` (aproximadamente do código 1581 ao 2843) do gene APC no exon 9.

A penetrância do AAPC (do inglês *Attenuated Adenomatous Polyposis Coli*), embora menor que no FAP, pode continuar elevada. Um fenótipo atenuado

também tem sido reportado em algumas famílias com a deleção completa de uma cópia do gene APC.

Associações genótipo-fenótipo podem ser consequência da perda de “net LOSS” de territórios causada por mutações germinativas, e parece serem influenciadas por um série de fatores genéticos e ambientais como indivíduos com mutações germinativas idênticas no APC desenvolverem fenótipos diferentes ²⁷.

7.1.2 Variações germinativas *missense* do APC

- Uma mutação *missense* 11307K encontrada em pacientes com uma história familiar menos definida e câncer colo retal foi recentemente revelada. Essa mutação consiste em uma transverso de T para A que cria um extenso trato mononucleotídeo (A)₈, (ao invés de AAATAAAA). Mais do que alterar a função da proteína codificada (mutações *missense* são aquelas em que a mudança do códon se deve à mudança de um aminoácido específico por outro ³⁴), a mutação parece resultar em hipermutabilidade nessa região do gene, indiretamente causando predisposição ao câncer. Essa mutação pode representar o polimorfismo mais comumente associado ao câncer até então conhecido em uma população específica, no caso judeus Ashkenazim, presente em 6% do geral dessa população e em 28% dos que possuem história familiar de câncer retal ³². O risco relativo de câncer colo-retal nos portadores dessa mutação é apenas 1.5-2.0. A mutação 11307K se encontra num sítio nos quais as mutações germinativas são associadas com FAP muito severo ²⁷.

- Outra variante *missense*, E1317Q é associada com múltiplos adenomas colo-retais. Essa é muito mais comum que a 11307K, e ainda não tem efeito claro de hipermutabilidade. Limitadas evidências sugerem que essa mutação tenha efeitos diretos sobre a função do APC, talvez por efeito sutil no seqüestro de β -catenina ou degradação ²⁷.

7.2 MUTAÇÕES SOMÁTICAS

A existência de mutações somáticas em adenomas de pacientes tanto FAP como não FAP sugere que a inativação do gene APC por duas mutações esteja geralmente envolvida no desenvolvimento do adenoma. Futuro desenvolvimento do adenoma em carcinoma avançado é associado com perda de heterozigose (LOH) do gene APC e inativação adicional de múltiplos genes supressores de tumor(possivelmente através de mutação e LOH) ²⁰.

Na maioria dos tumores FAP, o segundo alelo do APC é também acometido por outra mutação ou, menos freqüentemente, é perdido. Conseqüentemente, o APC tem sido definido como um gene supressor de tumor. De acordo com esta definição está a observação de que a maioria dos cânceres colo-retais esporádicos também carregam duas mutações inativadoras do APC. A mutação de ambos alelos do APC parece ser o passo inicial na tumorigênese colo-retal no FAP e, nesse contexto o APC pode ser classificado como um gene sentinela. A

inativação do alelo tipo selvagem pode alterar o ambiente celular, e tão logo não exista mais homodímeros do APC tipo selvagem presente, ocorre promoção de tumorigênese^{20,27}.

Tanto nos casos familiares quanto esporádicos, as mutações somáticas são principalmente confinadas a metade 5' do gene. Entretanto, diferente das mutações germinativas, quase 80% das mutações somáticas são concentradas entre os códons 1284 e 1580, na MCR. Três hotspots mutacionais somáticos ocorrem nos códons 1309, 1450 e 1554, correspondendo a aproximadamente 7%, 8% e 5% de todas as mutações somáticas, respectivamente²⁷.

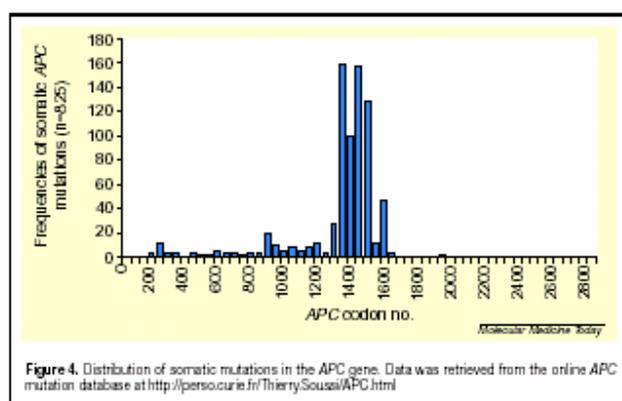


Fig 11

A maioria dos pontos mutacionais germinativos e somáticos são transições nos dinucleotídeos CpG, levando a desaminação da citosina metilada em ambas fitas de DNA. Portanto, transições C para T e G para A podem ocorrer em razões iguais. Entretanto, essencialmente no APC todos os pontos de mutação são transições C para T, sendo a maioria (97%) no CGA, gerando o *stop* códon TGA.

Esses achados em combinação com a distribuição observada de mutações germinativas e somáticas do APC sugerem que um passo em direção da tumorigênese é a perda ou alteração da ligação da β -catenina e territórios de regulação e territórios *downstream* dessa região ²⁷.

7.3 ASSOCIAÇÕES ENTRE MUTAÇÕES GERMINATIVAS E SOMÁTICAS DO APC

Análise das mutações somáticas incluindo a perda do alelo em adenomas colo-retais precoces de pacientes AAPC e FAP revela uma interessante correlação com a posição da mutação germinativa do APC. Mutações germinativas próximas ao códon 1300 estão associadas com perda do alelo APC tipo selvagem. Em contraste, pacientes com mutações germinativas 3' e 5' para essa região predominantemente mostram segundos eventos truncados na região cluster de mutação ²⁷.

Esses achados provavelmente refletem as diferentes vantagens seletivas, como a promoção do crescimento tumoral, que diferentes mutações do APC promovem, com mutações no MCR. Especialmente nas mutações que ocorrem em torno do códon 1300 se observam as maiores vantagens seletivas ²⁷.

Um estudo ³⁶ mostrou que, dentre as mutações somáticas, 71% era *frameshift*, sendo 58% de deleções e 13% inserções, todas levando à formação de *stop*-códon. Os outros 29% eram mutações pontuais *nonsense*, das quais 65% eram transcrição de GC para AT, com a maioria ocorrendo no CpG. Das mutações

germinativas, 62% eram *frameshift*, com 55% Por deleções e apenas 7% por inserções. Os demais 38% eram mutações pontuais *nonsense*, sendo 76% transcrição de GC para AT.

7.4 MUTAÇÕES DA β -CATENINA E APC

Mutações em ambos APC ou β -catenina sabidamente levam a tumorigênese. Embora não haja evidência de que mutações germinativas na β -catenina predispõem a tumores colo-retais, alguns cânceres de intestino apresentam mutações no exon 3 da β -catenina sem terem mutações no APC. Esses dados sugerem que mutações no exon 3 da β -catenina possam substituir parcialmente as mutações no APC, mas mutações adicionais são necessárias para que o adenoma com mutação na β -catenina progrida para carcinoma ²⁷.

7.5 HISTÓRICO DAS MUTAÇÕES

Será apresentado a seguir um breve histórico dos principais estudos que promoveram a evolução da elucidação da FAP até o momento.

Ashton-Rickardt et al, 1989³⁷

Indicou que a perda do locus APC é responsável pela maioria das contribuições ao processo de malignidade.

Miyoshi et al, 1992³⁸

Estudou mutações germinativas no APC em 79 pacientes com FAP sem parentesco. Encontrou mutações em 53 pacientes (67%); 28 dessas mutações eram pequenas deleções e duas eram inserções de um ou dois pares de base; 19 eram mutações pontuais que resultavam em *stop*-códon e apenas 4 eram mutações *missense*. Noventa e dois por cento de todas as mutações resultavam em proteína APC truncada. Sessenta e oito por cento estavam concentradas na metade 5' do exon 15 e aproximadamente 2/5 ocorriam em uma das cinco posições. Foi importante para elucidar o papel da mutação do APC na neoplasia colo-retal.

Miyoshi et al, 1992³⁹

Descreveu a perda de heterozigose (LOH) do locus APC em tumores somáticos e encontrou que mais de 80% dos tumores tinham ao menos uma mutação no gene APC, sendo que mais de 60% tinham duas mutações. Esse estudo sugeriu fortemente que mutações somáticas no APC estão associada com o desenvolvimento da grande maioria dos tumores colo-retais.

Fodde et al, 1992 ⁴⁰

Confirmou que a FAP é causada por um espectro altamente heterogêneo de mutações pontuais. Todas as mutações encontradas nesse estudo eram de terminação de cadeia.

Fearon and Vogelstein, 1990 ⁴¹

Sugeriram um modelo genético para CRC onde o acúmulo seqüencial de mutações em genes específicos, incluindo APC, KRAS e Tp53, levam a transição do epitélio colônico normal através de adenomas para CRC.

Smith et al, 2002 ⁴²

Testou esse modelo e encontrou que apenas 6% dos tumores tinham mutações em todos os três genes, com 38% dos tumores tendo mutação em apenas um dos genes. A combinação mais comum de mutação foi no Tp53 e APC (27%), enquanto que mutações em ambos KRAS e Tp53 eram extremamente raras.

Nagase and Nakamura, 1993 ⁴³

Analisou as mutações germinativas do APC em 147 pacientes com FAP e mutações somáticas em 103 tumores colo-retais. Concluiu que a inativação de ambos alelos do locus APC é necessária para o desenvolvimento da maioria dos tumores do colo e reto.

Beroud and Soussi, 1996³³

Descreveu o database de mutações germinativas e somáticas do APC em tumores humanos e linhagens celulares. Ele numerou 737 mutações, das quais 332 eram germinativas e 402, somáticas. Quase todas levam à formação de proteína APC truncada tanto por mutação *nonsense* (30%) como por mutação frameshift (68%). A maioria das mutações ocorreram na região codificadora do gene. Mutações germinativas ocorreram principalmente na metade 5´do prime, enquanto mutações somáticas (60%) se concentraram na MCR.

Marshall et al, 1997⁴⁴

Acho que deleção de um a dois pares de bases e inserção de um par de base são muito mais comuns entre mutações somáticas do APC do que entre mutações germinativas. Por outro lado, deleções de mais de dois pares de bases são muito mais freqüentes em mutações germinativas do que em somáticas. Inserções de mais de um par de base são mais comuns em mutações somáticas.

Laken et al, 1997¹³

Descreveu um novo mecanismo para a predisposição ao câncer colo-retal envolvendo ponto de mutação 3920T-A. A mudança converte a seqüência AAATAAAA em (A)8 e pode resultar em falha na transcrição celular ou na maquinaria transcricional. A mutação foi encontrada em 6% dos judeus ashkenazi em torno de 28% dos com história familiar de câncer colo-retal.

Su et al, 2000 ⁴⁵

Investigou o mecanismo do AAPC em pacientes que portam um alelo mutado do APC com uma mutação na região do exon 9 alternativamente unida (*spliced*) designada APC-AS9. Os portadores dessa mutação desenvolvem menos tumores colo-retais porque a inativação somática dos dois alelos do APC é necessária para a tumorigênese.

Lamlum et al, 1999 ⁴⁶

Mostrou que o APC atua de forma não-clássica como gene supressor tumoral. O sítio das mutações germinativas determinam o tipo de segundo evento em tumores FAP, e a inativação de uma simples proteína é fracamente selecionada. Pacientes com mutação germinativa próxima ao códon 1300 tendem a adquirir seu segundo evento por perda do alelo e sofrem doença mais severa. Outros pacientes com FAP tendem a adquirir seu segundo evento por mutação truncada no MCR.

Lamlum et al, 2000 ⁴⁷

Encontrou variantes germinativas em aproximadamente em 10% dos pacientes com múltiplos adenomas. Por isso, recomendam o screening também das principais variantes, que são as mutações *missense* E1317Q e I1307K (se for descendente Ashkenazi) e, se tiver história familiar de CRC, se deve pesquisar também as mutações truncadas no exon 9 e códon 1580.

8. CORRELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO

Apesar existirem algumas correlações entre o sítio de mutação e o fenótipo, não se explica toda a variação observada ³². O estabelecimento das correlações genótipo-fenótipo na FAP são freqüentemente complicadas pela grande variação clínica observada entre os portadores de alguma mutação do APC, mesmo entre membros da mesma família. Essa variabilidade parece surgir de uma interação entre genética e fatores ambientais ¹⁴.

Algumas correlações já estão bem estabelecidas:

- FAP atenuada é relacionada com mutação na porção 5' (5' para o códon 158), exon 9, e na extremidade distal 3' do gene APC ⁶.
- A mutação mais freqüente no gene APC está localizada no códon 1309, e está associada com elevado número de adenomas colônicos que se desenvolvem em idade precoce. A análise de alguns pacientes com sintomas colônicos revelou que os pacientes com mutação no códon 1309 se apresentavam com uma média de idade de 20 anos, os indivíduos com mutações entre os códons 168-1580 (excluindo o 1309) se apresentavam com sintomas numa média de idade de 30 anos, e indivíduos com mutação 5' do códon 168 e 3' do códon 1580 se apresentavam com uma idade média de 52 anos ⁴⁸.
- Pólipos profusos (em média 5000 polipos) foram associados com mutações nos códons 1250-1464 ⁴³.

- Um estudo retrospectivo de 190 pacientes com FAP mostrou que indivíduos com mutações nos códons 1395-1493 têm taxas significativamente maiores de tumores desmóides, osteomas, e cistos epidermóides quando comparados àqueles com mutações entre os códons 177-452. Além disso, os pacientes com mutações entre os códons 1395-1493 têm taxas significativamente maiores de tumores desmóides e osteomas que os com mutação nos códons 457-1309. dos pacientes com mutação entre os códons 177-452, nenhum desenvolveu osteoma, hepatoblastoma, tumores de região periampolar, ou tumores cerebrais. Hepatoblastoma e câncer cerebral foi observado apenas nos pacientes com mutação entre os códons 457-1309 ⁴⁹.
- A presença de HCPER é associada com mutação entre os códons 463-1387 ⁵⁰ e mutações entre os códons 1444-1578 são associadas com ausência de HCPER ⁵¹.
- Mutações entre os códons 463-1580 são associadas com maior incidência de tumores desmóides. Nesse estudo foram achados esses tumores em 20% dos pacientes com mutação na porção 5´do códon 1444, em 49% dos com mutação na porção 3´do códon 14444, e em 61% dos com mutação entre os códons 1445-1580. ⁴⁸. Várias famílias com tumores desmóides severos com mutação na extremidade 3´final do gene APC foram descritas ⁵².
- A análise de 24 pacientes com câncer de tireóide e FAP revelou que a maioria das mutações são identificadas na porção 5´do códon 1220 ²².

Modelos animais

Para elucidar questões ainda obscuras quanto à correlação genótipo-fenótipo, modelos animais em camundongos estão sendo usados para determinar os efeitos de mutações específicas no APC. Os principais modelos usados em um estudo ¹⁴ foram os seguintes:

- APC^{min} – representa o modelo para neoplasia intestinal, que porta uma mutação *nonsense* no códon 850, que gera uma proteína APC truncada. Em heterozigose, esses animais desenvolveram mais de 100 tumores intestinais cada um. A maioria teve perda do alelo APC tipo selvagem. Em homozigose, essa mutação levou à morte embrionária.
- $APC^{\Delta 716}$ – Nesse modelo, se introduziu neomicina no códon 716, também resultando em proteína APC truncada. Essa mutação leva a um elevado número de adenomas gastrintestinais (200-500). Nesse caso, também a maioria teve perda do alelo APC tipo selvagem. A homozigose também resultou em morte embrionária.
- APC^{1638N} – Nesse modelo se introduziu neomicina no códon 1638 em orientação transcional oposta ao gene APC. Não se verificou inativação completa do gene APC. Em 75% dos casos, se observou perda do alelo tipo selvagem. Os tumores ficaram concentrados no estômago e intestino delgado. Homozigose foi embrionariamente letal.
- APC^{1638T} – Nesse modelo, se inseriu higromicina no códon 1638. Essa mutação leva a perda da estabilidade cromossômica, mas não é

suficiente para gerar tumor. A homozigose é compatível com a vida, e não demonstra suscetibilidade aumentada para carcinogênese.

A análise comparativa dos modelos animais consolidou a correlação genótipo-fenótipo inicialmente proposta para o gene APC humano na FAP. A mutação do APC humano mais severa resulta em proteína APC truncada estável, assim como no Min e APC^{Δ716}, mostrando a maior multiplicidade de tumores intestinais. Inversamente, mutações na terminação 5' e metade 3' do gene, embora também predigam proteína truncada, resultam em níveis indetectáveis de proteínas truncadas, similarmente ao modelo APC 1638N. em ambos homem e camundongo essa haploinsuficiência leva a risco aumentado de manifestações extra-intestinais associadas com reduzida multiplicidade de tumores intestinais.

9. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico precoce é importante para a detecção e prevenção antecipada do câncer. O rastreamento regular deve começar em adolescentes jovens, pois quando a FAP é detectada precocemente, o tratamento quase sempre será efetivo. Além do mais, exames freqüentes e antecipados podem tranquilizar uma pessoa sem pólipos de que ela não possui a desordem embora seus parentes a tenham ⁵³.

O diagnóstico de FAP se baseia primariamente em achados clínicos ⁶.

9.1 DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Os pólipos adenomatosos são, em sua maioria, assintomáticos, embora possam causar hematoquezia. Podem ser diagnosticados após a detecção de perda de sangue oculto em indivíduos assintomáticos submetidos à triagem para o câncer de cólon ²⁵.

Na anamnese, é importante investigar a presença de diarreia dor abdominal e história familiar positiva para câncer de cólon. É importante o exame de fundo de olho em pacientes integrantes de famílias portadoras do HCPER, pois essa condição pode ser detectada ao nascimento, sendo capaz de identificar indivíduos suscetíveis em idade precoce ⁴.

Vários exames estão disponíveis para detectar a presença de pólipos:

- **Sigmoidoscopia flexível:** é o primeiro teste usado para examinar o interior da parte distal do cólon. É feito com um tubo luminoso, flexível e oco chamado sigmoidoscópio, que é inserido no ânus. Ele permite determinar se pólipos ou câncer estão presentes. No momento da sigmoidoscopia, uma pinça de biópsia pode ser inserida pelo sigmoidoscópio para remover um pedaço de tecido para exame microscópico. A maioria dos pacientes sentem pouco ou nenhum desconforto durante o exame ⁵³.
- **Colonoscopia:** é um exame que utiliza um tubo flexível, luminoso, o qual permite a visualização de um segmento maior do que o permitido pela sigmoidoscopia. Tecidos podem ser removidos de qualquer parte do cólon para estudo microscópico durante esse procedimento. Em alguns casos, o paciente recebe sedativos antes do exame, e sente pouco ou nenhum desconforto ⁵³.
- **Enema baritado:** é um teste no qual uma solução de bário é inserida como enema no cólon. Permite que o mesmo seja delineado à radiografia. Se os pólipos estiverem presentes, eles poderão ser vistos no raio-x. Esse exame pode causar uma sensação de plenitude e não deve ser realizado em gestantes devido ao risco de radiação ao feto ⁵³.

A FAP é clinicamente diagnosticada em indivíduos com:

- Mais de 100 pólipos adenomatosos ou colo-retais ou
- Menos que 100 pólipos adenomatosos e um parente com FAP ⁶.

A FAP atenuada é clinicamente diagnosticada em indivíduos com:

- Muitos pólipos adenomatosos colônicos ou
- História familiar de câncer de cólon em pessoas com menos de 60 anos com múltiplos pólipos adenomatosos ⁶.

Outras características variáveis podem ajudar no diagnóstico clínico de FAP ou FAP atenuada, tais como pólipos gástricos, pólipos adenomatosos duodenais, osteomas, anormalidades dentais (dentes supra numerários ou odontomas), hipertrofia congênita do epitélio pigmentado da retina, tumores de tecidos moles (cistos epidermóides e fibromas), tumores desmóides e cânceres associados. A presença desses achados pode ser sugestiva de FAP apesar de não serem incluídos no critério diagnóstico ⁶.

9.2 TESTE GENÉTICO MOLECULAR

A recente identificação e clonagem dos genes responsáveis pela Polipose Adenomatosa Familiar, juntamente com os genes para suscetibilidade a outros cânceres de cólon, levou à ampla disponibilidade de testes genéticos para o câncer colo-retal hereditário. Os testes genéticos prometem um melhor controle do câncer, pois permitem a tomada de medidas preventivas com bases científicas ⁴. O teste genético envolve questões clínicas, éticas, legais e psicossociais que devem ser seriamente consideradas; portanto, os médicos devem estar

informados da disponibilidade, indicações e procedimentos adequados para solicitar tais exames ⁴.

O teste de genética molecular do APC detecta até 95% das mutações causadoras de doença. Esse teste é mais freqüentemente usado no diagnóstico precoce de membros de famílias de alto risco e na confirmação de diagnóstico de FAP em pacientes com achados equivocados ou indivíduos com menos de 100 pólipos adenomatosos e um diagnóstico duvidoso de FAP ^{4,6}. Quando é identificada uma mutação em uma família, a pesquisa da mesma em outros membros pode ser efetuada rápida, precisa e economicamente ⁴.

A detecção de mutação na FAP é difícil, pois o gene é grande e as mutações conhecidas estão dispersas ao longo dele. Além disso, muitas famílias apresentam suas próprias mutações ⁴.

Os testes são tipicamente realizados no DNA extraído de células brancas de uma amostra de sangue; raramente, o DNA usado é obtido de outras fontes ⁴. Muitos testes baseados em DNA estão disponíveis clinicamente para identificar a mutação básica em uma família. Os principais são o seqüenciamento do gene, o teste da proteína truncada (PTT) e a análise de ligação. No entanto, também podem ser utilizados outros métodos, tais como a combinação de *schanning* da mutação por eletroforese em gel com um teste de proteína truncada ⁶.

9.2.1 SEQÜENCIAMENTO DO GENE

É a técnica usada para detectar alteração da seqüência do gene APC ⁶. Esse é o método mais preciso, apesar de ser caro e consumir muito tempo ⁴.

O seqüenciamento não é 100% sensível (a taxa de detecção de mutação é de 95% ⁶), e pode ser difícil atingir uma especificidade alta, devido à detecção de numerosas alterações simples de aminoácidos (mutações *missense*), que geralmente não causam prejuízo, mas podem ser mutações deletérias ⁴.

Para tirar vantagem da pesquisa de mutações pela técnica de seqüenciamento, outras técnicas para rastrear essas alterações são empregadas, tal como a eletroforese em gel, seguida de seqüenciamento, que é usado para confirmar positivos ⁴.

9.2.2 TESTE DA PROTEÍNA TRUNCADA

O desenvolvimento de testes específicos têm sido facilitado pelo conhecimento de que praticamente a maioria das mutações até hoje descritas resultam em truncagens da proteína APC ⁵⁴.

Esse exame também é chamado de teste da proteína sintetizada in vitro ⁴. Detecta a proteína APC prematuramente truncada ⁶. Como a maioria das mutações no APC geram proteínas truncadas, esse é o melhor teste para FAP. Apresenta sensibilidade de 80% e um custo aproximado de U\$750, valor reduzido para U\$500 no caso da realização do teste em membros da família em que a mutação do gene APC já tenha sido detectada ⁵⁵.

O procedimento é altamente específico para a detecção de códons de parada, portanto para fins de diagnóstico, a etapa de seqüenciamento de ácidos nucléicos pode ser convenientemente omitida. Uma das limitações desse exame é que ele não pode detectar mutações que não sejam de terminação de tradução ⁵⁶.

Os resultados são relatados como positivos se um segmento específico de gene é identificado com a mutação truncada; como negativos quando nenhuma mutação é encontrada em um membro da família em que mutação tenha sido detectada previamente; e como “nenhuma mutação encontrada” se o resultado não excluir a doença quando uma mutação ainda não foi identificada na família ⁵⁷.

9.2.3 ANÁLISE DE LIGAÇÃO (AL)

Em famílias grandes que parecem apresentar câncer colo-retal hereditário, mas em que a mutação deletéria não pode ser encontrada pelos métodos diretos de detecção de mutações, a análise de ligação pode ser empregada para determinar quais indivíduos carregam o alelo deletério ⁴. Os estudos de ligação são baseados em um diagnóstico clínico de FAP nos membros afetados da família e no entendimento preciso das relações genéticas na mesma ⁴. Fornecem uma maneira alternativa que pode ser usada quando existem múltiplos membros afetados disponíveis para amostragem. A técnica pode ser aplicada quando a posição de um gene alterado é conhecida mas o gene em si ainda não foi identificado ⁵⁸.

Os marcadores usados para a análise de ligação da FAP são altamente informativos e intimamente ligados ao locus do APC; então, eles podem ser usados em mais de 95% das famílias com FAP com mais de 98% de precisão ⁶.

A análise de ligação está baseada no fato de que duas regiões de DNA que estão muito próximas segregarão juntas (ficarão ligadas) durante a meiose. São escolhidos microssatélites de DNA sabidamente próximos ao gene em questão. Os microssatélites escolhidos variam de acordo com a extensão exata do nucleotídeo entre os indivíduos, e essa variação (polimorfismo) pode ser facilmente detectada. Indivíduos de uma família que herdaram uma cópia mutante do gene também herdam polimorfismos particulares de microssatélites ligados àquele alelo, enquanto aqueles sem o alelo mutado herdarão variantes diferentes do microssatélite. Através da descoberta de qual variante um determinado indivíduo carrega e sabendo quais variantes estão ligadas ao gene mutante na família, pode-se obter fortes evidências indiretas se houve ou não a herança do gene mutante por aquele indivíduo ⁴.

Assim, a presença de uma mutação não é observada, mas sim deduzida pelos padrões de segregação cromossômica. Deduções errôneas terão sérias conseqüências aos indivíduos que receberem o aconselhamento, portanto os dados da análise ligação devem ser interpretados com atenção. O diagnóstico de câncer deve ser confirmado pois um erro na classificação de um indivíduo pode levar à predição errônea de muitos ⁵⁸.

A análise de ligação pode ser considerada em famílias com mais de um membro afetado pertencente a gerações diferentes na família. No entanto, não pode ser aplicada quando: a família é pequena, o número requisitado de membros

da família afetados não está disponível, ou os marcadores polimórficos não são informativos. Além disso, a análise de ligação não pode ser utilizada quando se suspeita de uma mutação espontânea ⁵⁹.

A análise de ligação depende da disponibilidade e da boa vontade dos membros da família a serem testados ⁶.

9.2.4 ESTRATÉGIA DE DIAGNÓSTICO

Se a proposta do teste molecular é determinar a condição de membros da família em risco, o mais apropriado é analisar um membro afetado usando as metodologias de seqüenciamento do gene ou do teste da proteína truncada. O custo e as taxas de detecção diferem, portanto o clínico deve determinar, junto ao paciente, a melhor opção a seguir inicialmente. O diagnóstico baseado nesses métodos só pode ser oferecido a membros de família em risco se forem detectadas uma mutação no APC ou uma proteína APC truncada. Em alguns casos, se amostras adequadas estiverem disponíveis, as famílias podem optar pela análise de ligação como exame inicial. Esse método pode ser considerado se nenhuma alteração no gene APC for identificada em um membro afetado através do uso do seqüenciamento do gene ou do teste da proteína truncada ⁶.

Se o propósito do teste de genética molecular é confirmar um possível diagnóstico de FAP clássica ou FAP atenuada, qualquer uma das metodologias que detectam alterações no gene APC pode ser utilizada ⁶.

9.2.5 CONSEQÜÊNCIAS DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Conseqüências positivas

No caso de uma família que claramente possui história de FAP, haverá indivíduos afetados e indivíduos em risco. A fim de aumentar a chance de detecção precoce e conseqüentemente diminuir a morbidade e mortalidade, procedimentos onerosos de rastreamento devem ser realizados naqueles em risco. Assim, os que não possuem a mutação não mais precisarão participar do intensivo programa de rastreamento, enquanto os portadores de mutação devem seguir com o rastreamento e serem indicados para a cirurgia profilática. Além disso, as recomendações relacionadas ao rastreamento e tratamento podem ser modificadas pelo exato conhecimento da mutação carregada. No futuro, os indivíduos portadores de mutações poderão se habilitar para novas opções de rastreamento e tratamento e poderão se beneficiar de outras medidas preventivas, tais como quimioprofilaxia. Afastando a incerteza do risco de câncer, pode-se melhorar a maneira de lidar, ajudar no planejamento do futuro e melhorar o consentimento às recomendações médicas. Além disso, quando a insegurança se instala baseada somente na história familiar, um teste genético negativo pode reverter a situação. Finalmente, o uso do teste genético para guiar o rastreamento em famílias afetadas economizará dinheiro ⁴.

Outro benefício dos testes moleculares é estabelecer o diagnóstico de câncer hereditário em famílias nas quais ele é incerto. O diagnóstico genético de câncer familiar pode salvar vidas se o rastreamento e tratamento padrões forem apropriadamente intensificados ⁴.

Conseqüências negativas⁴

- Falha em reduzir a incerteza, pois os testes não possuem 100% de sensibilidade e especificidade, podendo gerar resultados ambíguos.
- Dano psicológico causado pela notícia de resultado positivo no teste de DNA, podendo ser acompanhado por sentimentos de raiva, ansiedade e depressão.
- Discriminação genética, principalmente na área social, casamento, saúde e emprego.
- Confiança entre o paciente e o médico, devido ao medo da discriminação.
- Questões éticas, entre outras.

10. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

A FAP deve ser diferenciada de outras condições hereditárias que levam ao câncer colo-retal e de outras síndromes polipóides gastrintestinais por testes genéticos moleculares, achados *histopatológicos* e características fenotípicas. Condições a serem consideradas no diagnóstico diferencial incluem as seguintes desordens hereditárias:

- **Câncer de cólon hereditário não-polipóide (CCHNP)** é uma síndrome autossômica dominante em que, ao contrário da FAP, a maioria dos pacientes não apresenta um número aumentado de pólipos, mas sim um adenoma solitário que evolui para neoplasia colo-retal, o que ocorre em pacientes jovens (média de idade entre 42 e 45 anos). Contribui com 3 a 5% de todos os cânceres colo-retais. CCHNP é causada por uma mutação em um entre os diversos genes reparadores do DNA, principalmente MLH1 e MSH2, mas também MSH6, PMS1 e PMS2 ⁶. Os pacientes podem ter cânceres colo-retais sincrônicos ou metacrônicos, assim como lesões malignas extra-colônicas. A mais comum é o adenocarcinoma endometrial, que afeta ao menos uma mulher em 50% das linhagens carreadoras. Os pacientes portadores de CCHNP também podem vir a desenvolver câncer de estômago, intestino delgado, fígado, trato biliar, cérebro e ovários, bem como carcinoma de células transicionais dos ureteres e pelve renal ⁶. O risco relativo para

desenvolvimento destes cânceres é em torno de 3 a 25 vezes mais alto nesta população do que na não afetada.

- **Síndrome de Peutz-Jeghers (SPJ)** é uma síndrome herdada de forma autossômica dominante, caracterizada pela associação entre polipose gastrointestinal e pigmentação mucocutânea. Peutz-Jeghers com pólipos hamartomatosos é mais prevalente no intestino delgado (jejuno, íleo e duodeno, respectivamente), mas pode ocorrer em qualquer outro sítio no trato gastrointestinal. A hiperpigmentação mucocutânea está presente nas crianças com menos de 5 anos sob forma de máculas azul escuras ou marrom escuras ao redor da boca, olhos e narinas, na região perianal, na mucosa bucal e nos dedos. O sexo feminino apresenta risco elevado de desenvolver tumores do cordão germinativo com túbulos anelares, uma neoplasia benigna dos ovários. Homens ocasionalmente desenvolvem tumores calcificados das células de Sertoli nos testículos, que secretam estrógenos e podem levar a ginecomastia. Indivíduos com SPJ têm um risco elevado de malignidade intestinal e extra-intestinal, incluindo câncer colo-retal, esofágico, gástrico, ovariano, pancreático e mamário⁶. Análises de mutações no gene *STK11* (locus cromossômico 19p13) revelam relação causa-efeito positiva entre essa mutação e a patologia em 70% dos casos familiares e em 30 a 40% dos esporádicos.
- **Síndrome do tumor hamartoma *PTEN*** é caracterizada por mutações germinativas *PTEN*, sendo herdada de forma autossômica dominante. Ela inclui a síndrome de Cowden (CS) e a síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba (SBRR). CS é uma síndrome de múltiplos hamartomas com

alto risco de desenvolvimento de tumores benignos e malignos de tireóide, mama e endométrio. SBRR é uma desordem congênita caracterizada por macrocefalia, polipose intestinal, lipomas e máculas pigmentadas na glândula do pênis. Aproximadamente 80% dos indivíduos que se encaixam no diagnóstico de CS e 60% dos que se enquadram no de SBRR têm uma mutação detectável no gene *PTEN*⁶.

- **Polipose Juvenil (PJ)** é também uma desordem autossômica dominante, caracterizada por 10 ou mais pólipos encontrados mais freqüentemente entre as idades de 4 e 14 anos, ocorrendo em qualquer local do trato gastrointestinal, usualmente no cólon. Ao menos dois genes relacionados à susceptibilidade para PJ já foram identificados, *MADH4* e *BMPR1A*⁶.
- **Síndrome Polipóide Hereditária Mista (SPHM)** apresenta um padrão de herança genética desconhecido. A síndrome é caracterizada por pólipos atípicos, que contêm histologia mista, ou por múltiplos pólipos de mais de um tipo histológico em um mesmo indivíduo⁶.
- **Neurofibromatose tipo 1 (NF1)** caracteriza-se por exibir múltiplos neurofibromas polipóides intestinais ou ganglioneuromas no intestino delgado, estômago e cólon⁶.

Existem ainda condições adquiridas que devem ser consideradas quando o diagnóstico diferencial é realizado, tais como:

- **Síndrome de Cronkite-Canadá** é uma polipose hamartomatosa gastrointestinal generalizada associada à hiperpigmentação cutânea, perda de cabelo e atrofia ungueal ⁶.
- **Hiperplasia nodular linfóide** é uma desordem linfoproliferativa que resulta em nódulos linfóides hiperplásicos no intestino delgado, estômago e cólon, podendo estar relacionada com síndromes de imunodeficiência variadas ⁶.
- **Polipose linfomatosa** caracteriza-se pela ocorrência de linfomas extra-nodais primários no trato gastrointestinal ⁶.
- **Polipose inflamatória** é uma moléstia adquirida onde pólipos não neoplásicos estão associados com doença inflamatória intestinal, mais comumente colite ulcerativa ⁶.
- **Tumores colo-retais esporádicos**, sendo que a maioria desses tumores apresenta uma mutação somática no gene APC ³⁹, o que, acredita-se, ocorre cedo na tumorigênese ⁴¹.
- **Polipose hiperplásica (ou metaplásica)** consiste em múltiplos pólipos não neoplásicos no trato gastrointestinal. Na verdade, não se sabe até o momento se constitui-se em uma patologia adquirida ou herdada.

11. DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL

Por meio do diagnóstico pré-natal pode-se obter informações sobre o estado de saúde do feto, bem como fazer o diagnóstico de um grande número de doenças. Isso é possível graças ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas específicas que permitem detectar anomalias genéticas muito cedo ⁵⁶.

O objetivo principal do diagnóstico pré-natal é obter informações sobre o feto em gestação, quando há um risco elevado de nascer uma criança anormal ⁵⁶.

O desenvolvimento desses procedimentos diagnósticos resultou de avanços nas técnicas obstétricas, na possibilidade de se fazer cultura de células humanas, na citogenética e nas técnicas de genética molecular. Por outro lado, as técnicas de diagnóstico pré-natal têm permitido a aquisição de conhecimento sobre os aspectos genéticos do feto, contribuindo para a compreensão de características citogenéticas e bioquímicas de seu organismo, principalmente pelos estudos de abortos espontâneos. Além disso, elas abriram uma nova dimensão para o aconselhamento genético, uma vez que muitas doenças hereditárias podem ser diagnosticadas no período pré-natal ⁵⁶.

Em muitos países da Europa e na América do Norte, os genitores dessas crianças têm a liberdade de optar pela continuação ou interrupção da gravidez. No Brasil, no entanto, o Código Penal vigente só permite a interrupção da gestação em casos de perigo de vida da mãe ou quando a gravidez resulta de estupro. Não

é permitido, portanto, o aborto de feto malformado ou portador de doença genética. Mesmo assim, no Brasil, existem vários centros em que as técnicas de diagnóstico pré-natal são realizadas ⁵⁶.

É importante ressaltar que, na maioria das vezes, o diagnóstico pré-natal revela um resultado normal e isso faz com que os pais possam aguardar o nascimento da criança com mais tranquilidade ⁵⁶.

O exame pré-natal de fetos com 50% de risco para FAP é disponível ou através de teste molecular do gene APC, se um parente clinicamente diagnosticado tiver identificada uma alteração causadora de doença no gene APC, ou por análise de ligação, se a família é informativa para marcadores de ligação ⁵⁶.

As técnicas utilizadas para o diagnóstico pré-natal de FAP são:

- **Amniocentese:** técnica invasiva que utiliza o líquido amniótico, o qual é coletado por punção trans-abdominal, com o auxílio da ultrassonografia. É realizada no segundo trimestre de gravidez, em torno da 16^a semana, embora alguns centros estejam tentando realizar esse procedimento mais cedo, da 11^a à 14^a semanas. As culturas das células desse líquido podem ser examinadas citologicamente por hibridização *in situ* com fluorescência (FISH) ou por técnicas citogenéticas padrão, bem como via testes bioquímicos específicos e análise de DNA, que diagnostica, entre outras condições, defeitos moleculares. A amniocentese apresenta riscos de 0,5 a 1% de perda fetal, podendo causar infecções e outras complicações obstétricas mais raras ⁵⁶.

- **Amostragem de vilosidades coriônicas:** é uma técnica alternativa, invasiva, na qual o material a ser estudado são pequenas quantidades de tecido coriônico de origem trofoblástica fetal, coletado com o auxílio da ultrassonografia através de um cateter de polietileno fino e flexível dirigido até o útero através da região cervical. O método de coleta é a biópsia por sucção de pequenas quantidades de córion frondoso, que subsequente se transforma em placenta, sendo utilizado para testes citogenéticos, bioquímicos e técnicas de DNA, como na amniocentese.⁽⁵⁾ A coleta desse material pode ser feita entre a 9ª e a 12ª semanas de gestação, o que em si já é uma grande vantagem, por ser mais precoce do que a técnica anterior; além disso, os resultados citogenéticos podem estar disponíveis imediatamente ou dentro de um ou dois dias após a coleta, pois as células fetais já se encontram em divisão. Esse exame diagnóstica, entre outras condições, defeitos moleculares detectáveis pela análise de DNA. Os problemas resultantes do uso dessa técnica incluem principalmente diagnósticos duvidosos e errados e contaminação pelas células maternas, a qual parece relacionar-se com o grau de experiência do operador. São citados riscos de 2 a 3% de aborto, relacionados ao procedimento, ainda que realizado por profissional experiente, bem como evidências de que essa técnica pode causar anormalidade dos membros do embrião se efetuada antes da 9ª semana gestacional ⁵⁶.
- **Ultrassonografia:** é uma técnica altamente sensível, não invasiva e que está se tornando rotineira em obstetrícia no diagnóstico pré-natal para orientar a colheita de material ⁵⁶.

O DNA extraído de células fetais obtidas por amniocentese na 16^a à 18^a semana de gestação (a idade gestacional é expressa pelas semanas de menstruação calculadas ou a partir do primeiro dia do último período menstrual normal ou por medidas do ultra-som) ou por amostra de vilosidade coriônica na 9^a à 11^a semana, pode ser analisado utilizando os métodos de teste de genética molecular. O mesmo critério para o uso desse exame se aplica ao teste pré natal. Deve ser ressaltado que uma mutação do gene APC em um feto de risco não prediz o tempo de início ou a severidade da doença. Pedidos para diagnóstico pré-natal de doenças que tipicamente têm início adulto são difíceis situações que requerem um cuidadoso aconselhamento genético ⁶.

12. MANEJO

12.1 TRATAMENTO CLÍNICO

Em 1983 estabeleceu-se pela primeira vez uma relação entre drogas anti-inflamatórias não esteróides (AINEs) e câncer de cólon. Observou-se o desaparecimento dos pólipos retais em um paciente com síndrome de Gardner e correlacionou-o corretamente ao uso de sulindac, um AINE. Dez anos mais tarde, outro ensaio clínico encontrou que este fármaco, na dose de 150 mg administrados por via oral com um intervalo de 12 horas durante 9 meses, reduziu o número e dimensão dos adenomas. Esse efeito foi, entretanto, incompleto, levando os autores a concluir que seria inapropriado substituir a colectomia, forma de tratamento profilático padrão-ouro. Contudo, o mesmo efeito foi confirmado na época por numerosos ensaios clínicos e a interpretação de que AINEs promovem a regressão dos pólipos colônicos inibindo a síntese de prostaglandina foi suportada por estudos em camundongos ³.

Pacientes que ingeriram aspirina e outros AINEs regularmente têm risco relativo 40 a 50% mais baixos de desenvolver câncer colo-retal quando comparados com indivíduos que não o fizeram. Analisando as bases moleculares dessa observação, alguns pesquisadores mostraram que a superexpressão da ciclooxigenase 2 (COX2) em células epiteliais intestinais de ratos resultaram em um aumento da adesão à matriz extra-celular e da resistência a apoptose butirato-

induzida. Estas alterações fenotípicas que podem aumentar o potencial tumorigênico foram revertidas pelo sulindac, inibidor da COX³.

Foi demonstrado *in vitro* que o sulindac inibe o crescimento de células carcinomatosas e causa um aumento no RNAm do APC. O efeito desses agentes na carcinogênese colônica não é mediado completamente por meio da inibição da biossíntese de prostaglandinas. O tratamento com o fármaco não só inibe a formação tumoral, como diminui a COX2 e a prostaglandina E₂ aos níveis basais e restaura os níveis normais de apoptose. *In vivo*, a pró-droga do medicamento é convertida no metabólito sulfídeo sulindac, que fortemente inibe a transformação maligna RAS-induzida. Além disso, diminui a ativação do seu efetor principal, o c-raf-1 cinase³.

Em 2000, verificou-se o efeito do celecoxib, um inibidor seletivo da COX2, nos pólipos colo-retais dos pacientes com FAP. Um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, encontrou que 400 mg dessa droga, administrados durante 6 meses, duas vezes ao dia, reduz significativamente o número dos adenomas³.

Usando imunohistoquímica com ativação de anticorpos específicos, identificou-se a expressão da COX2 e do NFκB nos macrófagos do estroma nos pólipos colônicos humanos. Ainda, o JNK ativo foi expressado nos linfócitos T intraepiteliais e do estroma e nas células periendothelias das neoformações vasculares e o p38 ativo foi mais expressado nos macrófagos do estroma. Assim, a transdução do sinal da resposta inflamatória ocorre predominantemente no estroma dos pólipos colônicos. Sugeriu-se que os AINEs podem exercer seus

efeitos quimioproliféricos na redução do tamanho dos pólipos mais através de efeitos no estroma do que nas células epiteliais ³.

Foi reportado em 2002, em oposição aos trabalhos anteriores, que as doses padrão de sulindac não previnem o desenvolvimento de adenomas nos sujeitos com FAP, já que não existe diferença estatisticamente significativa entre o tamanho dos pólipos entre os grupos tratado e não tratado. Logo, a colectomia profilática permanece como a tratamento de escolha para prevenir câncer colo-retal nos pacientes com a desordem ³.

A despeito dos resultados relativamente desapontadores com respeito à inibição da ciclooxigenase como mecanismo preventivo de adenomatose nos pacientes com FAP, sugeriu-se que AINEs e inibidores da COX2 podem ainda ser apresentados como tendo um papel na prevenção primária ou no tratamento do câncer colo-retal bem estabelecido ³.

12.2 TRATAMENTO CIRÚRGICO

Devido à associação de adenomas com o desenvolvimento de adenocarcinomas, os pólipos colônicos devem ser removidos ou destruídos. Apenas sob circunstâncias clínicas especiais (relacionadas, por exemplo, à idade de paciente ou à localização da lesão) este padrão pode ser modificado, porém isto raramente ocorre. Pólipos pedunculados, mesmo grandes, podem ser removido através de eletrocauterização, enquanto pólipos sésseis pequenos (de 1 a 8 mm) devem ser biopsiados e destruídos durante o próprio procedimento. Para

os pólipos sésseis largamente afixados à parede colônica, podem ser necessárias várias sessões de eletrocauterização para excisão completa das lesões. A remoção endoscópica pode não ser possível ou efetiva se uma lesão séssil for maior do que 3 cm ou se estiver em um local relativamente inacessível. Em geral, pólipos aparentemente benignos são removidos através de eletrocirurgia e não biopsiados, sendo que a lesão inteira é submetida a exame histopatológico⁶⁰.

A detecção endoscópica de um pólipo que sugere invasão carcinomatosa inclui ulceração, contorno de superfície irregular, consistência firme, e friabilidade. Se o diagnóstico de malignidade é feito após a polipectomia, considerações têm que ser feitas em relação à eficácia do procedimento. Na presença de uma lesão histológica pouco diferenciada, invasão da camada muscular da mucosa, invasão vascular ou linfática ou de uma margem de ressecção comprometida, o risco de acometimento de linfonodos regionais é de aproximadamente 5%⁶⁰.

Os princípios mais importantes da ressecção cirúrgica do câncer colo-retal são (1) remoção completa da lesão com bordas de segurança suficientes para garantir que não haja expansão tumoral; (2) remoção da drenagem linfática mesentérica regional (há uma expansão linfática previsível da doença, e alguns pacientes têm acometimento regional sem metástases simultâneas); (3) adequação visual, tátil, e agora ultra-sonográfica intraoperatória, o que facilita a ressecção primária; e (4) minimização das conseqüências psicológicas e funcionais da cirurgia, sem sacrificar quaisquer dos primeiros 3 preceitos. Assim, a hemicolectomia direita, a colectomia transversal ou a hemicolectomia esquerda baseiam-se em estruturas anatômicas, especificamente as artérias íleocólicas, cólica médias e cólicas esquerdas, definindo os limites anatômicos convenientes

para a ressecção colônica padrão e também provendo adequada retirada de linfonodos regionais, já que os principais vasos linfáticos de drenagem seguem os vasos sanguíneos no mesentério ⁶⁰.

Há também a necessidade de integração adequada e coerência entre o patologista e o cirurgião. A falha na identificação da presença de serosa ou linfonodos envolvidos, mesmo que o tumor já tenha sido extirpado, tem implicações sérias quando se planeja uma terapia de adjuvante ²⁵.

A mortalidade do procedimento de ressecção cirúrgica é menor do que 2% nos pacientes entre 50 e 69 anos e é de 4.4% para aqueles com mais de 70 anos. Assim, qualquer decisão a respeito de se recomendar ou não a ressecção cirúrgica deve levar em consideração o risco operatório individual ²⁵.

O tratamento, enfim, é normalmente feito pela colectomia total com ileorretoanastomose ou proctocolectomia total com ileoanastomose definitiva. No primeiro caso, é necessária a fulguração dos pólipos localizados no reto, uma vez que não haja evidência de transformação maligna. O paciente deve ser revisto com intervalos de 6 meses para afastar a possibilidade de formação de novos pólipos com potencial maligno ⁶¹.

Atualmente, em casos selecionados, vem sendo adotada a retirada total do intestino grosso com anastomose de uma bolsa ileal (reservatório ileal) ao canal anal ^{3, 61}.

12.3 TERAPIA GÊNICA

Genes supressores tumorais levam à transformação quando são perdidos ou deletados. Pareceria fácil, então, supor que a reposição desses genes pudesse resultar em cura do câncer. Porém notou-se que as células que escapam a essa terapia adquirem uma vantagem de sobrevivência, promovendo crescimento tumoral mais intenso. Portanto, reposição de genes supressores de tumor podem nunca vir a ser um procedimento curativo ⁶².

Entretanto, existem muitas situações em que o emprego desses genes pode ser clinicamente útil. A terapia gênica pode levar à significativa redução do volume e da gravidade da doença, mesmo sem ser curativa. Um cenário alternativo para os genes supressores tumorais é o seu emprego na prevenção do câncer. A terapia gênica pode ser usada para tratar indivíduos com alto risco para síndromes hereditárias de câncer e essa abordagem pode ser benéfica se o gene puder ser introduzido no tumor ou no epitélio com alto grau de eficiência ⁶³.

O gene APC tem uma potente atividade como supressor tumoral e, portanto, é um candidato ideal para o tratamento de cânceres estabelecidos, bem como na prevenção da FAP ⁶⁴.

O epitélio colônico é facilmente acessado por métodos externos, porém tem um *turnover* muito rápido, de modo que todo o epitélio é regenerado em 3 dias. Por isso, explorou-se também o potencial para terapia gênica estudando-se a expressão efêmera do APC em epitélio colônico normal de ratos, utilizando-se distribuição lipossomal gênica por infusão retal por cateter. A expressão de um gene indicador de β -galactosidase e do gene APC humano sob um promotor constitutivo foi demonstrada. Perto de 100% das células epiteliais expressam o

gene introduzido. A expressão foi efêmera e não persistiu por mais de 4 dias, acontecimento coerente com o tempo de *turnover* do epitélio intestinal, mas pode ser mantida por tratamentos repetidos. O APC humano foi expresso por 3 semanas sob essas condições em aproximadamente um décimo do nível do gene APC endógeno, sendo que não foi observada nenhuma toxicidade além daquela atribuída aos repetidos enemas retais⁶³.

13. RASTREAMENTO

Quando uma séria desordem genética é diagnosticada na família, imediatamente surge uma questão: há outros membros da família em risco? Questões éticas surgem quando a tecnologia de DNA permite testes de crianças para uma condição que é improvável que tenha morbidade significativa até o fim da vida. FAP exemplifica esse dilema. Uma abordagem racional do rastreamento exige tanto um entendimento da história natural da condição, quanto um conhecimento das questões éticas envolvidas ⁶.

13.1 RASTREAMENTO: AVALIAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA

A fim de definir qual protocolo é apropriado para uma dada família, o primeiro passo é determinar, quando possível, que mutação está presente no probando afetado por FAP. Nesse estágio, se a mutação não for detectada, o teste genético é não-informativo e não será possível oferecer teste preditivo aos parentes assintomáticos em risco. Para os 60-80% em que a mutação é detectada, parentes em risco podem ser testados. Um teste negativo é considerado preciso em excluir FAP e deve-se considerar que o indivíduo mantém um risco semelhante ao da população para o desenvolvimento subsequente de adenomas e câncer. Esses indivíduos com genótipo negativo

podem ser dispensados do seguimento. A exceção seria aqueles pacientes em que a deleção não foi sequenciada mas foi excluída por análise de ligação somente com marcadores intragênicos (um método menos confiável para determinar o risco de carregar a mutação no gene APC) – nessa circunstância a prática é não dispensar e considerar avaliação endoscópica ⁶.

Um teste positivo confirma o diagnóstico de FAP e os pacientes devem se submeter a avaliação endoscópica. O diagnóstico é confirmado pelo achado de pólipos na sigmoidoscopia flexível, histologicamente confirmados como adenomas. (alternativamente, a presença, na oftalmoscopia indireta, de mais de quatro lesões pigmentadas do fundo ocular – hipertrofia congênita do epitélio pigmentar da retina, carrega um valor preditivo positivo de 100%, particularmente se as lesões são grandes. A ausência de pigmentação, no entanto, não tem valor preditivo). No Hospital St Mark's, em Londres, indivíduos afetados realizam sigmoidoscopia flexível anualmente, desde os 11 a 14 anos até que os adenomas sejam encontrados. Sigmoidoscopias flexíveis anuais devem ser adequadas, pois há um envolvimento retal precoce em quase todos os pacientes.

Em famílias nas quais o genótipo não é conhecido, o protocolo varia – a abordagem do St. Mark's é realizar uma sigmoidoscopia anual em todos os graus de parentesco até que os adenomas sejam encontrados. Avaliações mais frequentes não são necessárias, e avaliações num período maior do que um ano podem alterar a frequência do rastreamento, ou perder uma doença agressiva. Além disso, a partir dos 20 anos, a colonoscopia com spray colorido é realizada a cada cinco anos.

A maioria das crianças com gene alterado, terão realizado uma colonoscopia até a idade de 16 anos para determinar a densidade e a localização dos pólipos, e o grau de displasia. Com essa informação, e com o entendimento da situação da família, das necessidades psicossociais e escolares da criança, uma decisão pode ser tomada em relação à época e ao tipo de cirurgia. Outras colonoscopias podem ser realizadas para reavaliar a extensão da polipose se o adolescente quiser adiar a cirurgia, por exemplo, até a idade de 18 anos, mas os médicos e os pacientes devem estar conscientes de que a avaliação colonoscópica isolada não é um método seguro o suficiente para prevenir a malignidade colo-retal, e que ela possui sua própria taxa de complicações⁵³.

É importante que o adolescente esteja familiarizado com os exames. Crianças e adolescentes deveriam realizar endoscopias de rastreamento em um centro de gastroenterologia pediátrica para garantir que as primeiras experiências de rastreamento sejam vistas de uma maneira positiva, de forma que os exames subseqüentes dependam de participação voluntária. Portanto, os clínicos devem considerar os benefícios da colonoscopia sob anestesia geral naquelas crianças que provavelmente não tolerem o procedimento, em decorrência da pouca idade ou de dificuldades de aprendizado⁶.

Nenhum paciente deve se submeter a rastreamento para FAP sem um aconselhamento detalhado. O aconselhamento genético especializado dos novos pacientes diagnosticados e dos seus pais, sendo recomendado o envolvimento de um geneticista clínico ou de um consultor genético. É essencial que o indivíduo que está sendo rastreado entenda a natureza do exame e seus possíveis resultados. Questões como implicações emocionais, familiares, de segurança e de

emprego dos resultados positivos devem ser discutidos antes do teste e deve haver um protocolo claro para manejo pós-teste. Recentes evidências mostram que vários indivíduos que realizaram testes genéticos para FAP receberam aconselhamento inadequado e alguns receberam resultados pobremente interpretados ⁵⁷.

13.2 TEMPO DE RASTREAMENTO

A idade para iniciar o rastreamento de crianças em risco de FAP é uma questão significativa, que requer consideração cuidadosa. Como já foi discutido, a doença geralmente não apresentará ou necessitará de tratamento antes da adolescência ou da vida adulta. As crianças que não carregam a mutação ficarão aliviadas por saberem que não possuem FAP e serão poupadas das infreqüentes, porém angustiantes, sigmoidoscopias anuais. Para aqueles que possuem a mutação, existe uma eliminação da incerteza e dúvida, possibilitando o planejamento do futuro (por exemplo, a realização de uma cirurgia), e provavelmente haverá maior aceitação das endoscopias de rastreamento. Entretanto, conhecimento precoce das condições de doença das crianças pode ter efeitos negativos, estimulando sentimentos de negação, raiva ou ansiedade que resultam em prejuízo à auto-estima da criança, podendo até mesmo afetar as relações com sua família. Mesmo se os resultados forem negativos, a ansiedade paterna pode permanecer. Muitas autoridades pensam que a criança deve ser

envolvida no processo de tomada da decisão, e o diagnóstico, adiado até a criança ser madura o suficiente para contribuir com o programa de rastreamento ⁶.

Para pacientes com mutação conhecida é oferecido rastreamento genético aos parentes de primeiro grau dos 11 anos em diante, pois considera-se que a partir dessa idade a criança está mais apta a entender as conseqüências do resultado. Algumas crianças, entretanto, entenderão o rastreamento genético e suas conseqüências em uma idade menor (nove anos, por exemplo). A maturidade da criança e cada situação familiar devem ser consideradas individualmente. Displasia severa e mesmo maligna tem sido reconhecidas em crianças com FAP acima dos 12 anos de idade, porém isso é raro. Conseqüentemente, essas crianças que têm sintomas gastrointestinais, tais como perda de sangue ou diarreia, ou que são pertencentes a famílias em que foram encontradas displasia severa ou carcinomas na adolescência, podem realizar um rastreamento quando mais jovens. Isso particularmente ocorre se a família tiver uma das mutações relacionadas com o fenótipo associado ⁶.

Para a determinação da propriedade e adequação de um certo protocolo de rastreamento na prevenção de malignidades, foi realizada, durante 50 anos no Hospital St. Mark's, uma revisão retrospectiva dos achados no rastreamento sigmoidoscópico de 267 crianças de 11 a 16 anos, com um parente de primeiro grau afetado por FAP.(5) Dos 123/267 ultimamente diagnosticados com FAP, somente 7/123 (6%) tiveram mais de 20 adenomas ao rastreamento sigmoidoscópico. Nenhuma malignidade foi identificada nesse coorte. A histopatologia estava disponível para 112/123 espécies colectomizadas, e somente quatro demonstraram displasia severa (o precursor dessa mudança

maligna na seqüência do adenocarcionoma). Todos os pacientes em que houve a descrição de displasia severa tiveram sintomas gastrintestinais significantes na adolescência, incluindo-se sangramento pelo reto e/ou diarréia. Esse estudo concluiu que nenhuma evidência foi encontrada para dar suporte à rotina genotípica ou sigmoidoscópica antes dos 11 anos de idade em crianças oriundas de famílias com FAP, embora o exame dessas crianças antes dessa idade possa ter um papel importante naquelas que têm sintomas (sangramento e diarréia, por exemplo) ⁶.

13.3 AVANÇOS FUTUROS

Uma mudança nos critérios para definir a melhor idade para rastreamento de FAP pode surgir se estudos em quimioprevenção forem bem sucedidos. Drogas antiinflamatórias não-esteróides (AINES) podem ter um efeito protetor contra o câncer de cólon, com muitos ensaios demonstrando regressão dos adenomas com o uso do AINE sulindac. O uso difundido de sulindac está sendo limitado por questões envolvendo efeitos colaterais gastrointestinais com a administração prolongada, e casos relatados de câncer retal apesar do tratamento. Está sendo realizado um estudo que avalia a efetividade de estratégias de intervenção, tais como a administração de aspirina e manipulações dietéticas.(2) Ensaios clínicos usando inibidores seletivos da COX-2 relataram uma redução no número de pólipos colo-retais. Esse agente, e também o metabólito não-ciclooxigenase do

sulindac (sulfona-sulindac) podem desempenhar um papel importante antes da cirurgia em adolescentes, e também são estudados no cenário pediátrico ⁶.

14. ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Quando nasce uma criança com uma anormalidade grave, seus pais certamente se questionam sobre o porquê deste acontecimento e qual o risco que eles correm de ter outro ou outros filhos com o mesmo problema (risco de recorrência). Os indivíduos com uma história familiar de doença grave têm probabilidade de desenvolver a doença e/ou transmiti-la para gerações futuras. Essas pessoas, assim como os afetados, certamente necessitam de informação e orientação sobre o manejo do problema, tanto quanto sobre como programar sua vida reprodutiva. Tal orientação pode ser feita por um serviço de aconselhamento genético.⁵³

É difícil encontrar-se um conceito completo, satisfatório e abrangente para aconselhamento genético. Entretanto, este pode ser definido como um conjunto de procedimentos que se destina a informar e orientar indivíduos que apresentam problemas relacionados com a ocorrência ou o risco de ocorrência de uma doença genética em sua família. Faz parte desses procedimentos o estabelecimento de diagnóstico, etiologia, prognóstico e risco de repetição da doença na família envolvida, bem como fornecer esclarecimentos que possibilitem aos casais de risco tomar decisões sobre seu futuro reprodutivo.⁵³

Os principais objetivos do aconselhamento genético referem-se ao paciente, aos seus pais e à sociedade. Em relação ao paciente e aos seus pais, o aconselhamento genético visa a diminuir a angústia e o sofrimento causados pela

doença; fornecer o diagnóstico médico e suas implicações em termos de prognóstico e tratamento (se possível); fornecer dados sobre a etiologia genética e o risco de recorrência para descendentes do paciente, seus pais e outros parentes. Propõe-se ainda a ajudá-los a tomarem decisões racionais sobre sua reprodução, bem como reduzir a ansiedade e sentimento de culpa de seus pais. Em relação à sociedade, cabe ao aconselhamento genético proporcionar um melhor conhecimento à população sobre os aspectos genéticos das doenças, com vistas a reduzir a incidência de doenças genéticas, prevenindo-as ou eliminando-as, e diminuir a frequência de genes deletérios na população.⁵³

O aconselhamento genético está disponível, e é recomendado, para famílias afetadas pela FAP, pois essa doença apresenta características que se encontram entre as principais indicações para o aconselhamento genético (tab.3). Esse serviço é, com frequência, melhor executado por conselheiros genéticos treinados para explicar as condições hereditárias, tais como natureza, herança e implicações da desordem genética, além das vantagens e desvantagens do teste genético, em conjunto com médicos que sejam especialistas na doença. Esses profissionais utilizarão a história familiar e os exames genéticos disponíveis para avaliar o risco e a condição genéticos para os membros da família. (1, 2, 3, 4, 5)

A tabela 4 esquematiza a rotina de um serviço de aconselhamento genético.

- Doenças de herança monogênica conhecidas
- Anomalias cromossômicas
- Defeitos congênitos isolados ou múltiplos, associados ou não a retardo mental Retardo mental isolado
- Anormalidades no desenvolvimento físico ou estatura anormal
- Anormalidades no desenvolvimento dos órgãos sexuais, das características sexuais secundárias, da função sexual ou da fertilidade
- Distúrbios metabólicos ou endócrinos
- Idade materna avançada
- História familiar de câncer com início precoce
- Abortos espontâneos recorrentes
- Exposição a teratógenos
- Qualquer doença sabidamente de concentração familiar
- Consangüinidade

Fonte: Borges-Osório e Robinson, 2002

Tab. 3 - Principais indicações para o aconselhamento genético

Encaminhamento ou pré-avaliação

Por um clínico (médico ou dentista)

No serviço de aconselhamento genético

Entrevista para levantamento de dados familiares e gestacionais

Exame clínico

Exames laboratoriais e/ou radiográficos complementares do paciente e familiares, se Indicados

Hipótese diagnóstica

Baseada: na análise do heredograma, resultados dos testes suplementares e literatura Médica

Estimativa de riscos de ocorrência ou recorrência

Riscos básicos

Riscos mendelianos

Riscos empíricos

Acompanhamento dos pacientes e seus familiares

Encaminhamento a especialistas clínicos, instituições de saúde e grupos de apoio, quando necessário

Avaliação clínica contínua, se indicada

Apoio contínuo por consultor genético, se indicado

Relatórios para médicos e consulentes

Profissionais envolvidos

Consultores genéticos

Médico clínico-geneticista

Bioquímico, biólogo e outros profissionais relacionados com a área médica

Psiquiatra ou psicólogo

Fonte: Thompson e Thompson, 1993, modificada

Tab.4 - Rotina de um Serviço de Aconselhamento Genético (SAG)

14.1 MODO DE HERANÇA

A polipose adenomatosa familiar (FAP) é herdada de maneira autossômica dominante ⁶.

14.2 RISCO PARA OS MEMBROS DA FAMÍLIA

Pais de um probando

Aproximadamente 75 a 80% dos indivíduos com FAP têm um dos pais afetado. Portanto, sempre é apropriado avaliar seus genitores com teste molecular do gene APC, caso a doença do probando seja conhecida por sua mutação causadora ou por suas manifestações clínicas. Aproximadamente 20 a 25% de indivíduos com FAP têm o gene alterado como resultado de uma mutação gênica de novo ⁶.

Irmãos de um probando

O risco para os irmãos depende da condição genética dos pais. Se um dos pais é afetado, o risco é de 50%. Se nenhum dos pais de um indivíduo com FAP se encontra nos critérios clínicos para a doença, o risco de os irmãos de um indivíduo afetado terem FAP é o risco populacional para essa desordem ⁶.

Descendentes de um probando

Todos os filhos de um indivíduo com FAP têm uma chance de 50% de herança da mutação ⁶.

Outros membros da família de um probando

O risco para os outros membros da família depende da condição dos pais do probando. Se um dos pais encontra-se afetado, os integrantes de sua família estão sob risco ⁶.

14.3 QUESTÕES RELACIONADAS AO ACONSELHAMENTO GENÉTICO**Exame de crianças e adultos assintomáticos de risco**

Considerar o exame de DNA em jovens membros da família sob risco é apropriado para direcionar a conduta médica ⁶.

O teste genético molecular pode ser usado com segurança para esclarecer a condição genética dos membros da família em risco quando parentes diagnosticados clinicamente foram submetidos a esse procedimento, sendo encontrada a existência de uma mutação no gene APC ou detectada a ocorrência de uma proteína APC truncada ⁶.

O uso do teste de genética molecular para determinação da condição genética de parentes em risco quando aqueles que já foram diagnosticados clinicamente não estão disponíveis para exame é problemático, e os resultados precisam ser interpretados com atenção. Um teste com resultado positivo em um membro da família sob risco indica não só a presença de uma mutação do APC

causadora de doença, como também a aplicação desse método molecular na avaliação da condição genética de outros integrantes da família nas mesmas condições. Em contraste, quando o teste genético é oferecido antes do exame de um componente sabidamente afetado, a falha em identificar uma mutação causadora de doença não elimina a possibilidade de que uma mutação no APC esteja presente. Como a condição genética de tais indivíduos não pode ser determinada através de teste molecular, os mesmos necessitam seguir as recomendações indicadas para a supervisão dos membros da família em risco ⁶.

Como o rastreamento do cólon para aqueles em risco para FAP clássica começa antes dos dez anos de idade, o teste genético molecular é geralmente oferecido para crianças com oito anos ou mais. Já o rastreamento do cólon naqueles com risco para FAP atenuada começa aos 18 anos; logo, o exame deveria ser oferecido por volta dos 18 anos de idade. Esses procedimentos moleculares podem ser realizados mais cedo caso alterem o manejo médico da criança ⁶.

Os pais freqüentemente querem saber a condição genética de seus filhos antes de iniciar o rastreamento, a fim de evitar procedimentos desnecessários numa criança que não herdou o gene alterado. Consideração especial deve ser dada à educação das crianças e seus pais antes do teste genético. Um plano deve ser estabelecido em relação à maneira com que os resultados serão dados aos pais e seus filhos ⁶.

Outras questões a considerar

É recomendado que os médicos, ao solicitarem teste genético molecular do gene APC, e indivíduos que considerarem se submeter ao exame, entendam os riscos, benefícios e limitações antes de enviarem uma amostra ao laboratório. Também recomenda-se o encaminhamento a um consultor genético e/ou um centro em que os testes sejam rotineiramente oferecidos ⁶.

Cabe ressaltar a importância da correta interpretação dos testes moleculares: um estudo demonstrou que em quase um terço dos pacientes avaliados para FAP, os médicos interpretaram erroneamente os resultados do teste ⁶.

Banco de DNA

É um armazenamento de DNA tipicamente extraído das células brancas do sangue para um possível uso futuro. Como é provável que essas metodologias de teste e nosso entendimento de genes, mutações e doenças melhorem no futuro, essa hipótese deve ser considerada, particularmente quando os testes disponíveis atualmente não forem capazes de detectar todas as mutações causadoras de doenças ⁶.

15. REFERÊNCIAS

1. Bussey HJ :Familial polyposis coli. Family studies, histopathology, differential diagnosis and results of treatment. The Johns Hopkins University Press, Baltimore,1975.
2. Herrera L, ed.: Familial Adenomatous Polyposis. New York, NY: Alan R. Liss Inc, 1990.
3. *175100 Adenomatous Polyposis of the colon.:On Line Mendelian Inheritance in Men.
4. The Johns Hopkins Guide for Patients and Families: Familial Adenomatous Polyposis.: The Johns Hopkins University, 2000.
5. Kinzler KW, Vogelsteins B; Lessons from Hereditary Colorectal Cancer. *Cell* 87:159-170, 1996.
6. Solomon C, Burt Randal; Familial Adenomatous Polyposis. In: <http://www.geneclinics.org>. Esse site foi fundado pelo NIH e é desenvolvido pela Universidade de Washington.
7. Herrera, L.; Kakati, S.; Gibas, L.: Gardner syndrome in a man with an interstitial deletion of 5q. *Am. J. Med. Genet.* 25: 473-476, 1986.
8. Bodmer, W. F.; Bailey, C. J.; Bodmer, J: Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5. *Nature* 328: 614-616, 1987.

9. Leppert, M.; Dobbs, M.; Scambler, P: The gene for familial polyposis coli maps to the long arm of chromosome 5. *Science* 238: 1411-1413, 1987.
10. Groden, J.; Thliveris, A.; Samowitz, W.: Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell* 66: 589-600, 1991.
11. Burn, J.; Chapman, P.; Delhanty, J.: The UK northern region genetic register for familial adenomatous polyposis coli: use of age of onset, congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium, and DNA markers in risk calculations. *J. Med. Genet.* 28: 289-296, 1991.
12. Jarvinen, H. J.; Peltokallio, P.; Landtman, M.: Gardner's stigmata in patients with familial adenomatous polyposis coli. *Brit. J. Surg.* 69: 718-721, 1982.
13. Laken, S. J.; Petersen, G. M.; Gruber, S. B.: Familial colorectal cancer in Ashkenazim due to a hypermutable tract in APC. *Nature Genet.* 17: 79-83, 1997.
14. Fodde R, Smits R.: *Disease model: familial adenomatous polyposis*. Trends in Molecular Medicine, 7(8): 369-373, 2001.
15. Petersen, G. M.; Francomano, C.; Kinzler, K: Presymptomatic direct detection of adenomatous polyposis coli (APC) gene mutations in familial adenomatous polyposis. *Hum. Genet.* 91: 307-311, 1993.
16. Giardiello FM, Krush AJ, Petersen GM,: Phenotypic variability of familial adenomatous polyposis in 11 unrelated families with identical APC gene mutation. *Gastroenterology* 106:1542-7, 1994.

17. Offerhaus GJ, Entius MM, Giardiello FM. Upper gastrointestinal polyps in familial adenomatous polyposis. *Hepatogastroenterology*. Mar-Apr;46(26):667-9, 1999.
18. Griffioen G, Bus PJ, Vasen HF, Verspaget HW, Lamers CB. Extracolonic manifestations of familial adenomatous polyposis: desmoid tumours, and upper gastrointestinal adenomas and carcinomas. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1998;225:85-91
19. Katou F, Motegi K, Baba S. Mandibular lesions in patients with adenomatosis coli. *J Craniomaxillofac Surg* 1989 Nov;17(8):354-8
20. Miyaki M, Tanaka K, Muraoka M; Familial polyposis: recent advances. *Crit Rev Oncol/Hematol* 19:1-31, 1995.
21. Smith TG, Clark SK, Katz DE, Reznick RH, Phillips RK. Adrenal masses are associated with familial adenomatous polyposis. *Dis Colon Rectum* Dec;43(12):1739-42, 2000.
22. Cetta F, Montalto G, Gori M: Germline mutations of the APC gene in patients with familial adenomatous polyposis-associated thyroid carcinoma: results from a European cooperative study. *J Clin Endocrinol Metab* 85:286-92, 2000.
23. Calin, G.; Wijnen, J.; van der Klift, H: Marfan-like habitus and familial adenomatous polyposis in two unrelated males: a significant association? *Europ. J. Hum. Genet.* 7: 609-614, 1999.
24. Leblanc R. Familial adenomatous polyposis and benign intracranial tumors: a new variant of Gardner's syndrome. *Can J Neurol Sci* Nov;27(4):341-6, 2000.
25. Goldman e Bennett.: *Tratado de Medicina Interna*, 21ª edição, 2001.

26. Miyaki M, Seki M, Okamoto M; Genetic changes and histopathological types in colorectal tumors from patients with familial adenomatous polyposis. *Cancer Res* 50:7166-7173, 1990.
27. Sieber OM, Tomlinson IP, Lamlum H; The adenomatous polyposis coli (APC) tumor suppressor – genetics, functions and disease. *Molec Med Today* 6:463-470, 2000.
28. Su, L.-K.; Vogelstein, B.; Kinzler, K. W. : Association of the APC tumor suppressor protein with catenins. *Science* 262: 1734-1737, 1993.
29. Fodde R.: The APC gene in colorectal cancer.- *European Journal of Cancer*, 38: 867-781, 2002.
30. Roose, J.; Huls, G.; van Beest, M.; : Synergy between tumor suppressor APC and the beta-catenin-Tcf4 target Tcf1. *Science* 285: 1923-1926, 1999.
31. Giovannucci E, Willett WC; Dietary factors and risk of colon cancer. *Ann Med* 26:443-452, 1994.
32. Chapelle A, Peltomaki P: The genetics of hereditary common cancers. *Current Opinion in Genetics & Development*, 8(3): 298-303, 1998.
33. Beroud C, Soussi T: APC gene: database of germline and somatic mutations in human tumors and cell lines. *Nucleic Acids Res.* 24:121-124, 1996.
34. Thompson & Thompson.: *Medical Genetics*, 6^a edição, 2001.
35. The APC database.
36. Miyaki M, Konishi et al: Characteristics of somatic mutations of the gene APC in colorectal tumors. *Cancer Res*, 54:3011-3020, 1994.

37. Ashton-Rickardt PG, Dunlop MG, Nakamura Y: High frequency of APC loss in sporadic colorectal carcinoma due to breaks clustered in 5q21-22. *Oncogene* 4:1169-74, 1989.
38. Miyoshi Y, Ando H, Nagase H: Germline mutations of the APC gene in 53 familial adenomatous polyposis patients. *Proc Nat Acad Sci*, 89:4452-56, 1992.
39. Miyoshi Y, Nagase H, Ando H: Somatic mutations of the APC gene in colorectal tumors: mutations cluster region in the APC gene. *Hum Molec Genet*, 1:229-33, 1992.
40. Fodde R, van der Luijt R: Eight novel inactivating germline mutations at the APC gene identified by denaturing gradient gel electrophoresis. *Genomics* 13:1162-68, 1992.
41. Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61:759-67, 1990.
42. Smith G, Carey FA, Beattie J: Mutations in APC, Kirsten-RAS, and p53- alternative genetic pathways to colorectal cancer. *Proc Nat Acad Sci*, 99:9433-38, 2002.
43. Nagase H, Miyoshi Y, Horii A: Correlation between the location of germ-line mutations in the APC gene and the number of colorectal polyps in familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res* 52:4055-7, 1992.
44. Marshall B, Isidro G, Carvalhas R: Germline versus somatic mutations of the APC gene: evidence for mechanistic differences. (Letter) *Hum Mutat*, 9:286-88, 1997.

45. Su L, Steinbach G, Sawyer JC: Genomic rearrangements of the APC tumor-suppressor gene in familial adenomatous polyposis. *Hum Genet*, 106:101-07, 2000.
46. Lamlum H, Ilyas M, Rowan A: The type of somatic mutation at APC in familial adenomatous polyposis is determined by the site of the germline mutation: a new fact of Knudson's "two-hit" hypothesis. *Nature Med* 5:1071-75, 1999.
47. Lamlum H, Al Tassan N, Jaeger E: Germiline APC variants in patients with multiple colorectal adenomas, with evidence for the particular importance of E1317Q. *Hum Molec Genet* 9:2215-21, 2000.
48. Friedl W, Caspari R, Sengteller M: Can APC mutations analysis contribute to therapeutic decisions in familial adenomatous polyposis? Experience from 680 FAP families. *Gut* 48:515-21, 2001.
49. Wallis YL, Morton DG, McKeown CM: Molecular analysis of the APC gene in 205 families: extend genotype-phenotype correlations in FAP and evidence for the role of APC amino acid changes in colorectal cancer predisposition. *J Med Genet* 36:14-20, 1999.
50. Olschwang S, Tiret A, Laurent-Puig P: Restriction of ocular fundus lesions to a specific subgroup of APC mutations in adenomatous polyposis coli patients. *Cell* 75:959-68, 1993.
51. Caspari R, Olschwang S, Friedl W: Familial adenomatous polyposis: Desmoids tumors and lack of ophthalmic lesions (CHRPE) associated with APC mutations beyond codon 1444. *Hum Mol Genet* 4:337-40, 1995.

52. Eccles DM, van der Luijt R, Breukel C: Hereditary desmoid disease due to a frameshift mutation at códon 1924 of the APC gene. *Am J Hum Genet* 59:1193-201, 1996.
53. Terdiman JP, Conrad PG, Sleisenger MH. Genetic testin in hereditary colorrectal cancer indications and procedures. *Am J Gastroenterology*, 94:2344-56, 1999
54. Terdiman JP, Conrad PG, Sleisenger MH. Genetic testin in hereditary colorrectal cancer indications and procedures. *Am J Gastroenterology*, 94:2344-56, 1999
55. Terdiman JP, Conrad PG, Sleisenger MH. Genetic testin in hereditary colorrectal cancer indications and procedures. *Am J Gastroenterology*, 94:2344-56, 1999
56. Borges-Osório MR, Robinson WM. *Genética Humana*. 2^a ed, Artmed. Porto Alegre, 2001.
57. Wong N, Lasko D, Rabelo R. Genetic Counseling and Interpretation of genetic tests in familial adenomaous polyposis and Hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*; 44(2): 271-271. 2000.
58. Wong N, Lasko D, Rabelo R. Genetic Counseling and Interpretation of genetic tests in familial adenomaous polyposis and Hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*; 44(2): 271-271. 2000.
59. Wong N, Lasko D, Rabelo R. Genetic Counseling and Interpretation of genetic tests in familial adenomaous polyposis and Hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*; 44(2): 271-271. 2000.
60. Holland & Frei: *Câncer Medicine*, 5th ed, 2000.

61. Souza V: Coloproctologia, 4^a ed, 1999.
62. Huang HS, Yee JK, Shew JK. Suppression of the neoplastic phenotype by replacement of RB gene in human cancer cells. *Science*, 242: 1563-66, 1988.
63. Westbrook CA, Arenas RB. Gene therapy of the gut: introduction of the APC tumor-supresor gene for cancer prevention or treatment. *Adv Drug Del Rev* 17: 349-55, 1995.
64. Groden J, Joslyn G. Response of colon cancer cell lines to the introduction of APC, a colon-specific tumor supressor gene. *Cancer Res* 55: 1531-39, 1995.