

# POLIPOSE ASSOCIADA AO *MYH*

## Fenótipo Grave na Homozigotia para a Mutação 1103delC

SUSANA MÃO DE FERRO, PEDRO LAGE, ALEXANDRA SUSPIRO, PAULO FIDALGO, SOFIA FRAGOSO, CÉLIA BALTAZAR, INÊS VITORIANO, PAULA RODRIGUES, CRISTINA ALBUQUERQUE, C. NOBRE LEITÃO  
Serviço de Gastrenterologia, Centro de Investigação em Patologia Molecular. Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil. Lisboa

### RESUMO

A polipose associada ao *MYH* é uma doença genética, com transmissão autossómica recessiva, que se associa ao desenvolvimento de múltiplos adenomas e carcinomas do cólon e recto. As mutações *missense* Y165C e G382D são responsáveis por mais de 80% dos casos em caucasianos e muitas das séries publicadas não incluem doentes homozigóticos para outras mutações. Apresentamos o caso clínico de duas irmãs homozigóticas para a mutação *frameshift* 1103delC. A *proband* é uma mulher de 28 anos que apresentava quatro adenocarcinomas do cólon e 20-30 adenomas síncronos. A sua irmã de 24 anos tinha 20 adenomas do cólon e adenomatose duodenal grave (Spiegelman III). Os seus pais, de 60 e 51 anos, ambos heterozigóticos para a mutação 1103delC no *MYH* apresentavam, respectivamente, cinco e dois pequenos adenomas do cólon.

### SUMMARY

#### MYH ASSOCIATED POLIPOSIS

#### Severe Phenotype in the Homozygosity for the 1103delC Mutation

*MYH*-associated polyposis (MAP) is an autosomal recessive disease associated with multiple colonic adenomas and colorectal cancer. Y165C and G382D *MYH* missense mutations are involved in more than 80% of cases in Caucasians and the large series published do not include patients homozygous for other mutations. We present the report of two siblings homozygous for the nonsense frameshift mutation 1103delC. The proband aged 28 presented with four colonic adenocarcinomas and 20-30 synchronous adenomas. Her sister aged 24 had 20 colonic adenomas and a severe Spiegelman's III duodenal adenomatosis. Their parents, aged 60 and 51, heterozygous for the 1103delC *MYH* mutation, presented 5 and 2 low risk colorectal adenomas, respectively.

## INTRODUÇÃO

A polipose associada ao *MYH* (PAM) é causada pela inativação germinal bi-alélica deste gene. Esta síndrome, com transmissão autossômica recessiva, predispõe para o desenvolvimento de adenomas e carcinomas múltiplos do cólon e recto<sup>1,2</sup>.

A proteína MYH faz parte do sistema de reparação do ADN por excisão de bases, que repara as mutações provocadas por espécies reactivas de oxigénio formadas durante o metabolismo anaeróbio<sup>3</sup>. O modelo de carcinogénese associado à PAM envolve a hipermutabilidade genética, em especial do gene *APC*, resultando num síndrome caracterizado por uma idade de desenvolvimento de carcinoma do cólon e recto (CCR), em média, 10 anos mais tardia do que na polipose adenomatosa familiar (PAFc) associada ao gene *APC*, um fenótipo cólico muito heterogéneo que pode variar entre a presença de apenas três a mais de 100 adenomas (com consequente sobreposição fenotípica com a PAFc) e uma elevada probabilidade de desenvolvimento de CCR<sup>2</sup>.

Estão descritos, até ao momento, cerca de 200 casos de PAM e estima-se que esta doença seja responsável por 7,5 a 23% dos casos com fenótipo de PAFc e com estudo negativo para o gene *APC*, 30 a 50% dos casos de adenomas múltiplos do cólon (n=15-100)<sup>2,4,5</sup> e 1 a 3% de todos os casos de CCR<sup>6</sup>. A presença de 10 a 15 adenomas tem sido considerado como o limiar para a pesquisa de mutações germinais no gene *MYH*.

Em caucasianos, as duas mutações *missense* Y165C e G382D são responsáveis por aproximadamente 86% dos casos de PAM<sup>2</sup>. Embora mutações de tipo *nonsense* (truncantes, *frameshift* e *splice-site*) também já tenham sido descritas<sup>2,4,5,7,8</sup>, indivíduos homocigóticos ou heterocigóticos compostos para mutações deste tipo correspondem a menos de 10% dos casos descritos. Desconhece-se se existem particularidades fenotípicas nestes doentes. Isto deve-se quer ao facto destas mutações serem raras, quer ao facto de uma das abordagens frequentemente seguidas para o diagnóstico genético em indivíduos caucasianos consistir na avaliação das variantes Y165C e G382D e o estudo da totalidade do gene ser apenas efectuado se uma destas mutações for encontrada, não permitindo o diagnóstico de indivíduos homocigóticos para outras mutações. Finalmente, a maioria dos trabalhos publicados não referem, de forma individualizada, as características de cada indivíduo. Existem, contudo, alguns relatos que sugerem a existência de diferenças fenotípicas, especialmente em relação à idade de diagnóstico e à presença de manifestações extra-cólicas<sup>7,8</sup>.

Descrevemos o fenótipo de duas irmãs, homocigóticas para a mutação 1103delC no gene *MYH*, que se caracterizou por um curso agressivo, com uma idade jovem de desenvolvimento da doença, fenótipo cólico grave e adenomatose duodenal exuberante.

## CASO CLÍNICO

### História Clínica

A *proband* é uma mulher caucasiana de 28 anos de idade, com uma história de diarreia crónica e rectorragias. Da história familiar há a referir a consanguinidade dos seus pais (primos direitos) e a ausência de história de CCR ou pólipos do cólon. Para esclarecimento do quadro clínico, foi efectuada uma colonoscopia que revelou 20 a 30 pólipos dispersos pelo cólon, com dimensões que variavam entre os 3 e os 30 mm e uma lesão ulcerada no ângulo hepático. Foi submetida a colectomia total com anastomose íleo-rectal. O exame anatomo-patológico revelou, no cólon direito, um adenocarcinoma moderadamente diferenciado, estágio pT3N0, três adenocarcinomas em adenomas e dois adenomas vilosos de grandes dimensões, um deles com displasia de alto grau. Apresentava ainda, dispersos por todo o cólon, cerca de 20 adenomas tubulares e tubulo-vilosos com displasia de baixo grau.

Devido a este fenótipo cólico, foi proposta a realização de colonoscopia aos familiares de primeiro grau. A irmã, aos 24 anos de idade, tinha cerca de 20 pólipos, com 2 a 30 mm, dispersos pelo cólon; seis das lesões foram ressecadas endoscopicamente, tratando-se de adenomas tubulares e tubulo-vilosos com displasia de baixo grau. Foi submetida a colectomia total profiláctica com anastomose íleo-rectal e o exame anatomo-patológico da peça cirúrgica revelou 12 adenomas tubulares com displasia de baixo grau. O pai, aos 60 anos de idade, apresentava cinco adenomas tubulares com displasia de baixo grau, com 3 a 5 mm, quatro deles localizados no cólon direito e um na sigmoideia. A mãe, aos 51 anos, tinha dois adenomas tubulares com displasia de baixo grau, com 2 e 5 mm, localizados no cego.

As duas irmãs foram submetidas a endoscopia digestiva alta. O exame da *proband*, incluindo a avaliação histológica de biópsias aleatórias da região peri-ampular, não revelou alterações. A sua irmã apresentava cerca de 30 pólipos na segunda porção do duodeno, com 2 a 15 mm, cuja histologia revelou tratar-se de adenomas tubulares com displasia de baixo grau – adenomatose duodenal estágio III da classificação de Spiegelman modificada (oito pontos) – figura 1.

As duas irmãs foram submetidas a fundoscopia e não



Fig. 1 - Imagem da segunda porção do duodeno da irmã da proband - Adenomatose duodenal em estágio III da classificação de Spiegelman modificada.

foram detectadas lesões sugestivas de hipertrofia congénita do epitélio pigmentar da retina. O estudo radiológico do esqueleto e mandíbula não revelou alterações, não havendo também evidência de tumores desmóides ou tumores dos tecidos moles.

#### Diagnóstico Genético

Devido à presença de adenomas múltiplos do cólon numa doente jovem decidiu-se proceder a diagnóstico genético na *proband*, o qual foi iniciado pelo gene *APC*. O ADN foi isolado a partir de células do sangue periférico e o exão 15 do gene *APC* foi avaliado pelo teste da proteína truncada; os exões 1-14 foram estudados por electroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE). Não foi detectada qualquer mutação no *APC*

Todos os exões do gene *MYH* foram analisados por *Single Stranded Conformation Polymorphism* (SSCP) como previamente descrito por Sieber et al<sup>2</sup>. Devido à detecção de uma banda anormal no exão 12, procedeu-se a sequenciação directa utilizando um sequenciador automático (ABI PRISM 310 da Applied Biosystems). Detectou-se homozigotia para a mutação *frameshift* 1103delC no codão 368. A irmã é também homozigótica para esta mutação e ambos os pais são heterozigóticos.

A caracterização fenotípica e genotípica da família está representadas na figura 2.

#### DISCUSSÃO

A mutação 1103delC já foi descrita previamente em homozigotia<sup>9</sup>, sem que estejam especificadas, no entanto, as características fenotípicas do doente. Foi também identificada em heterozigotia composta com as mutações Y165C (11), G382D (5) e 199delG (4). O nosso caso sugere que a homozigotia para esta mutação resulta num fenótipo particularmente agressivo, com o desenvolvimento de adenomas numa idade jovem e com um elevado risco de progressão rápida para CCR. A nossa *proband*, apesar da sua idade jovem e de não apresentar uma polipose cólica difusa tinha quatro CCR, um deles com in-

vasão transmural. Este é o caso mais jovem de CCR associado ao *MYH* descrito na literatura. Para além disso, a sua irmã de 24 anos, embora tenha um fenótipo cólico menos severo, apresentou um quadro de adenomatose duodenal grave (estádio III da classificação de Spiegelman).

Em oito dos 19 casos publicados de indivíduos

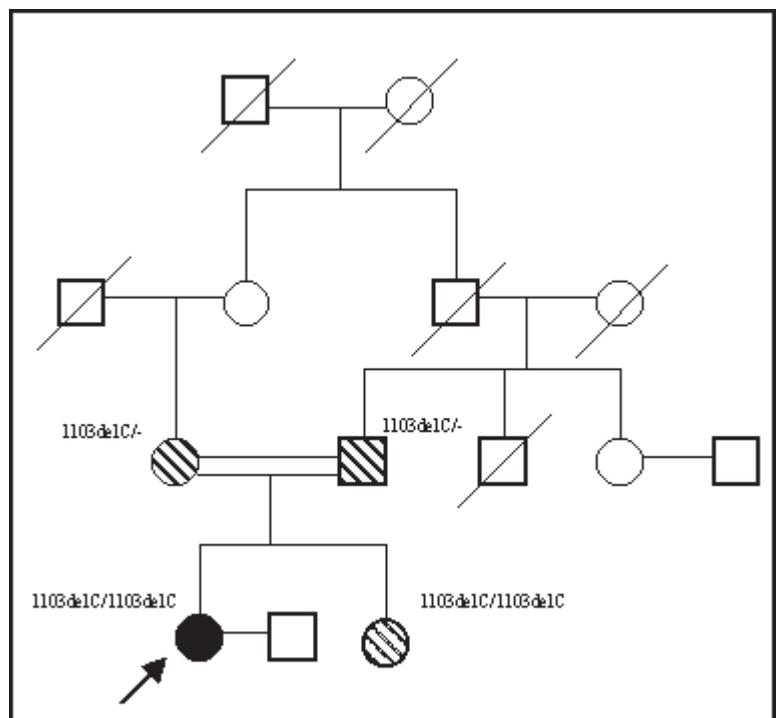


Fig 2 - ➔ Proband ◐ Adenomas do cólon ● CCR

homozigóticos ou heterozigóticos compostos para mutações *nonsense* não estão especificadas as características fenotípicas. Para os restantes 11 (incluindo os dois descritos neste artigo) a média de idades, na altura do diagnóstico de CCR, foi de 41 anos e foram descritos vários casos de manifestações extra-cólicas da doença, nomeadamente a associação com pilomatricomas<sup>8</sup>, com adenomas das glândulas sebáceas (síndrome de Muir-Torre)<sup>9</sup> e dois casos de adenomatose duodenal<sup>2</sup>.

A proteína codificada pelo gene *MYH* funciona como uma glicosilase do ADN, específica para a adenina, que remove os resíduos da adenina que se tenham emparelhado de forma incorrecta com resíduos guanina ou com a base 8-Oxo-dG, uma alteração do ADN provocada por stress oxidativo. As mutações *missense* Y165C e G382D afectam resíduos conservados da proteína, tendo sido demonstrado, através de estudos *in vitro* das mutações homólogas na *E. Coli*, serem responsáveis por uma diminuição da ligação da proteína ao substrato<sup>1</sup>.

As mutações *frameshift* alteram por completo a sequência de leitura dos tripletos, resultando na formação acidental de um codão *stop*, a jusante da mutação, com a consequente formação de uma proteína truncada. A mutação *frameshift* 1103delC produz um sinal *stop* no codão 393.

Os estudos publicados sugerem que a PAM é uma entidade fenotipicamente heterogénea, que inclui casos com três adenomas e outros com mais de 100<sup>2</sup>. O motivo para estas discrepâncias é, até ao momento, desconhecido, não se podendo excluir que exista alguma relação com o genótipo envolvido. Os nossos dois casos sugerem que vários outros factores devem ser considerados no diagnóstico clínico de PAM, para além do número de adenomas do cólon, nomeadamente: a idade de diagnóstico dos adenomas, a presença de adenomas de risco ou CCR síncrono e a história familiar.

A terapêutica de indivíduos com PAM merece também alguma reflexão. Tal como para os restantes síndromas de pólipos múltiplos do cólon, a maioria dos autores recomenda a vigilância endoscópica com polipectomia, ficando a opção de cirurgia profiláctica reservada para os casos nos quais a terapêutica endoscópica não é possível. Em relação à *proband*, a decisão de colectomia foi tomada devido à presença, na altura do diagnóstico, de adenocarcinoma do cólon associado a polipose difusa. Em relação à irmã da *proband*, apesar da polipose ser possivelmente controlável com a vigilância endoscópica, a realização de colectomia profiláctica foi, na nossa opinião, justificada pela idade jovem de diagnóstico, pela expressão fenotípica da doença na sua irmã e pela presença de um diagnóstico genético conclusivo.

Embora a presença de adenomas duodenais tenha sido descrita, até ao momento, em apenas sete indivíduos com PAM<sup>2,4,11,12</sup>, um estudo recente coloca a hipótese de que esta manifestação ocorra em até 25% dos indivíduos com mutações germinais bialélicas no gene *MYH*<sup>12</sup>. Também já foi descrito um caso de adenocarcinoma do duodeno<sup>13</sup>, pelo que é de admitir que o risco de progressão da adenomatose duodenal para cancro, no contexto da PAM, possa ser semelhante ao descrito para a PAF. Embora a maioria dos indivíduos com pólipos duodenais apresente mais de 100 pólipos do cólon, o nosso caso clínico sugere que a gravidade da doença duodenal pode ser independente da expressão cólica. Consideramos, por isso, que todos os doentes com PAM têm indicação para a realização de vigilância com endoscopia digestiva alta.

## BIBLIOGRAFIA

1. AL-TASSAN N, CHMIEL NH, MAYNARD J et al: Inherited variants of MYH associated with somatic G:C>T:A mutations in colorectal tumors. *Nat Genetics* 2002;30:227-232
2. SIEBER OM, LIPTON L, CRABTREE BS et al: Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis and germline mutations in MYH. *N Engl J Med* 2003;348:791-799
3. BOLDOGH I, MILLIGAN S, SOOG LEE M, BASSETT H, LLOYD RS, MCCULLOUGH AK: hMYH cell cycle-dependent expression, subcellular localization and association with replication foci: evidence suggesting replication-coupled repair of adenine:8-oxoguanine mispairs. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 2802-2809
4. VENESIO T, MOLATORE S, CATTANEO F, ARRIGONI A, RISIO M, RANZANI GN: High frequency of MYH gene mutations in a subset of patients with familial adenomatous polyposis. *Gastroenterol* 2004;126:1681-1685
5. ISIDRO G, LARANJEIRA F, PIRES A et al: Germline MUTYH (MYH) mutations in portuguese individuals with multiple colorectal adenomas. *Hum Mut* 2004; 24(4):353-4
6. ENHOLM S, HIENONEN T, SUOMALINEN A et al: Proportion and phenotype of MYH-associated colorectal neoplasia in a population-based series of Finnish colorectal cancer patients. *Am J Pathol* 2003;163:827-832
7. PONTI G, PONZ DE LEON M, MAFFEI S et al: Attenuated familial adenomatous polyposis and Muir-Torre syndrome linked to compound biallelic constitutional MYH gene mutations. *Clin Genet.* 2005;68:442-447
8. BAGLIONI S, MELEAN G, GENSINI F et al: A kindred with MYH-associated polyposis and pilomatricomas. *Am J Med Genet* 2005; 34A:212-214
9. ACETO G, CURIA MA, CESCHI S et al: Mutations of APC and MYH in unrelated italian patients with adenomatous polyposis coli. *Hum Mut* 2005;26:394
10. ELIASON K, HENDRICKSON BC, JUDKINS T et al: The potential for increased clinical sensitivity in genetic testing for polyposis colorectal cancer through the analysis of MYH mutations in North American patients. *J Med Genet* 2005;42:95-6
11. SAMPSON J, DOLWANI S, JONES S et al: Autosomal recessive

sive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations in MYH. Lancet 2003;362:39-41

12. NIELSEN M, FRANKEN PF, REINARDS TH et al: Multiplic-

ity in polyp count and extracolonic manifestations in 40 Dutch patients with MYH associated polyposis coli. J Med Genet. 2005;42:e54



*Sede Ordem dos Médicos*