
Artigo Original / Original Article

CARCINOMA DO CÓLON OU RECTO EM JOVENS: CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA E VIAS DE CARCINOGENESE

I. CLARO¹, S. FERREIRA¹, P. LAGE¹, M. SALAZAR¹, I. FRANCISCO², B. FILIPE², C. ALBUQUERQUE², P. CHAVES³, M. CRAVO¹, C. NOBRE LEITÃO^{1,2}

Resumo

Introdução: A instabilidade de microssatélites, marcador da via mutadora, é detectada em 15% dos carcinomas do cólon ou recto esporádicos e numa percentagem mais elevada em doentes jovens (idade < 45 anos). Aceita-se que a maioria dos restantes carcinomas do cólon ou recto siga a via supressora.

Objectivos: Em doentes com carcinoma do cólon ou recto em idade inferior a 45 anos: 1) Avaliar a prevalência das vias mutadora e supressora; 2) Correlacionar as características clínico-patológicas e a sobrevivência com a via seguida.

Doentes e Métodos: Incluíram-se 42 doentes (19 homens/23 mulheres, média de idades: 35,5±6,0 anos). A via mutadora foi caracterizada com os marcadores de Bethesda, considerando-se ser a via seguida pelo tumor na presença instabilidade de alto grau. A via supressora foi avaliada através da análise das perdas de heterozigotia (genes *APC*, *p53*, *DCC* e *SMAD4*); considerou-se que o tumor seguia a via supressora quando existiam alterações em pelo menos 2 (50%) des-ses genes. Analisaram-se ainda: localização, diferenciação, produção de muco, estádio, ocorrência de recidiva do carcinoma do cólon ou recto e sobrevivência.

Resultados: 14/42 (33%) carcinomas do cólon ou recto seguiram a via mutadora e 16/42 (38%) a via supressora. Em 12/42 (29%) carcinomas do cólon ou recto terá sido seguida uma via alternativa. No entanto, considerando dois grupos, com idade inferior ou igual e superior a 35 anos, nos mais jovens os carcinomas do cólon ou recto seguiram a via mutadora em 53,3%, a via supressora em 13,3% e a via alternativa em 33,3% (p=0,03). Registou-se uma localização preferencial dos carcinomas do cólon ou recto que seguiram a via mutadora ao nível do cólon proximal e dos que seguiram a via alternativa no recto (p<0,001). Os carcinomas do cólon ou recto da via supressora apresentaram menor produção de muco (p=0,03). A probabilidade cumulativa de sobrevivência aos 8 anos foi: 70% na via mutadora, 69% na via alternativa e 50% na via supressora.

Conclusões: 1) A via mutadora só foi preferencialmente seguida nos casos com carcinoma do cólon ou recto em idade inferior a 35 anos; 2) Uma percentagem importante dos carcinomas do cólon ou recto em jovens seguiu uma via alternativa, ainda não caracterizada; 3) Nestes últimos casos, verificou-se uma localização predominante dos car-

Summary

Background: Microsatellite instability, a hallmark of the mutator pathway in colorectal carcinogenesis, is present in 15% of sporadic colorectal cancers and in a higher percentage of young patients (< 45 years). The majority of the remaining colorectal cancers may follow the classic suppressor pathway.

Aims: In patients with colorectal cancers diagnosed at an age < 45 years: 1) to evaluate the prevalence of the mutator and suppressor pathways; 2) to analyse the clinic and pathological characteristics and survival of the two pathways.

Patients and Methods: Forty-two patients (19 male and 23 female, mean age: 35.5 ± 6.0 yrs) were included. The mutator pathway was analysed using the Bethesda markers. Colorectal cancers presenting microsatellite instability-high were classified as following the mutator pathway. To study the involvement of the suppressor pathway, loss of heterozygosity was evaluated at the following *loci*: *APC*, *p53*, *DCC* and *SMAD4* genes. When loss of heterozygosity was detected in 2 (50%) or more *loci*, suppressor pathways was assumed. The cancer location, pathological characteristics, stage and recurrence were also recorded.

Results: 14/42 (33%) and 16/42 (38%) of colorectal cancers followed the mutator and the suppressor pathway, respectively. In 12/42 (29%) an alternative pathway of carcinogenesis may have been followed. However, if we divide the patients into two groups according to whether the age at time of diagnosis was before or after 35 years, in the younger group the mutator pathway was observed in 53.3%, the suppressor pathway in 13.3% and an alternative pathway in 33.3% of colorectal cancers (p=0.03). Colorectal cancers following the mutator pathway tended to be located at the proximal colon, while those following the alternative pathway tended to be at the rectum (p<0.001). Colorectal cancers following the suppressor pathway showed less mucous production (p=0.03). The cumulative survival rate at 8 years was: 70% for mutator, 69% for alternative and 50% for suppressor pathways.

Conclusions: 1) The mutator pathway was preferentially followed only in colorectal cancer patients under the age of 35; 2) A significant number of cases followed an alternative pathway yet to be described; 3) In the latter cases, colorec-

GE - J Port Gastroenterol 2007, 14: 61-67

(1) Serviço de Gastroenterologia

(2) Centro de Investigação de Patobiologia Molecular

(3) Serviço de Anatomia Patológica

Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, E.P.E., Lisboa, Portugal.

Recebido para publicação: 03/10/2006

Aceite para publicação: 06/12/2006

cinomas no recto e uma sobrevivência elevada, semelhante à da via mutadora; 4) Admitimos a existência de uma via alternativa em jovens com carcinoma do cólon ou recto, com características próprias e associada a eventos genéticos ainda não esclarecidos.

INTRODUÇÃO

O carcinoma do cólon ou recto (CCR) apresenta uma incidência elevada nos Estados Unidos da América e nos países da Europa Ocidental (1). Os CCR diagnosticados em doentes com idade inferior a 45 anos, considerados jovens, são relativamente raros, constituindo menos de 10% de todos os casos (2,3).

No desenvolvimento do CCR têm sido descritas alterações genéticas que permitiram a identificação de pelo menos duas vias distintas de carcinogénese. A primeira via, designada por via supressora (VS) ou clássica, resulta da inactivação de genes supressores tumorais, nomeadamente dos genes *APC* (cromossoma 5q), *p53* (cromossoma 17p), *DCC* (cromossoma 18q) e *SMAD4* (cromossoma 18q) e activação de oncogenes como o *k-ras* e a β -catenina (4-7). No seu conjunto, estes fenómenos condicionam perdas de heterozigotia que conduzem a instabilidade cromossómica (8). A VS é a via predominante, sendo responsável por cerca de 80% dos CCR esporádicos (9).

A segunda via, designada por via mutadora (VM), foi descrita mais recentemente e, para além de outros eventos genéticos, é caracterizada pela inactivação de genes que se encontram envolvidos no sistema de reparação de erros de replicação do ADN, sobretudo o *MLH1* e o *MSH2* (10,11). A VM caracteriza-se fenotipicamente pelo aparecimento de instabilidade de microssatélites de alto grau, e é responsável por cerca de 15% dos CCR esporádicos (12-14). Em doentes com diagnóstico de CCR em idade inferior a 45 anos, tem sido descrita uma frequência mais elevada para a VM (15-18). As alterações que caracterizam a VM podem ser adquiridas a nível somático, na célula neoplásica, ou estarem na dependência de mutações germinais nos genes de reparação do ADN, o que permitirá então a sua transmissão à descendência. A identificação de mutações germinais nos genes de reparação do ADN estabelece o diagnóstico de uma síndrome hereditária de carcinoma do cólon ou recto, a Síndrome de Lynch, o que possibilita a inclusão dos portadores da mutação identificada num programa de vigilância (19,20).

Embora nos últimos anos várias publicações tenham analisado a presença de instabilidade de microssatélites em CCR de doentes jovens, com a correspondente caracterização da VM (15-18), poucos trabalhos estu-

tal cancers were predominantly located at the rectum and patients had a high survival rate, similar to that of the mutator pathway; 4) Our results suggest that there might be an alternative pathway for colorectal cancers in young patients that presents specific characteristics and is associated with genetic events not yet known.

daram, neste grupo de doentes, as alterações genéticas que caracterizam a VS (21,22).

Os objectivos do presente estudo foram: 1) Caracterizar uma população de doentes com CCR diagnosticado em idade inferior a 45 anos, sem história familiar sugestiva de síndromas hereditárias de CCR, em relação à prevalência das VS e VM; 2) Correlacionar as características clínico-patológicas e a sobrevivência, com a via de carcinogénese seguida.

DOENTES E MÉTODOS

Doentes

No presente estudo, foram incluídos 42 doentes com CCR diagnosticado em idade inferior a 45 anos, sem critérios clínicos para síndromas hereditárias de CCR ou doença inflamatória intestinal. A média de idades dos doentes foi de 35,5+6,0 anos (19-44); 19 eram do sexo masculino e 23 do sexo feminino.

Analisou-se para cada caso a localização, o grau de diferenciação, a produção de muco e estágio do CCR, bem como a história familiar e a sobrevivência dos doentes.

Todos os casos, com material disponível, foram revistos por um patologista que desconhecia os dados clínicos no momento da análise das peças operatórias. O grau de diferenciação foi avaliado segundo os critérios definidos pela OMS (23) e a presença de muco extra-celular foi classificada através dos critérios modificados de Wiggers, em três graus: ausente (adenocarcinoma); inferior a 50% (adenocarcinoma produtor de muco) e superior a 50% (adenocarcinoma mucinoso) (24).

Análise Genética

Na análise genética utilizou-se ADN extraído de tecido tumoral e de mucosa não neoplásica colhidos de peças cirúrgicas, após fixação em formol e inclusão em parafina. A caracterização genética foi efectuada através da avaliação das perdas de heterozigotia e da pesquisa de instabilidade de microssatélites.

A análise das perdas de heterozigotia foi realizada utilizando marcadores de microssatélites próximos do *loci* dos genes *APC* (D5S346, D5S656, D5S1965, D5S421),

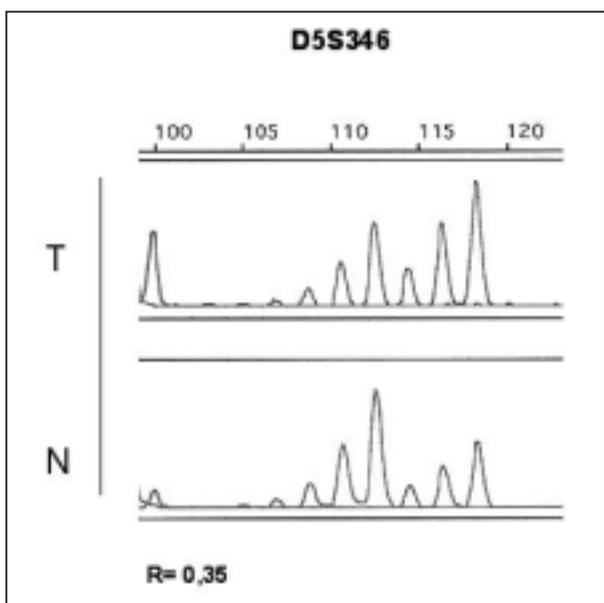


Figura 1 - Imagem exemplificativa de perda alélica para o marcador D5S346 (razão da área dos picos de 0,35; T - tumor, N - normal) obtida por GeneScan (ABI PRISM 310, Applied Biosystems).

p53 (TP53, D17S796, D17S1796), SMAD4 (D18S46), e DCC (D18S35). Cada par de ADN extraído a partir de tecido tumoral - tecido não neoplásico, foi amplificado por PCR, tendo-se utilizado primers marcados com diferentes fluorocromos, excepto para os marcadores D17S796 e D17S1796 que foram efectuados em gel de poliacrilamida desnaturante. A electroforese dos fragmentos marcados com fluorocromos foi realizada num sequenciador automático ABI Prism 310 com recurso ao software GeneScan (Applied Biosystems). Para cada marcador foi efectuada uma razão entre a área dos picos dos alelos do tecido não neoplásico e tumoral, tendo-se considerado haver perda de heterozigotia sempre que

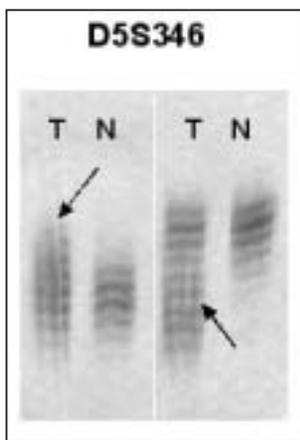


Figura 2 - Instabilidade de microssatélites para o marcador D5S346. T - tumor; M - mucosa normal. As setas indicam a presença de alelos adicionais no tumor comparativamente à mucosa normal, traduzindo a ocorrência de instabilidade.

esta razão foi superior a 1,5 ou inferior a 0,67 (Figura 1). Considerou-se que o CCR seguia a VS quando existiam alterações em pelo menos dois (50%) dos genes estudados.

A instabilidade de microssatélites foi estudada com o painel de marcadores de Bethesda (25), D2S123, D5S346, D17S250, BAT-25 e BAT-26, após amplificação por PCR e electroforese em gel de poliacrilamida desnaturante. Para visualização dos produtos de PCR, os géis foram submetidos a auto-radiografia ou revelação após coloração com nitrato de prata. A instabilidade de microssatélites foi definida pela presença de pelo menos um alelo adicional no tumor, quando comparado com a mucosa não neoplásica (Figura 2) e, de acordo com os critérios de Bethesda, classificou-se em alto grau quando se verificou para 2 ou mais marcadores, baixo grau quando se verificou para 1 marcador e estável quando não foi detectada em nenhum dos 5 marcadores testados. Considerou-se que o CCR seguia a VM na presença de instabilidade de alto grau.

Nos doentes com CCR que seguiram a VM, procedeu-se à análise de mutações germinais nos genes de reparação do ADN, MLH1 e MSH2, através de DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) a qual foi seguida de sequenciação directa do produto de PCR, sempre que foi detectada uma alteração. Nos casos em que não foram identificadas mutações pontuais, efectuou-se também MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) para pesquisa de grandes deleções.

Estatística

Na análise estatística utilizou-se o teste do χ^2 para comparação de proporções e o anova para comparação de variáveis contínuas. As curvas de sobrevivência foram estimadas de acordo com o método de Kaplan-Meier e as diferenças de sobrevivência de acordo com o teste de logrank (STATA 8.0). Considerou-se haver significado estatístico na presença de $p < 0,05$.

RESULTADOS

A correlação entre as vias de carcinogénese seguidas pelo CCR e as variáveis clínico-patológicas estudadas encontra-se discriminada no Quadro 1.

Verificámos, de acordo com os critérios descritos, que 14/42 (33%) CCR seguiram a VM e 16/42 (38%) a VS. Os restantes 12/42 (29%) CCR não apresentaram marcadores nem da VM nem da VS, admitindo-se terem seguido uma via alternativa (VA), ainda não caracterizada. Relativamente à VS, as perdas de heterozigotia foram mais frequentes no locus do gene p53 (48,1%), seguida

Quadro 1 - Correlação entre as vias de carcinogénese e as características clínico-patológicas.

	V. Mutadora (n=14)	V. Supressora (n=16)	V. Alternativa (n=12)	P
Média de idades (anos)	34,3±7,3	36,6±6,0	35,7±4,4	NS
Idade				
≤ 35 anos	8 (57,1%)	2 (12,5%)	5 (41,7%)	0,03
> 35 anos	6 (42,9%)	14 (87,5%)	7 (58,3%)	
Sexo				
Masculino	7 (50%)	8 (50%)	4 (33,3%)	NS
Feminino	7 (50%)	8 (50%)	8 (66,6%)	
Localização				
Cólon proximal	11 (78,6%)	3 (18,8%)	0 (0%)	<0,001
Cólon distal	2 (14,3%)	8 (50%)	2 (16,7%)	
Recto	1 (7,1%)	5 (31,2%)	10 (83,3%)	
Produção de muco *				
ADC	6 (42,8%)	13 (86,7%)	6 (50%)	0,03
ADC produtor muco	3 (21,4%)	1 (6,7%)	5 (41,7%)	
ADC mucinoso	5 (35,8%)	1 (6,7%)	1 (8,3%)	
Diferenciação #				
Bem	1 (8,3%)	1 (8,3%)	3 (30%)	NS
Moderadamente	7 (58,3%)	8 (66,7%)	7 (70%)	
Pouco	4 (33,3%)	3 (25%)	0 (0%)	
Estádio TNM §				
I	0 (0%)	3 (18,8%)	1 (8,3%)	NS
II	5 (41,7%)	5 (31,2%)	4 (33,3%)	
III	5 (41,7%)	4 (31,2%)	5 (41,7%)	
IV	2 (16,7%)	3 (18,8%)	2 (16,7%)	
Hist. Familiar CCR ¥				
Sim	2 (16,7%)	1 (6,2%)	1 (8,3%)	NS
Não	10 (83,3%)	15 (93,8%)	11 (91,7%)	

p - nível de significância; CCR - Carcinoma do Cólon ou Recto; ADC - Adenocarcinoma; Hist. Familiar CCR - História familiar de Carcinoma do Cólon ou Recto; *A caracterização relativa à produção de muco não se encontrava disponível em 1 caso; # A informação relativa ao grau de diferenciação não se encontrava disponível em 8 casos; § A caracterização quanto ao estágio não se encontrava disponível em 3 casos; ¥ A informação relativa aos antecedentes familiares não se encontrava disponível em 2 casos.

pelos *loci* dos genes *APC* e *SMAD4* (44,4% em ambos), e pelo *locus* do gene *DCC* (22,2%).

Os CCR que seguiram a VM localizaram-se preferencialmente no cólon proximal (78,6%) e os que seguiram a VS no cólon distal (50%). Ao invés, os associados à VA localizaram-se sobretudo no recto (83,3%) ($p < 0,001$).

Relativamente à produção de muco, disponível em 41/42 CCR incluídos na presente análise, verificámos que 5/7 (71,4%) tumores mucinosos se encontravam associados à VM enquanto os CCR que seguiram a VS foram os que apresentaram menor produção de muco, apenas 2/16 (12,5%) casos ($p=0,03$).

Não se observaram diferenças na distribuição por sexo nem na média de idades dos doentes para qualquer das vias seguidas pelos CCR. Também relativamente ao grau de diferenciação, disponível em 34/42 CCR e à distribuição por estágio TNM, caracterizada em 39/42 CCR, não se encontraram diferenças com significado estatístico.

Em relação à história familiar, disponível para 40/42 doentes incluídos na presente série, apenas 4 doentes apresentaram um familiar de 1º grau com CCR, corre-

spondendo 2 à VM, 1 à VS e 1 à VA ($p=NS$).

O tempo médio de vigilância foi de 62,8±58,2 (1-282) meses, sem diferença com significado estatístico para as 3 vias. Os CCR que seguiram a VS apresentaram um maior número de recidivas comparativamente aos que seguiram a VM ou a VA, respectivamente 62,5%, 36% e 42% ($p=NS$). A probabilidade cumulativa de sobrevivência aos 8 anos foi semelhante para as VM e VA (70% e 69% respectivamente) e superior à da via supressora (50%) ($p=NS$) - Figura 3.

Ao compararmos os doentes com CCR em idade igual/inferior e superior a 35 anos, verificámos que no primeiro subgrupo foi predominantemente seguida a VM (53,3%), enquanto que no segundo foi a VS (51,9%) ($p=0,03$).

Nos doentes com CCR que seguiram a VM, procedeu-se à análise mutacional para os genes de reparação do ADN, *MLH1* e *MSH2*. Esta encontra-se concluída em 12/14 casos. Identificaram-se 4/12 (33%) mutações pontuais, 3 no *MLH1* (*nonsense*) e 1 no *MSH2* (*splicing*), respectivamente para CCR diagnosticados aos 31, 38, 44 e 30 anos. Adicionalmente foi identificado um polimorfismo no *MLH1*, numa doente com CCR identificado aos 32 anos. Nos 2 casos que seguiram a VM e em que a história familiar não se encontrava disponível, o diagnóstico genético encontra-se concluído, não tendo sido identificada qualquer mutação germinal nos genes de reparação do ADN testados. Em 2/14 casos, o diagnóstico genético encontra-se em curso.

DISCUSSÃO

Nos últimos anos foi claramente demonstrado que os CCR se desenvolvem através de duas vias de carcinogénese distintas, a VS e a VM. Estas vias diferem do ponto de vista dos eventos genéticos, das características clínico-patológicas e do prognóstico. A VS caracteriza-se pela ocorrência de perdas de heterozigotia, a sua prevalência atinge os 80% nos casos de CCR esporá-

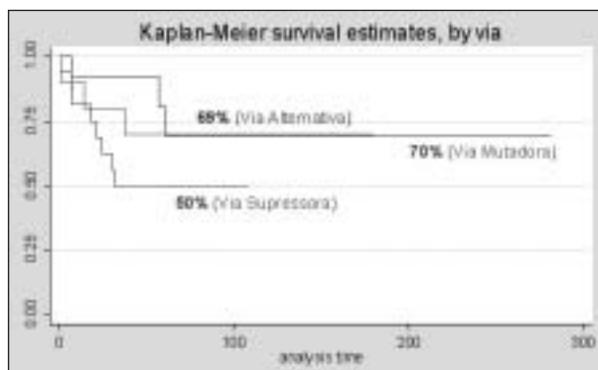


Figura 3 - Curvas de sobrevivência. A probabilidade cumulativa de sobrevivência aos 8 anos, para as vias supressora, mutadora e alternativa é, respectivamente de: 50%, 70% e 69%.

cos, mais frequentes em idade superior a 50 anos e, associa-se a um prognóstico mais desfavorável (8,9). A VM traduz-se pelo aparecimento de instabilidade de microssatélites de alto grau e, os CCR que seguem esta via localizam-se mais frequentemente no cólon proximal e são mais vezes produtores de muco (14). Esta via ocorre preferencialmente em doentes jovens, traduzindo por vezes a ocorrência de uma síndrome hereditária de CCR e, tem sido associada a um melhor prognóstico (15-18).

Mais recentemente alguns autores identificaram um subgrupo de CCR, ocorrendo entre 13% e 64% dos casos analisados, que não apresentava marcadores de nenhuma destas vias. No entanto, quer a dimensão da amostra quer a metodologia aplicada nos diversos trabalhos foi variável (21,22,26-32). As publicações mais representativas pertencem a Goel e colaboradores e Tang e colaboradores, que incluíram nas suas séries 209 e 179 doentes respectivamente (31,32). Estes dois estudos incluíram doentes com CCR independentemente da idade de diagnóstico do mesmo e, nestes trabalhos aceita-se que, embora as VS e VM possam ser distinguidas com base nas suas características moleculares, alguns casos evidenciam sobreposição de marcadores das duas vias e adicionalmente há CCR em que nenhuma das vias pode ser implicada.

Os trabalhos que analisam as diferentes vias de carcinogénese em doentes jovens são escassos e com idades de inclusão distintas (inferior a 40 ou inferior a 45 anos) (21,22,26,27). Apenas num estudo foram identificadas diferenças significativas na prevalência da VA quando se comparou a idade do diagnóstico do CCR em idade jovem e mais tardia (13 vs 64%) (22).

No presente trabalho efectuou-se a caracterização clínica, patológica e molecular de uma série de CCR diagnosticados em doentes com idade inferior a 45 anos e sem história familiar compatível com síndromas hereditárias de CCR. Verificámos que a VS foi seguida pelos CCR em 38% da globalidade da série, e que a VM foi responsável por 33% dos casos. A análise, em paralelo, da instabilidade de microssatélites e das perdas de heterozigotia, permitiu ainda identificar um grupo significativo de CCR (29%), que não apresentou marcadores para qualquer destas vias, admitindo-se assim a existência de uma via de carcinogénese alternativa. A prevalência que encontramos na nossa série para a VA, está de acordo com os resultados publicados na literatura internacional.

Apesar da VS ter permanecido, mesmo num grupo de doentes com idade de diagnóstico do CCR inferior a 45 anos, a via de carcinogénese mais frequente, verificámos que a distribuição dos CCR pelas diferentes vias diferia significativamente se a análise fosse efectuada constituindo 2 subgrupos de doentes de acordo com a idade,

inferior ou igual e superior a 35 anos. Assim, podemos constatar que a VM apenas foi preferencialmente seguida no grupo dos doentes mais jovens. Estes resultados estão de acordo com os de Liu e colaboradores (15), que numa série global de 189 CCR esporádicos, demonstram uma diferença significativa na frequência da VM para CCR diagnosticados em idade igual ou inferior a 35 anos relativamente aos diagnosticados em idade superior a 35 anos, 58% vs 12% respectivamente. Por outro lado, em 5/12 doentes com idade igual ou inferior a 35 anos foram identificadas mutações germinais em genes de reparação do ADN, estabelecendo-se assim o diagnóstico de Síndrome de Lynch em 5 novas famílias. Concluiu-se nesse trabalho que os mecanismos envolvidos na génese dos CCR nos doentes com idade igual ou inferior a 35 anos diferiam em relação aos doentes mais velhos, independentemente da identificação de novas Síndromas de Lynch, e também que esta era muito provável nos doentes mais jovens. Sugeria-se assim que, sobretudo nos doentes, com CCR em idade igual ou inferior a 35 anos, a VM deve ser a via estudada em primeiro lugar.

O facto de, na nossa série, ter sido possível identificar características clínico-patológicas distintas para as 3 vias, com diferenças estatisticamente relevantes para a localização dos CCR e para a produção de muco, reforça o significado da distinção molecular encontrada, contribuindo para a validação das diferentes vias de carcinogénese do CCR. No entanto, na literatura, as correlações encontradas entre as características clínico-patológicas e as vias de carcinogénese não são uniformes e diferem dos achados por nós encontrados. Assim, Tang e colaboradores referem que comparando as VA e VS, a primeira se associou mais frequentemente a CCR pouco diferenciados ou mucinosos (32), enquanto Chan e colaboradores localizam preferencialmente os CCR da VA no cólon distal (22).

O melhor prognóstico dos CCR que seguem a VM em relação aos que seguem a VS é reconhecido em diversos trabalhos publicados (30,33,34). As duas únicas publicações em que é abordado o prognóstico da VA, incluem doentes jovens, e associam-na a estádios patológicos mais avançados, traduzindo-se por maior envolvimento ganglionar ou metastização à distância (21,22). Salientamos no entanto, que na presente série, a sobrevivência dos CCR que seguiram a VA, cuja caracterização genética desconhecemos, se aproximou da verificada para a VM. Serão necessários mais trabalhos, sobretudo com maior número de doentes, para clarificar este aspecto.

Neste estudo, uma percentagem significativa, 4/12 (33%) dos casos que seguiram a VM resultaram de mutações germinais patogénicas nos genes de reparação do ADN, *MLH1* e *MSH2*, possibilitando o diagnóstico

de 4 novas famílias com Síndrome de Lynch. Este diagnóstico teve implicações imediatas para os doentes afectados pelo CCR, bem como para os seus familiares de 1º grau, aos quais pôde ser oferecida a possibilidade de efectuarem o diagnóstico genético, tendo os portadores da mutação iniciado um programa de vigilância. A outra alteração, identificada no gene *MLH1*, é um polimorfismo, representando uma alteração não patogénica, não tendo por isso implicações clínicas. Os resultados do presente trabalho levam-nos a admitir que no processo de carcinogénese do CCR em doentes jovens, exista uma via alternativa apresentando uma prevalência elevada e características clínico-patológicas distintas. Estará possivelmente associada a outros eventos genéticos, equacionando-se o envolvimento de eventuais silenciamentos por hipermetilação de genes supressores tumorais como o *APC*, *IGFII*, *p16* e outros localizados no cromossoma 9p e do gene que codifica os receptores de estrogénios (27,35,36), estabilização da proteína *p53* na ausência de mutações do gene *p53* (31), ou mutações bialélicas do gene *MYH* (37).

Correspondência:

Isabel Claro
 Serviço de Gastrenterologia
 Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, E.P.E.
 Fax: 217 229 855
 e-mail: iclaro@netcabo.pt

BIBLIOGRAFIA

- Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 2000;50: 7-33.
- Burt RW. Colon cancer screening. *Gastroenterology* 2000;119: 837-853.
- Parramore JB, Wei JP, Yeh KA. Colorectal cancer in patients under forty: presentation and outcome. *Am Surg* 1998; 64: 563-568.
- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model of colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61: 759-767.
- Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature* 1997;386: 623-627.
- Rajagopalan H, Nowak MA, Vogelstein B, Lengauer C. The significance of unstable chromosomes in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3: 695-701.
- Zhang B, Ougolkov A, Yamashita K, Takahashi Y, Mai M, Minamoto T. β -catenin and ras oncogenes detect most human colorectal cancer. *Clin Can Res* 2003;9: 3073-3079.
- Nowak MA, Komarova NL, Sengupta A, Jallepalli PV, Shih IM, Vogelstein B, et al. The role of chromosomal instability in tumor initiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99: 16226-16231.
- Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996;87: 159-170.
- Thibodeau SN, French AJ, Roche PC, Cunningham JM, Tester DJ, Lindor NM, et al. Altered expression of hMSH2 and hMLH1 in tumors with microsatellite instability and genetic alterations in mismatch repair genes. *Cancer Res* 1996;56: 4836-4840.
- Liu B, Parsons R, Papadopoulos N, Nicolaides NC, Lynch HT, Watson P, et al. Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients. *Nat Med* 1996;2: 169-174.
- Kim H, Jen J, Vogelstein B, Hamilton SR. Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *Am J Pathol* 1994;145: 148-156.
- Toft NJ, Arends MJ. DNA mismatch repair and colorectal cancer. *J Pathol* 1998;185: 123-129.
- Lage P, Cravo M, Albuquerque C, Gomes T, Claro I, Chaves P, et al. Instabilidade de microsatélites em carcinomas do cólon e recto esporádicos: valor na detecção de novos casos de síndromes hereditárias. *GE-Jornal Português de Gastrenterologia* 1998;5: 13-19.
- Liu B, Farrington SM, Petersen GM, Hamilton SR, Parsons R, Papadopoulos N, et al. Genetic instability occurs in the majority of young patients with colorectal cancer. *Nature Med* 1995;1: 348-352.
- Brassett C, Joyce JA, Froggatt NJ, Williams G, Furniss D, Walsh S, et al. Microsatellite instability in early onset and familial colorectal cancer. *J Med Genet* 1996;33: 981-985.
- Claro I, Cravo M, Gaspar C, Fidalgo P, Glória L, Lage P, et al. Identificação de novos casos de síndrome de Lynch em doentes jovens com carcinoma do cólon e recto. *GE-Jornal Português de Gastrenterologia* 1998; 5: 230-237.
- Kim WH, Lee HW, Park SH, Kim YI, Chi JG. Microsatellite instability in young patients with colorectal cancer. *Pathol Int* 1998;48: 586-594.
- Lynch HT, Smyrk T, Lynch JF. Overview of natural history, pathology, molecular genetics and management of HNPCC (Lynch syndrome). *Int J Cancer* 1996;69: 38-43.
- Vasen HFA, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. The International Collaborative Group on hereditary non-polyposis colorectal cancer (ICG-HNPCC). *Gastroenterology* 1999;116: 453-6.
- Yao J, Eu KW, Seow-Choen F, Vijayan V, Cheah PY. Microsatellite instability and aneuploidy rate in young colorectal-cancer patients do not differ significantly from those in older patients. *Int J Cancer* 1999;80: 667-670.
- Chan TL, Curtis LC, Leung SY, Farrington SM, Ho JW, Chan AS, et al. Early-onset colorectal cancer with stable microsatellite DNA and near-diploid chromosomes. *Oncogene* 2001;20: 4871-4876.
- Morson BC, Sotiriou LH. Types histologiques des tumeurs intestinales. Classification histologique internationale des tumeurs. N° 15, 1976.
- Wiggers T, Arends JW, Schutte B, Volovics L, Bosman FT. A multivariate analysis of pathologic prognostic indicators in large bowel cancer. *Cancer* 1986;61: 386-395.
- Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58: 5248-57.
- Losi L, Di Gregorio C, Pedroni M, Ponti G, Roncucci L, Scarselli A, et al. Molecular genetic alterations and clinical features in early-onset colorectal carcinomas and their role for the recognition of hereditary cancer syndromes. *Am J Gastroenterol* 2005;100: 2280-2287.
- Tada T, Watanabe T, Kanazawa T, Kazama S, Kotetsu S, Nagawa H. Genetic characterization of colorectal cancers in young patients based on chromosomal loss and microsatellite instability. *Scand J Gastroenterol* 2004;11: 1134-1140.
- Georgiades IB, Curtis LJ, Morris RM, Bird CC, Wyllie AH. Heterogeneity studies identify a subset of sporadic colorectal cancers without evidence for chromosomal or microsatellite instability. *Oncogene* 1999;18: 7933-7940.
- Hawkins NJ, Tomlinson I, Meagher A, Ward RL. Microsatellites-

- table diploid carcinoma: a biologically distinct and aggressive subset of sporadic colorectal cancer. *Br. J. Cancer* 2001;84: 232-236.
30. Choi SW, Lee KJ, Bae YA, Min KO, Kwon MS, Kim KM, et al. Genetic classification of colorectal cancer based on chromosomal loss and microsatellite instability predicts survival. *Clin Cancer Res* 2002;8: 2311-2322.
 31. Goel A, Christian NA, Niedzwiecki D, Chang DK, Ricciardiello L, Carethers JM, et al. Characterization of sporadic colon cancer by patterns of genomic instability. *Cancer Res* 2003;63: 1608-1614.
 32. Tang R, Changchien CR, Wu MC, Fan CW, Liu KW, Chen JS, et al. Colorectal cancer without high microsatellite instability and chromosomal instability - an alternative genetic pathway to human colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2004;25: 841-846.
 33. Gryfe R, Kim H, Hsieh ETK, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *New Engl J Med* 2000;342: 69-77.
 34. Halling KC, French AJ, McDonnell SK, Burgart LJ, Schaid DJ, Peterson BJ, et al. Microsatellite instability and 8p allelic imbalance in stage B2 and C colorectal cancers. *J Natl Cancer Inst* 1999;91: 1295-1303.
 35. Goel A, Arnold CN, Boland CR. Multistep progression of colorectal cancer in the setting of microsatellite instability: new details and novel insights. *Gastroenterology* 2001;121: 1497-1502.
 36. Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 2001;61: 3225-3229.
 37. Wang L, Baudhuin LM, Boardman LA, Steenblock KJ, Petersen GM, Halling KC, et al. MYH mutations in patients with attenuated and classical polyposis and with young onset colorectal cancer without polyps. *Gastroenterology* 2004;127:9-16.