

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Estudo de caso – abordagem clínica a doente com síndrome de *Lynch*

Maria Alexandra Amorim Martingo

M

2021





CASO CLÍNICO, COM ENQUADRAMENTO TEÓRICO

Estudo de caso – abordagem clínica a doente com síndrome de *Lynch*

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Estudante

Maria Alexandra Amorim Martingo

alexandra.martingo@gmail.com

Mestrado Integrado em Medicina – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Centro Hospitalar Universitário do Porto

Orientador

Professor Doutor Ricardo Marcos-Pinto

Assistente Graduado de Gastroenterologia do Centro Hospitalar do Porto

Coorientadora

Doutora Joana Inês Alves da Silva

Interna de Formação Específica de Gastroenterologia do Centro Hospitalar do Porto

Junho 2021



Assinatura do estudante:

Maria Alexandra Amorim Martins

Assinatura do orientador:

Paulo Inácio Reis

Assinatura do coorientador:

Joana Inês Alves da Silva

DEDICATÓRIA

Com muito amor dedico este trabalho aos meus pais, Jerónimo e Lurdes, por todos os seus sacrifícios e apoio ao longo da minha vida. Ao meu Pai, por toda a sua sabedoria, integridade e companheirismo. À minha Mãe, por toda a sua resiliência, coragem e carinho. Ao meu Irmão Daniel, por tudo o que me ensinou desde muito pequena.

Aos meus amigos, Alex, Alex G, Ana, Ângela, Avelino, Carlitos, Francisco, Ju, Lucka, Marquitos, Pedrosa, Picão, Pinho, Su, Tiago, Tono, por olharem e me fazerem olhar para a vida como uma imensa alegria.

A todos os meus colegas de curso que caminharam comigo ao longo destes seis anos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Doutor Ricardo Marcos-Pinto, agradeço por ter aceite fazer parte deste trabalho, por toda a sua orientação técnico-científica e disponibilidade.

À minha coorientadora, Doutora Joana Inês Silva, expresso o meu enorme agradecimento por todo o seu apoio e ajuda incansáveis ao longo da realização deste projeto.

RESUMO

Introdução

A síndrome de *Lynch* é uma das síndromes hereditárias de cancro colorretal mais comuns. Os indivíduos afetados apresentam um risco acrescido para cancro colorretal e neoplasias extracólicas. É uma doença com transmissão autossómica dominante que surge após uma mutação germinativa num dos genes envolvidos na reparação do ADN: MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2. Recentemente, verificou-se que o gene EPCAM, quando mutado, também está envolvido no aparecimento da síndrome de *Lynch*. Sabe-se que o fenótipo destes indivíduos varia de acordo com o gene afetado, sendo que a mutação no gene EPCAM condiciona menor risco para neoplasias extracólicas. O diagnóstico desta síndrome é estabelecido a partir da realização de testes genéticos, após a aplicação de teste de rastreio (critérios clínicos e/ou testes de avaliação tumoral). A identificação precoce da síndrome de *Lynch* e a elaboração de um programa de vigilância oncológica para os indivíduos afetados é fundamental para aumentar a sua taxa de sobrevivência.

Caso clínico

Um doente é referenciado à consulta de gastroenterologia risco oncológico pelo facto da sua mãe apresentar critérios clínicos da síndrome de *Lynch*. Após realizar testes genéticos, verificou-se que o doente era portador de uma deleção da região terminal (deleção dos exões 8 e 9) numa das cópias do gene EPCAM. A colonoscopia de rastreio após o diagnóstico da síndrome de *Lynch* revelou a presença de um adenocarcinoma do cólon direito.

Discussão

A aplicação dos critérios clínicos da síndrome de *Lynch* é essencial na identificação de doentes para posterior avaliação genética. O doente foi submetido a colectomia total principalmente pelo risco aumentado de desenvolvimento de cancro colorretal metácrono que existe na síndrome de *Lynch*. O fenótipo neoplásico agressivo da família deste doente pode ser explicado pelo facto de que as deleções no gene EPCAM próximas do gene MSH2 acarretam maior risco de neoplasias extracólicas. Desse modo, o doente deve ser submetido a vigilância oncológica colorretal e gástrica, sendo que os programas de rastreio de outras neoplasias, como do trato urinário e pâncreas, ainda carecem de evidências. Posteriormente, como parte integrante do manejo dos doentes com síndrome de *Lynch*, a descendência do doente em estudo deve ser também referenciada para uma consulta de risco oncológico.

Conclusão

Perante a suspeita da síndrome de *Lynch* num indivíduo, a colheita de uma boa história clínica é crucial na abordagem inicial. Os testes genéticos constituem uma mais valia na identificação precoce destes indivíduos e na implementação dos programas de rastreio oncológicos que devem ter sempre em conta a variabilidade genotípica e fenotípica que caracteriza esta doença.

Palavras-chave

síndrome de *Lynch*; cancro colorretal hereditário não polipóide; defeitos na reparação do ADN; instabilidade de microssatélites; mutação EPCAM; rastreio

ABSTRACT

Introduction

Lynch syndrome is one of the most common hereditary colorectal cancer syndromes. The affected individuals have an increased risk for colorectal cancer and extracolonic malignancies. This syndrome has a dominant autosomal transmission which occurs after a germline mutation in one of the DNA mismatch repair genes: MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2. Recently, it was discovered that the EPCAM gene, when mutated, is also involved in the development of Lynch syndrome. The phenotype of these individuals depends on the affected gene and EPCAM mutation is associated with lower risk for extracolonic malignancies. The diagnosis of this syndrome is established with genetic tests, after the application of screening methods (clinical criteria and/or tumor evaluation tests). The early identification of Lynch syndrome and the planning of an oncology screening program for the affected individuals is fundamental to increase their survival rate.

Case report

A patient is sent to a gastroenterology oncology risk consultation due to his mother presenting clinical criteria of Lynch syndrome. When genetic tests were applied, it was discovered that the patient was a carrier of a terminal region deletion (exons 8 and 9 deletion) in one of the EPCAM gene copies. The screening colonoscopy after the diagnosis of Lynch syndrome revealed the presence of a right colon adenocarcinoma.

Discussion

The application of Lynch syndrome clinical criteria is essential to identify patients for posterior genetic evaluation. The patient was submitted to total colectomy, especially because of the increased risk in development of metachronous colorectal cancers associated with Lynch syndrome. The aggressive malignancy phenotype of this patient's family could be explained by the fact that EPCAM gene deletions near the MSH2 gene result in greater risk to extracolonic malignancies. Thus, the patient should be submitted to colorectal and gastric cancer surveillance; the screening programs to other malignancies, such as urinary tract and pancreas, still need more evidence. Subsequently, as an integrant part of the management of *Lynch* syndrome patient's, the patient's offspring should also be sent to a oncology risk consultation.

Conclusion

When Lynch syndrome is suspected in an individual, the realization of a good clinical history is crucial on an initial approach. The genetic testing are of the most importance in the early identification of these individuals and in the implementation of oncology screening programs which should always have in consideration the genotype and phenotype heterogeneity that characterize this disease.

Keywords

Lynch syndrome; hereditary non-polyposis colorectal cancer; DNA mismatch repair; microsatellite instability; EPCAM mutation; screening

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS - ácido acetilsalicílico
ADN – ácido desoxirribonucleico
A-IM - alta instabilidade de microssatélites
CCR - cancro colorretal
EDA - endoscopia digestiva alta
EPCAM - molécula de adesão celular epitelial
ESGE - *European Society of Gastrointestinal Endoscopy*
ESMO - *European Society for Medical Oncology*
Hp - *helicobacter pylori*
IHQ - imunohistoquímica
IM - instabilidade de microssatélites
MLH1 – *MutL Homolog 1*
MLPA - *multiplex ligation-specific probe amplification*
MMR - *mismatch repair*
MSH2 – *MutS Homolog 2*
MSH6 – *MutS Homolog 6*
NGS - *next-generation sequencing*
PAF - polipose adenomatosa familiar
PD1 - *programmed death 1*
PDL1 - *programmed death-ligand 1*
PMS2 – *post meiotic segregation increased 2*
PREMM5 - *prediction model for gene mutations*
QT - quimioterapia
RMN - ressonância magnética nuclear
SL - síndrome de *Lynch*
TAC - tomografia axial computadorizada

ÍNDICE

DEDICATÓRIA	i
AGRADECIMENTOS.....	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	vii
INTRODUÇÃO	1
CASO CLÍNICO.....	6
Apresentação do doente 1	6
Fenótipo	6
Testes genéticos	7
Programa de vigilância oncológica	7
Apresentação do doente 2	7
Cancro colorretal	8
Enquadramento na família.....	9
DISCUSSÃO	10
Vigilância	11
Cancro colorretal	12
Tratamento.....	13
Outras neoplasias	16
Neoplasia gástrica	16
Neoplasia do intestino delgado.....	17
Neoplasia do trato urinário	17
Neoplasia pancreática	17
Neoplasia da tiróide	18
Seguimento de familiares de alto risco.....	18
CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS.....	20

INTRODUÇÃO

A síndrome de *Lynch* (SL) corresponde a uma das síndromes de neoplasias hereditárias mais comuns, correspondendo a 3% de todos os cânceres colorretais (CCR)¹. Estima-se que a incidência da SL na população em geral seja de 1:370².

As características clínicas desta síndrome foram primeiramente descritas em 1895 por *Aldred Warthin*, mas foi apenas em 1984, após as investigações de *Henry Lynch*, que recebeu pela primeira vez a designação de SL³.

Trata-se de uma doença autossômica dominante (com penetrância de 80-85%) que implica um risco aumentado para CCR (50-80%) e neoplasias extra-cólicas nomeadamente endometrial (40-60%), gástrica (11-19%), ovárica (9-12%), hepatobiliar (2-7%), trato urinário superior (4-5%), pancreática (3-5%), intestino delgado (1-4%) e sistema nervoso central (1-3%)^{4,5}. A síndrome de *Muir-Torre* e de *Turcot* constituem variantes da SL que se caracterizam pela existência de tumores benignos cutâneos (adenomas sebáceos e queratoacantomas) e glioblastoma, respetivamente⁶.

A SL resulta de uma mutação germinativa num dos quatro genes de reparação do ADN (*mismatch repair* - MMR) (80% das mutações em MLH1 e MSH2, e 10-20% em MSH6 e PMS2)⁵. A carcinogénese é facilitada pela inativação bialélica num desses genes, resultante da combinação dessa mutação germinativa seguida de uma mutação somática⁷.

A alteração dos genes MMR causa instabilidade genética nas células tumorais. Estes erros de replicação do ADN ocorrem principalmente em sequências curtas de repetição de ADN, ou seja em microssatélites. Quando estes erros se acumulam nestas regiões, surge alteração na sua sequência de ADN denominada de instabilidade de microssatélites (IM)⁸.

Recentemente, foi identificado em doentes com suspeita de SL uma deleção germinativa da extremidade 3' no gene que codifica a molécula de adesão celular epitelial (EPCAM) e que representa pelo menos 1-3% dos casos de SL. As deleções do gene EPCAM causam inativação epigenética do gene MSH2 que se encontra na sua proximidade (ambos ocupando posições no braço curto do cromossoma 2)⁹. Os tumores com deleções no gene EPCAM exibem perda da proteína MSH2 e alta instabilidade de microssatélites (A-IM)^{10,11}. Nos doentes com deleções no gene EPCAM, apenas ocorre inativação epigenética do gene MSH2 em tecidos que expressam a EPCAM;

por conseguinte, o fenótipo apresentado por estes doentes difere do fenótipo dos portadores de mutação MSH2¹².

A SL está associada a variabilidade fenotípica, essencialmente relacionada com o genótipo apresentado, por exemplo o risco de CCR e neoplasias extra-cólicas (sendo a neoplasia endometrial a mais comum) é maior nos indivíduos com mutações no gene MSH2^{13,14}. Por outro lado, as deleções no gene EPCAM, apesar de risco semelhante de CCR, condicionam menor risco de neoplasias extra-cólicas¹³. Quanto mais próxima a deleção no gene EPCAM estiver do gene MSH2, maior o risco de neoplasias extra-cólicas¹². Neoplasias no duodeno, pâncreas, íleo, jejuno, estômago e ovário já foram descritas em casos de deleções no gene EPCAM^{7,10-13,15,16}.

O diagnóstico da SL é estabelecido quando se deteta a mutação germinativa nos genes MMR ou EPCAM a partir de testes genéticos germinativos. De forma a selecionar quais os indivíduos que devem ser submetidos a testes genéticos, deve-se realizar em primeiro lugar testes de rastreio que sugerem não só a probabilidade de um indivíduo ser afetado pela mutação, como também qual o gene MMR que poderá estar afetado¹⁷.

Existem principalmente duas estratégias para identificar indivíduos com alto risco de terem SL, através de critérios clínicos e/ou pela avaliação tumoral.

Os critérios clínicos são usados como testes iniciais de identificação de indivíduos com alto risco de SL.

Os critérios de Amesterdão I, o primeiro grupo de critérios criado em 1991, são preenchidos quando um indivíduo apresenta pelo menos três familiares com CCR distribuídos por pelo menos duas gerações consecutivas, em que para além de se ter excluído a polipose adenomatosa familiar (PAF) como etiologia, um deles é familiar de 1º grau dos outros dois e o diagnóstico de CCR em pelo menos um dos familiares ocorreu antes dos 50 anos. De forma a aumentar a sensibilidade destes critérios, foram desenvolvidos os critérios de Amesterdão 2, em 1999, cuja diferença consiste no facto de incluírem, para além do CCR, outras neoplasias associadas à SL (neoplasia do endométrio, intestino delgado, ureter ou pelve renal). No entanto, apesar de terem boa especificidade, os critérios de Amesterdão I carecem de sensibilidade, o que motivou o surgimento de outro grupo de critérios clínicos, as *guidelines* de *Bethesda*.

As *guidelines* de *Bethesda* incluem os seguintes critérios: CCR diagnosticado num doente com menos de 50 anos; doente com CCR síncrono ou metácrono, ou outras neoplasias associadas à SL,

independentemente da idade; CCR com A-IM diagnosticado num doente com menos de 60 anos; CCR diagnosticado num doente com pelo menos um familiar de 1º grau com neoplasia associada à SL diagnosticada antes dos 50 anos; CCR diagnosticado num doente com pelo menos dois familiares do 1º ou 2º grau com neoplasias associadas à SL independentemente da idade ao diagnóstico^{4,18}.

Se todos os critérios de Amesterdão ou pelo menos um critério de *Bethesda* forem cumpridos, a avaliação tumoral deve ser feita de forma a selecionar os indivíduos para os testes genéticos. Os testes realizados nos tecidos tumorais irão identificar diretamente as alterações nos genes MMR a partir da identificação de IM por biologia molecular e/ou de perda de expressão das proteínas do sistema de reparação do ADN (MLH1, PMS2, MSH2 e MSH6) identificadas por imunohistoquímica (IHQ)^{5,19,20}.

As proteínas de reparação do ADN formam normalmente heterodímeros estáveis entre si, ou seja MLH1 liga-se a PMS2 e MSH2 liga-se a MSH6. Ao contrário dos genes PMS2 e MSH6, os genes MLH1 e MSH2 podem estabelecer ligações com outras proteínas. Assim, uma perda de expressão no gene MLH1 e MSH2 também condiciona a perda de expressão no gene PMS2 e MSH6, respetivamente⁸.

Quando os critérios de Amesterdão são cumpridos, o pedido de testes genéticos pode ser considerado independentemente da existência de alterações nos genes MMR²¹. Existem modelos matemáticos de predição clínica para SL (por exemplo o PREMM5) que também podem ser usados para ajudar na decisão do pedido dos testes genéticos quando o indivíduo não é afetado por uma neoplasia²⁰.

Atualmente, segundo a *European Society of Gastrointestinal Endoscopy* (ESGE), em indivíduos diagnosticados com CCR e com menos de 70 anos, a realização dos testes de avaliação tumoral constitui a estratégia de escolha para identificar a SL²². A *European Society for Medical Oncology* (ESMO) recomenda também a aplicação dos testes tumorais nas mulheres diagnosticadas com neoplasia endometrial, em idades mais jovens (média 49 anos), visto que 2 a 3% destas neoplasias estão associadas à SL e em mais de 50% das mulheres com SL, a primeira manifestação da doença é a neoplasia endometrial^{1,21}.

Se não existir IM e a IHQ for normal, o CCR é classificado como esporádico, excluindo-se a SL; se a IHQ mostrar perda de expressão das proteínas MSH2, MSH6 ou PMS2, devem ser pedidos os testes genéticos¹⁴.

A alteração nos genes MMR no CCR esporádico resulta do silenciamento epigenético de MLH1 que é causado tipicamente pela metilação do seu promotor. Aproximadamente 65% dos tumores com hipermetilação MLH1 apresentam a mutação V600E no gene BRAF, que na SL quase nunca é encontrada.

Assim, quando se observa a presença de A-IM e perda de expressão quer da proteína MLH1 como PMS2 na IHQ deve-se realizar a pesquisa da mutação V600E no gene BRAF e/ou da hipermetilação do promotor MLH1 antes de se pedirem os testes genéticos; se a mutação BRAF e a hipermetilação MLH1 estiverem ausentes, estes devem ser requisitados⁸.

Alguns estudos sugerem que as deleções no gene EPCAM explicam até 30% das perdas de expressão da proteína MSH2 e aproximadamente 20% dos casos de SL sem mutação encontrada nos genes MMR⁹. Recentemente, foi recomendado realizar IHQ para a proteína EPCAM nos CCR com perda de expressão da proteína MSH2¹⁶.

Antes e depois de se pedirem os testes da linha germinativa, o indivíduo deve receber uma consulta de aconselhamento genético. Quando um indivíduo é diagnosticado com SL, também os familiares do 1º grau devem ser submetidos a testes de rastreio^{14,17}.

Posteriormente, todos os indivíduos afetados na família devem ser sujeitos a um programa de vigilância oncológica para controlar o risco associado ao desenvolvimento das neoplasias associadas à SL¹⁹.

A ESGE recomenda o rastreio do CCR com colonoscopia a cada 2 anos, com início aos 25 anos para os portadores da mutação MLH1 e MSH2, e aos 35 anos para os que tenham mutação em MSH6 e PMS2²².

Segundo a ESMO não existe uma clara evidência que suporte a realização de endoscopia digestiva alta (EDA) no rastreio de neoplasia gástrica, no entanto, pode ser considerada em regiões com alta incidência desse tipo de neoplasia e em famílias com história de neoplasmas gástricos, a cada 1-3 anos, com início aos 30-35 anos. A pesquisa de *Helicobacter pylori* (Hp) deve ser também considerada.

Para o rastreio de neoplasia endometrial e ovárica, a ESMO recomenda exame ginecológico (ecografia transvaginal, análise do CA-125 sérico, e, se alterações, biópsia endometrial) anual a partir dos 30-35 anos²¹.

As recomendações para o rastreio das restantes neoplasias associadas à SL, nomeadamente do intestino delgado, trato urinário, pâncreas e próstata, continuam por definir^{1,17}.

Em relação à profilaxia de neoplasias na SL, muitos estudos sugerem que o uso do ácido acetilsalicílico (AAS) é uma possível medida preventiva, mas ainda não existe evidência suficiente para recomendar o seu uso regular¹⁷. No entanto, pode ser sugerido consumo diário de 600mg de AAS, no mínimo durante 2 anos para reduzir o risco de neoplasias associadas à SL¹⁹. Para além disso, pode ser considerada a realização de histerectomia e/ou salpingooforectomia bilateral profiláticas nas mulheres com SL que completaram o desejo de engravidar e/ou na pós-menopausa²¹.

Este trabalho consiste na descrição de um caso clínico de um doente que é referenciado à consulta de gastroenterologia risco oncológico pelo facto da sua mãe apresentar critérios clínicos de SL. Para isso, será abordada inicialmente a história clínica da sua mãe (doente 1), e de seguida a história clínica do doente em estudo (doente 2). Após a descrição da família, é apresentada uma discussão do caso clínico do doente em estudo, de forma a enquadrá-lo nos dados teóricos previamente descritos acerca da SL.

Pretende-se com este trabalho compreender de forma detalhada o processo de anamnese, diagnóstico, tratamento e seguimento de um doente com SL e realçar a importância de identificar os indivíduos de alto risco que podem vir a beneficiar de programas de deteção precoce e prevenção primária.

CASO CLÍNICO

Apresentação do doente 1

Doente do sexo feminino com antecedentes pessoais de patologia cardíaca, síndrome da apneia obstrutiva do sono, patologia benigna da mama (história de exérese de quistos benignos), patologia psiquiátrica e colecistectomizada no contexto de litíase. Relativamente à sua história familiar, a sua mãe foi diagnosticada com cancro do colo do útero e da tiróide e o seu pai com CCR aos 38 anos. Referenciada à consulta de gastroenterologia em 2010 (com 73 anos) por apresentar critérios clínicos de SL: diagnóstico de CCR numa idade inferior a 50 anos e presença de CCR metácrono, ou outras neoplasias associadas à SL, independentemente da idade (de acordo com as *guidelines de Bethesda*)¹⁸.

Ao longo da sua vida, a doente foi diagnosticada com CCR, neoplasia endometrial e gástrica.

Fenótipo

Aos 38 anos (em 1974), teve o primeiro diagnóstico de CCR, localizado no cólon direito, tendo sido submetida a hemicolectomia direita.

Em 2000, por queixa de dor abdominal, realizou colonoscopia que revelou a presença de pólipo de superfície lobulada, semi-pediculado, com cerca de 12mm, no cólon sigmóide proximal, cuja histologia demonstrou pólipo hiperplásico. Em 2002 e 2005, foi novamente submetida a colonoscopia, que evidenciou presença de adenomas com displasia de baixo grau até 10mm.

Aos 71 anos (em 2008), foi submetida a hemicolectomia esquerda por neoplasia síncrona, cuja análise histológica revelou adenocarcinoma com o estadiamento T3N0M0.

Aos 79 anos (em julho de 2016), submetida a retossigmoidoscopia por apresentar sintomatologia (retorragias), com evidência de neoplasia do coto retal, cuja biópsia revelou um adenocarcinoma ulcerado com características invasivas. Foi submetida a resseção anterior do reto e a neoplasia foi estadiada em (y)pT3N0M0R1 (*Dukes A e Jass-Morson III*).

Aos 44 anos (em 1980), foi submetida a histerectomia com anexectomia bilateral por neoplasia maligna do endométrio.

Em 1998 (aos 62 anos), realizou EDA por queixas de dispepsia com histologia a evidenciar gastrite crónica com discretos sinais de atividade e presença de Hp associada a epitélio foveolar superficial. A doente foi assim submetida a terapêutica de erradicação. Repetiu EDA um ano depois, a demonstrar metaplasia intestinal no antro, já sem colónias de Hp nem lesões pré-malignas. Voltou a repetir a EDA em 2001 que se revelou normal.

Aos 66 anos (em 2002), por sintomas dispépticos foi novamente submetida a EDA, que evidenciou lesão ulcerada no antro, cuja histologia revelou tratar-se de um adenocarcinoma gástrico de padrão tubular. Foi submetida a gastrectomia subtotal radical D2 com reconstrução em Y de Roux. A anatomia patológica classificou a neoplasia em adenocarcinoma moderadamente diferenciado, com um gânglio metastizado no pequeno epíplon, estadiada em pT3N1Mx.

Testes genéticos

Em 2006, foi feita pesquisa de grandes deleções nos genes MLH1, MSH2 por *multiplex ligation-specific probe amplification* (MLPA) que se revelou negativa. Em 2016 (com 79 anos), foi pedido novo teste genético (*next-generation sequencing* - NGS) que confirmou a presença da mutação germinativa no gene EPCAM.

Programa de vigilância oncológica

A doente 1 não manteve uma vigilância regular com colonoscopia após o diagnóstico do primeiro CCR em 1974. No entanto, após o diagnóstico de neoplasia gástrica em 2002, a doente realizou EDA para *follow-up* oncológico gástrico todos os anos até 2008 (inclusive), momento a partir do qual foi alternada a realização de EDA com ecoendoscopia.

Apresentação do doente 2

Doente do sexo masculino, fumador, apendicectomizado por apendicite aguda e história de cirurgia ortopédica. Referenciado à consulta de gastroenterologia risco oncológico em 2016 (com 48 anos) por ser descendente do doente 1, tendo realizado teste genético para a pesquisa de grandes deleções/duplicações do gene EPCAM por MLPA. A pesquisa de mutação EPCAM revelou-se positiva, ao ser detetada a deleção da região terminal (deleção dos exões 8 e 9) numa das cópias do gene EPCAM. Tem 2 irmãos.

Segundo os registos disponíveis, a última colonoscopia foi realizada em 2012 (aos 44 anos), com exérese de pólipo hiperplásico.

A histologia da primeira EDA realizada após o início de seguimento em consulta de risco oncológico revelou ausência de lesões ou condições pré-malignas gástricas e a pesquisa de Hp foi negativa.

Cancro colorretal

A primeira colonoscopia que realizou (com 50 anos) após referência ao nosso Centro Hospitalar evidenciou lesão plana no cego com 10mm, submetida a exérese endoscópica por mucosectomia, cuja histologia demonstrou adenoma tubular com displasia de alto grau, e neoplasia ulcerada no cólon ascendente cuja biópsia definiu como adenocarcinoma (com proliferação glandular citológica e arquiteturalmente atípica). Neste contexto, procedeu-se a estadiamento com TAC e PET-FDG que demonstraram a presença de um nódulo pulmonar no lobo inferior esquerdo com 12-13mm. Na PET-FDG, verificou-se que o nódulo era ligeiramente captante, sem possibilidade técnica para realização de biópsia, pelo que foi decidida vigilância imagiológica.

Foi submetido a colectomia total por via laparoscópica que mostrou no cólon direito neoplasia com aspeto macroscópico de úlcero-vegetante, de dimensões 5,5x3x0,9cm, a 10cm do topo ileal, 72cm do topo cólico e 9,5cm do topo radial. A análise microscópica da peça cirúrgica confirmou a existência de um adenocarcinoma com componente mucinoso em menos de 50% do tumor, de baixo grau (bem a moderadamente diferenciado), com padrão de crescimento infiltrativo associado a uma resposta linfóide intratumoral (leve a moderada) e peritumoral (ausente a leve). A avaliação por IHQ da peça tumoral revelou perda de expressão das proteínas do sistema de reparação do ADN MSH2 e MSH6. A neoplasia foi estadiada em pT3N0MxR0.

Após colectomia manteve rastreio de neoplasia do coto retal anualmente com recurso a retoscopia. Até à data foram removidos dois pólipos hiperplásicos diminutos do reto.

Em TAC de vigilância, um ano após a colectomia, verificou-se tiróide de aspeto nodular, que motivou a realização de uma ecografia cervical que identificou um nódulo tiroideu no lobo direito com 35mm e gânglios inespecíficos dispersos (o maior com 22mm de dimensão). A citologia aspirativa com agulha fina revelou tumor folicular, motivo pelo qual foi submetido a tiroidectomia total (aos 51 anos), tendo sido confirmado pela análise histopatológica da peça cirúrgica a presença de um adenoma folicular da tiróide.

Enquadramento na família

A mutação no gene EPCAM nesta família foi diagnosticada pela primeira vez numa familiar do 4º grau do doente 1. Esta doente teve duas irmãs e duas filhas portadoras da mesma mutação. Nesta família, os indivíduos portadores da mutação apresentaram um fenótipo agressivo e incomum, caracterizado pela presença de múltiplas neoplasias cólicas e extra-cólicas (CCR, neoplasia do estômago, do intestino delgado e/ou da tiróide), com início frequente antes dos 50 anos.

DISCUSSÃO

Quando um indivíduo é diagnosticado com SL, também os familiares do 1º grau devem ser submetidos a testes de rastreio, e por este motivo o doente 2 foi referenciado à consulta de gastroenterologia risco oncológico para iniciar um programa de rastreio adequado^{14,17}.

À data da referenciação à consulta, o doente 2 não apresentava história pessoal de neoplasia, o que permitiria aplicar os testes de avaliação tumoral e, por sua vez, auxiliar no pedido dos testes genéticos germinativos. Desse modo, foram aplicados critérios clínicos com base nos critérios de Amesterdão.

O doente 2 cumpre os critérios de Amesterdão visto que apresenta pelo menos três familiares com CCR, distribuídos por pelo menos duas gerações consecutivas, sendo um deles familiar do 1º grau dos outros dois (pelo menos a mãe, avô materno e familiar do 5º grau afetados), em que para além de se ter excluído a PAF como etiologia, o diagnóstico de CCR em pelo menos um dos familiares afetados ocorreu antes dos 50 anos (por exemplo, a sua mãe teve o diagnóstico de CCR aos 38 anos)⁴.

Visto que os critérios de Amesterdão são cumpridos pelo doente, deve ser requisitado um teste genético²¹.

Quando é conhecida uma mutação na família, o método de diagnóstico apropriado deve ser usado de acordo com o tipo de mutação. Se não se conhecer a mutação, devem ser pedidos métodos que permitam uma sequenciação genética (como por exemplo: *single-strand conformation polymorphism*, *denaturing gradient gel electrophoresis*, NGS e *sanger sequencing*), ou seja, detetar e identificar mutações pontuais e pequenas inserções/deleções. O método *sanger sequencing* é o *gold standard* e é frequentemente realizado para verificar os resultados obtidos com o NGS.

Com o NGS é possível sequenciar todo o genoma, exoma ou um gene alvo. A sua principal vantagem é a capacidade em detetar variações únicas nucleotídicas ou pequenas inserções/deleções em vários genes simultaneamente. O NGS é particularmente útil no diagnóstico da SL visto que os genes MMR apresentam grandes dimensões.

Quando nenhuma mutação pontual é detetada deve-se usar métodos que permitam a identificação de rearranjos mais extensos, como a técnica de MLPA. Esta técnica é o método mais usado no

diagnóstico da SL e permite a detecção de mutações estruturais significativas, como deleções, duplicações ou rearranjos de um ou mais exões (que representam 5 a 20% de todas as mutações nos genes MMR). Nesta técnica, em vez de se sequenciar o ADN, amplifica-se¹⁷.

Existem vantagens ao realizar testes com painéis de múltiplos genes, nomeadamente aumento da detecção de variantes patogénicas, custo-efetividade e clarificação das relações genótipo-fenótipo. No entanto, quando se utiliza painéis genéticos na testagem aumenta-se a detecção de variantes com significado incerto, ou seja, alterações genéticas que ainda carecem de *guidelines* de abordagem clínica e de modelos de aconselhamento genético²³.

Como já se tinha conhecimento da mutação no gene EPCAM na mãe do doente, foi requisitado um teste genético com base na técnica MLPA para pesquisa de grandes deleções/duplicações no gene EPCAM que, por sua vez, revelou deleção dos exões 8 e 9 numa das suas cópias.

Vigilância

Perante o diagnóstico de SL neste doente, deve-se proceder ao planeamento do programa de rastreio oncológico, começando com a realização de uma EDA e colonoscopia. Os portadores da deleção no gene EPCAM têm menor risco de neoplasia endometrial do que doentes com mutações nos genes MMR, no entanto o risco de CCR é semelhante⁹.

Para prevenir o desenvolvimento de CCR ou para detetar CCR em estadios precoces, a vigilância colonoscópica na SL é fundamental. A vigilância colonoscópica regular nos doentes com SL reduziu significativamente a incidência de CCR e a mortalidade associada em mais de 50%²². As opções endoscópicas para remover CCR precoces têm vindo a aumentar nas últimas décadas. A ressecção da mucosa em bloco, a disseção da submucosa ou a ressecção transmural são técnicas endoscópicas de remoção de CCR precoce que podem ser curativas e, por isso, evitar a necessidade de realizar uma cirurgia. Estas técnicas apresentam uma menor morbimortalidade e menor risco de complicações a longo prazo que a cirurgia colorretal²⁴.

A idade de início do começo das endoscopias e a frequência das vigilâncias futuras devem ser adaptadas ao tipo de mutação encontrada⁵. A incidência cumulativa de CCR foi de 46%, 43%, 15% e 0% para os portadores de mutações nos genes MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2 respetivamente. Para além disso, a idade de início de CCR nos indivíduos com mutações MSH6 e PMS2 é mais tardia (em cerca de 10 anos) comparativamente com os portadores de mutações MLH1 e MSH2, com muito baixo risco de CCR antes dos 30 anos²².

Assim, a ESGE recomenda o início da vigilância colonoscópica aos 25 anos para os portadores de variantes patogénicas em MLH1 e MSH2, e aos 35 anos para os portadores de variantes patogénicas em MSH6 e PMS2, com um intervalo de 2 anos em indivíduos assintomáticos com SL. Nos casos em que existiu uma preparação intestinal desadequada e/ou um procedimento incompleto recomenda-se a repetição da colonoscopia completa em 3 meses²².

Cancro colorretal

Os CCR da SL podem ser distinguidos dos CCR esporádicos pelo facto de aparecerem em idades mais precoces (em média 20 anos mais cedo)¹⁴. Para além disso, são neoplasias que frequentemente se localizam no cólon direito, são pouco diferenciadas e apresentam componente mucinoso e infiltração marcada de linfócitos T com reação linfóide tipo *crohn-like*^{5,18}.

Apesar da vigilância adequada, podem surgir CCR de intervalo (detetados antes da próxima colonoscopia de vigilância) que podem ser explicados não só pela carcinogénese acelerada (que na SL pode ocorrer em 2 a 3 anos, em comparação com os 4 a 10 anos na população em geral), mas também pela dificuldade em identificar endoscopicamente as lesões pré-cancerosas. Isto porque, os adenomas nos doentes com SL são frequentemente planos, pequenos, vilosos e apresentam displasia severa^{5,22}.

Para além disso, uma preparação intestinal inadequada ou uma ressecção incompleta das lesões também podem contribuir para uma maior falha na deteção destas lesões²². Estes achados endoscópicos e estes CCR de intervalo requerem uma endoscopia de muito boa qualidade. O uso da técnica cromoendoscopia com índigo carmim permite destacar a mucosa, melhorar a visualização dessas lesões vilosas planas e, por isso, aumentar a taxa de deteção destes adenomas⁵.

Existem poucas descrições de doentes com deleções no gene EPCAM, por isso as características deste grupo de doentes com SL continuam pouco conhecidas¹⁵. Sabe-se que os tumores com mutação no gene EPCAM exibem geralmente A-IM⁹. Em 2015, foi publicado um estudo que investigou as implicações clínico-patológicas e moleculares da expressão fenotípica do gene EPCAM no CCR. Concluiu-se que a perda parcial de expressão do gene EPCAM pode ser usada como um indicador de CCR mais agressivos e invasivos, visto que se verificou que esses tumores se associaram a estadios mais avançados com invasão linfovascular e perineural, metastização, má diferenciação histológica e presença de células de anel de sinete²⁵.

Tratamento

Os doentes com SL com CCR ou outras lesões que não se conseguem ressecar de forma endoscópica (displasia ou adenoma) têm indicação para realizar uma ressecção cirúrgica que pode ser extensa (colectomia total com ou sem proctectomia) ou segmentar (colectomia segmentar ou proctectomia com ou sem preservação do esfínter). A escolha do tipo de ressecção cirúrgica a realizar depende não só do tipo e local da lesão, como também de fatores intrínsecos do doente (idade, comorbilidades, escolha pessoal), do impacto da cirurgia na qualidade de vida e do risco do aparecimento de lesões metácrônicas⁵.

O procedimento cirúrgico escolhido para este doente foi colectomia total. Segundo a ESMO, uma colectomia extensa pode ser uma opção em doentes com SL que serão submetidos a uma cirurgia primária para tratamento do CCR, especialmente em doentes jovens (como neste caso), visto que se tem demonstrado que existe um risco aumentado de CCR metácrónico após colectomia parcial e que a qualidade de vida após uma colectomia parcial e total com anastomose ileorectal é semelhante²¹.

Após o diagnóstico de adenocarcinoma no cólon, é importante realizar o estadiamento da neoplasia com base no pedido de uma TAC com contraste, de forma a poder demonstrar a invasão local, metástases à distância e complicações, como obstrução e perfuração intestinais. No caso de cancro retal, a RMN é o exame de eleição para o estadiamento local. A PET-FDG também pode ser útil no estadiamento à distância¹.

De facto, foi diagnosticado no doente 2, aos 50 anos (durante a primeira colonoscopia realizada após confirmação da presença da mutação no gene EPCAM), CCR direito. Foi submetido a colectomia total sem proctectomia, cuja análise da peça cirúrgica revelou um CCR moderadamente a bem diferenciado, com componente mucinoso e resposta linfóide intratumoral leve a moderada, estadiado em pT3N0MxR0 (estadio IIA)²⁶. Posteriormente à cirurgia, o doente 2 realizou retoscopia anual. Isto porque, neste grupo de doentes, está preconizado realizar vigilância anual com colonoscopia do restante segmento colorretal, inclusive da região do coto retal⁵.

Após a ressecção cirúrgica da neoplasia, de forma a caracterizar melhor a lesão, foi possível aplicar os testes de avaliação tumoral, que revelaram perda de expressão das proteínas do sistema de reparação do ADN MSH2 e MSH6.

Como o teste germinativo deste doente identificou uma deleção no gene EPCAM espera-se que o gene MSH2, pelo mecanismo de inativação epigenética, perca a sua expressão durante a técnica de IHQ. Como a proteína MSH6 estabelece uma ligação estável apenas com a proteína MSH2, quando esta se altera, o heterodímero formado por elas desestabiliza, podendo levar também à perda de expressão proteica do gene MSH6 na IHQ de um doente com deleção EPCAM⁸.

Para além da importância do estudo da alteração do sistema de reparação do ADN no diagnóstico da SL, a alteração nos genes MMR constitui também um marcador de prognóstico com utilidade clínica.

Múltiplos estudos têm vindo a demonstrar que os doentes afetados por CCR com alteração no sistema de genes MMR têm um prognóstico mais favorável. O impacto prognóstico da alteração dos genes MMR parece ser mais evidente em tumores de estadios mais precoces e é menos claro nos CCR metastáticos, provavelmente devido à menor prevalência de alterações MMR na doença avançada e ao impacto confundidor da mutação V600E no gene BRAF, que no CCR metastático está associada a pior prognóstico⁸.

Assim, o estado do sistema de reparação do ADN pode ser útil para determinar o subgrupo de doentes com CCR em estadio II que apresenta um baixo risco de recorrência e em quem a quimioterapia (QT) adjuvante pode não ser necessária.

Por um lado, nos CCR de estadio II com alteração dos genes MMR, o regime de QT adjuvante com folfox (combinação de 5-fluorouracil com oxaliplatina e ácido folínico) é geralmente evitado devido ao seu melhor prognóstico⁸. Por outro lado, nos doentes com CCR de estadio III, independentemente do estado do sistema de reparação do ADN, o uso da QT adjuvante com folfox traz benefício na sobrevida⁶. Num estudo recente, verificou-se que a perda parcial da expressão do gene EPCAM no CCR pode estar associada à resistência à QT²⁵.

Os regimes de QT utilizados no tratamento dos CCR avançados/metastizados são semelhantes entre os CCR esporádicos e os CCR associados à SL²³.

Vários estudos têm vindo a demonstrar que os tumores com alterações no sistema de reparação do ADN apresentam alta capacidade mutacional e expressam diversos neoantígenos que os tornam sensíveis à imunoterapia²¹. Por conseguinte, a alteração nos genes MMR pode ser considerada um

forte fator preditivo do benefício do tratamento com inibidores de *checkpoints* imunes em vários tipos de tumores⁸.

A imunoterapia torna-se muito importante nos doentes que não são bons candidatos a QT (por exemplo devido às suas comorbilidades)⁸.

O PD1 (*programmed death 1*) constitui um recetor de superfície nos linfócitos B e T que reconhece o PDL1 (*programmed death-ligand 1*) que se encontra nos macrófagos, células dendríticas e outras células do nosso organismo. Algumas células neoplásicas apresentam também PDL1 e, por isso, ficam a ser reconhecidas como células do próprio organismo, evitando a sua destruição pelo nosso sistema imune. Ao se bloquear a interação entre PD1 e PDL1 com inibidores do *checkpoint* imune (anti-PD1), desencadeia-se a atividade antitumoral.

Os CCR com A-IM são suscetíveis aos inibidores de *checkpoints* imunes anti-PD1 por exibirem um maior infiltrado linfocítico¹. Os cancros endometriais com alteração nos genes MMR também parecem ser ótimos candidatos ao tratamento com inibidores de *checkpoints* imunes visto que também apresentam um aumento significativo da expressão de PD-L1¹⁷. Segundo a ESMO, existem dois inibidores de *checkpoint* imune que demonstraram respostas significativas em doentes afetados por neoplasias avançadas com alterações nos genes MMR: pembrolizumab para qualquer neoplasia sólida e nivolumab para os CCR²¹.

Também a proteína EPCAM (que é expressa na maioria dos cancros epiteliais) tem vindo a ser utilizada como alvo na imunoterapia de neoplasias não associadas à SL^{17,27}. O anticorpo catumaxomab (o primeiro anticorpo anti-EPCAM) mostrou benefícios no tratamento de ascite maligna associada a neoplasias com expressão positiva para EPCAM²⁸.

Em relação ao caso, o doente 2 apresentou um CCR de estadio IIA, por isso, instituir QT adjuvante não seria uma boa opção de tratamento a considerar. Em relação à realização de imunoterapia neste doente, apesar de se encontrar descrito que os tumores com deleções no gene EPCAM exibem A-IM, teria sido importante ter avaliado também a presença de IM na peça cirúrgica de forma a poder orientar melhor o tratamento adjuvante a oferecer¹⁰.

Foi descrito que os casos de CCR com mutação no gene EPCAM apresentam pior sobrevida e que as metástases são o alvo do tratamento¹⁷. Assim, a introdução de um programa de rastreio

oncológico nestes doentes permitirá uma deteção mais precoce das neoplasias associadas à SL, e, por isso, aumentar a sua taxa de sobrevivência.

O doente realizou TAC de vigilância no primeiro ano após colectomia. Tendo em conta que os doentes com SL que são submetidos a colectomia total são geralmente jovens e por isso mais suscetíveis em desenvolver múltiplos tumores, a vigilância do abdómen e pelve com RMN em vez de TAC é importante. A TAC do tórax continua a ser necessária para detetar metastização pulmonar¹.

Outras neoplasias

A alta expressão da proteína EPCAM nas células estaminais cólicas justifica a alta incidência de CCR nos doentes com deleções terminais 3' no gene EPCAM. A baixa incidência de neoplasias extracólicas nestes doentes pode ser explicada pelo mecanismo de silenciamento epigenético do gene MSH2¹⁶.

No entanto, apesar do menor risco de neoplasias extracólicas nos doentes com deleção no gene EPCAM, a vigilância oncológica de outras neoplasias associadas à SL para além do CCR deve ser realizada, visto que esse risco pode aumentar caso a deleção no gene EPCAM se aproxime do gene MSH2^{12,21}. O fenótipo invulgar e agressivo da família do doente 2 justifica ainda mais a importância de manter a vigilância dessas neoplasias neste grupo de doentes.

Neoplasia gástrica

Enquanto a prevalência de cancro gástrico na população em geral é inferior a 1%, o risco cumulativo de cancro gástrico na SL é de cerca de 8%; este risco é maior com a idade e em indivíduos MSH2 e MLH1²⁹. *Kim et al.* avaliou 51,000 indivíduos com SL (com deleção EPCAM) e apenas 41 reportavam história de cancro gástrico, representando uma percentagem maior que a população não-SL (1,1% vs. 0,5%). A idade média de diagnóstico foi de 56 anos e foi a primeira neoplasia em 39% desses doentes com SL. Na análise multivariada, idade avançada, sexo masculino, mutação MLH1/MSH2 e história familiar de cancro gástrico estavam independentemente associados a maior risco²⁹. Na SL, a maioria dos cancros gástricos são do tipo intestinal.

A história natural da patogénese do cancro gástrico na SL é desconhecida. No entanto, a Hp representa um fator de risco importante, sendo a sua erradicação indicada³⁰. As recomendações no geral indicam a necessidade de realização de EDA para testar a presença de Hp, no entanto não é consensual um programa de rastreio e os *timings* em que deve ser realizado.

Segundo *Doenças Oncológicas em Números - 2015*, da Direção-Geral da Saúde, a taxa de incidência de cancro gástrico, em Portugal, em 2010, por cada 100,000 habitantes foi cerca de 28³¹.

Portugal é um dos países com a prevalência mais alta de infeção por Hp: 31,6 a 66,25% nas crianças e acima dos 60% nos adultos (chegando aos 85% em algumas áreas, particularmente no norte do país)³².

Assim, tendo em conta a epidemiologia e a história familiar de neoplasia gástrica deste doente, a realização de EDA com pesquisa e erradicação de Hp pode ser considerada a cada 1-3 anos²¹.

Neoplasia do intestino delgado

Apesar do baixo risco, algumas neoplasias do intestino delgado têm sido documentadas em portadores da deleção EPCAM 3'. Um estudo com 667 doentes com SL na Holanda mostrou que 3 dos 194 portadores de deleção EPCAM (1,5%) desenvolveram neoplasia do intestino delgado³³. Se esta ocorrência é incidental ou associada a um risco aumentado nestes doentes, precisa de ser esclarecido, uma vez que os dados são ainda insuficientes para correlacionar o genótipo particular EPCAM com fenótipo^{13,33}. O adenocarcinoma esporádico ocorre mais frequentemente no duodeno, ao passo que na SL ocorre frequentemente em outras áreas (43% no duodeno, 37% no jejuno, 20% no íleo)³⁴.

Atualmente, não existe nenhum método custo-efetivo comprovado para rastreio de neoplasias do delgado em doentes assintomáticos. A vídeo-cápsula endoscópica surgiu como um método alternativo à TAC e RMN, no entanto ainda não é um método de rastreio recomendado³⁵.

Desse modo, a vigilância oncológica do intestino delgado nos doentes com SL não é considerada custo-efetiva porque apresenta muitos falsos positivos²¹.

Neoplasia do trato urinário

Apesar da falta de evidência, alguns estudos recomendam realizar um exame sumário da urina anualmente para rastreio de neoplasia do trato urinário¹.

Neoplasia pancreática

A vigilância oncológica com RMN e/ou ecografia endoscópica em doentes com SL e um relativo de 1º grau afetado por neoplasia pancreática pode ser considerada, apesar de ser necessário mais evidência²¹.

Neoplasia da tiróide

Alguns casos de cancro da tiróide têm sido reportados em associação com SL; todos os casos associados a mutações MSH2 e MSH6³⁶. Foi detetada na TAC de vigilância do doente 2 um adenoma folicular da tiróide. Apesar de existir uma alta expressão da proteína EPCAM na tiróide e nos tecidos neuroendócrinos, as neoplasias com origem nestes tecidos não foram ainda reportadas em deleções no gene EPCAM¹⁶.

Seguimento de familiares de alto risco

O doente em estudo tem um filho de 21 anos que deve ser avaliado em consulta de gastroenterologia risco oncológico, de forma a ser submetido a teste de rastreio para SL¹⁷. Caso se verifique que seja portador de uma mutação no gene EPCAM (ou num gene MMR), deve ser incluído num programa de vigilância oncológica, ou seja realização de colonoscopia a cada 2 anos com início aos 25 ou 35 anos (dependendo do tipo de mutação encontrada) e EDA com pesquisa e tratamento de Hp a cada 1-3 anos a começar aos 35 anos²¹.

CONCLUSÃO

A SL constitui uma síndrome hereditária comum que implica um risco aumentado para diversas neoplasias, principalmente para CCR. A colheita de uma boa anamnese é o cerne do início do processo de diagnóstico da SL.

O reconhecimento precoce da presença desta síndrome num indivíduo e nos seus familiares é fundamental para implementação de protocolos de rastreio de neoplasias, que permitirá maior controlo da morbimortalidade a ela associada. O aparecimento dos testes genéticos revolucionou a abordagem a estes doentes visto que permite a identificação da SL em indivíduos ainda não afetados por uma neoplasia.

Apesar das evidências de que os indivíduos com mutação no gene EPCAM apresentam menor risco para neoplasias extra-cólicas, em certas famílias, o seu fenótipo pode manifestar-se de forma atípica, como no caso clínico descrito. Dessa maneira, é importante manter na mesma um programa de rastreio oncológico individualizado para este grupo de doentes. As estratégias de vigilância oncológica para as outras neoplasias associadas à SL além do CCR, nomeadamente para a neoplasia do endométrio e ovário, ainda carecem de estudos.

Em virtude das características moleculares que definem a SL, a imunoterapia pode, em certos casos, desempenhar uma excelente opção terapêutica, refletindo o seu forte potencial na otimização dos tratamentos que podemos vir a oferecer a estes doentes.

REFERÊNCIAS

1. Cox VL, Saeed Bamashmos AA, Foo WC, *et al.* Lynch Syndrome: Genomics Update and Imaging Review. *RadioGraphics*. 2018 Mar;38(2):483–499.
2. Hampel H, de la Chapelle A. How do we approach the goal of identifying everybody with Lynch Syndrome? *Fam Cancer*. 2013 Jun;12(2):313–317.
3. Bui QM, Lin D, Ho W. Approach to Lynch Syndrome for the Gastroenterologist. *Dig Dis Sci*. 2017 Feb;62(2):299–304.
4. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and Familial Colon Cancer. *Gastroenterology*. 2010 May;138(6):2044–2058.
5. Menahem B, Alves A, Regimbeau JM, Sabbagh C. Lynch Syndrome: Current management In 2019. *J Visc Surg*. 2019 Dec;156(6):507–514.
6. Sinicrope FA. Lynch Syndrome–Associated Colorectal Cancer. Solomon CG, editor. *N Engl J Med*. 2018 Aug 23;379(8):764–773.
7. Cini G, Quaia M, Canzonieri V, *et al.* Toward a better definition of *EPCAM* deletions in Lynch Syndrome: Report of new variants in Italy and the associated molecular phenotype. *Mol Genet Genomic Med*. 2019 May;7(5):e587.
8. Wong H, Christie M, Gately L, *et al.* Mismatch repair deficiency assessment by immunohistochemistry: for Lynch syndrome screening and beyond. *Future Oncol*. :16.
9. Tutlewska K, Lubinski J, Kurzawski G. Germline deletions in the *EPCAM* gene as a cause of Lynch syndrome – literature review. *Hered Cancer Clin Pract*. 2013 Dec;11(1):9.
10. Ligtenberg MJL, Kuiper RP, Geurts van Kessel A, Hoogerbrugge N. *EPCAM* deletion carriers constitute a unique subgroup of Lynch syndrome patients. *Fam Cancer*. 2013 Jun;12(2):169–174.
11. Dymerska D, Gołębiwska K, Kuświk M, *et al.* New *EPCAM* founder deletion in Polish population: Dymerska *et al.* *Clin Genet*. 2017 Dec;92(6):649–653.
12. Kempers MJ, Kuiper RP, Ockeloen CW, *et al.* Risk of colorectal and endometrial cancers in *EPCAM* deletion-positive Lynch syndrome: a cohort study. *Lancet Oncol*. 2011 Jan;12(1):49–55.
13. Lynch HT, Riegert-Johnson DL, Snyder C, *et al.* Lynch Syndrome-Associated Extracolonic Tumors Are Rare in Two Extended Families With the Same *EPCAM* Deletion: *Am J Gastroenterol*. 2011 Oct;106(10):1829–1836.
14. Hajirawala L, Barton JS. Diagnosis and Management of Lynch Syndrome: *Dis Colon Rectum*. 2019 Apr;62(4):403–405.
15. Iwata N, Shikama A, Takao W, *et al.* Ovarian metastases from ileum cancer in a patient with germline *EPCAM* gene deletion successfully treated with surgical resection and CAPOX chemotherapy: a case report. *BMC Med Genet*. 2020 Dec;21(1):76.

16. Cuatrecasas M, Gorostiaga I, Riera C, *et al.* Complete Loss of EPCAM Immunoexpression Identifies EPCAM Deletion Carriers in MSH2-Negative Colorectal Neoplasia. *Cancers*. 2020 Sep 29;12(10):2803.
17. Sobocińska J, Kolenda T, Teresiak A, *et al.* Diagnostics of Mutations in MMR/EPCAM Genes and Their Role in the Treatment and Care of Patients with Lynch Syndrome. *Diagnostics*. 2020 Oct 5;10(10):786.
18. Cohen SA, Pritchard CC, Jarvik GP. Lynch Syndrome: From Screening to Diagnosis to Treatment in the Era of Modern Molecular Oncology. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2019 Aug 31;20(1):293–307.
19. Yurgelun MB, Hampel H. Recent Advances in Lynch Syndrome: Diagnosis, Treatment, and Cancer Prevention. :9.
20. Biller LH, Syngal S, Yurgelun MB. Recent advances in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2019 Apr;18(2):211–219.
21. Stjepanovic N, Moreira L, Carneiro F, *et al.* Hereditary gastrointestinal cancers: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol*. 2019 Oct;30(10):1558–1571.
22. van Leerdam ME, Roos VH, van Hooft JE, *et al.* Endoscopic management of Lynch syndrome and of familial risk of colorectal cancer: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy*. 2019 Nov;51(11):1082–1093.
23. Tanakaya K. Current clinical topics of Lynch syndrome. *Int J Clin Oncol*. 2019 Sep;24(9):1013–1019.
24. Langers AMJ. Endoscopic full thickness resection for early colon cancer in Lynch syndrome. :4.
25. Kim JH, Bae JM, Song YS, Cho N-Y, Lee HS, Kang GH. Clinicopathologic, molecular, and prognostic implications of the loss of EPCAM expression in colorectal carcinoma. *Oncotarget*. 2016 Mar 22;7(12):13372–13387.
26. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, *et al.* Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013 Oct;24:vi64–vi72.
27. Heiss MM, Murawa P, Koralewski P, *et al.* The trifunctional antibody catumaxomab for the treatment of malignant ascites due to epithelial cancer: Results of a prospective randomized phase II/III trial. *Int J Cancer*. 2010 Nov 1;127(9):2209–2221.
28. Patriarca C, Macchi RM, Marschner AK, Mellstedt H. Epithelial cell adhesion molecule expression (CD326) in cancer: A short review. *Cancer Treat Rev*. 2012 Feb;38(1):68–75.
29. Kim J, Braun D, Ukaegbu C, *et al.* Clinical Factors Associated With Gastric Cancer in Individuals With Lynch Syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020 Apr;18(4):830-837.e1.
30. Capelle LG, Van Grieken NCT, Lingsma HF, *et al.* Risk and Epidemiological Time Trends of Gastric Cancer in Lynch Syndrome Carriers in The Netherlands. *Gastroenterology*. 2010 Feb;138(2):487–492.

31. Luís Serra PN para as DO. Doenças Oncológicas em Números - 2015. Direção-Geral da Saúde. Lisboa; 2016.
32. Lopo I, Libânio D, Pita I, Dinis-Ribeiro M, Pimentel-Nunes P. *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Portugal: Systematic review and meta-analysis. *Helicobacter*. 2018 Aug;23(4):e12493.
33. Azizi AH, Inam ZS, Farrell TJ. Patient with Lynch syndrome with subsequent development of small bowel adenocarcinoma. *BMJ Case Rep*. 2018 Jun 4;bcr-2018-225003.
34. Sanchez-Mete L, Stigliano V. Update on small bowel surveillance in hereditary colorectal cancer syndromes. *Tumori J*. 2019 Feb;105(1):12–21.
35. Vasen HFA, Blanco I, Aktan-Collan K, *et al*. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. *Gut*. 2013 Jun;62(6):812–823.
36. Fazekas-Lavu M, Parker A, Spigelman A, *et al*. Thyroid cancer in a patient with Lynch syndrome – case report and literature review. *Ther Clin Risk Manag*. 2017 Jul;Volume 13:915–918.