

Poliposi Familiare del Colon: influenza dell'analisi molecolare sull'approccio diagnostico-terapeutico



Ann. Ital. Chir., LXXII, 2, 2001

N. Carlomagno, M.I. Scarano*, S. Gargiulo,
M. De Rosa*, L. Panariello*, P. Izzo*,
A. Renda

Università "Federico II", Napoli
Chirurgia Generale ad Indirizzo Addominale
Primario: Prof. A. Renda
*Dip. di Biochimica e Biotecnologie Mediche CEINGE
Biotecnologie Avanzate (Prof. F. Salvatore)

Introduzione

I recenti progressi in campo genetico sono destinati nei prossimi anni a modificare significativamente l'approccio medico e chirurgico di molte patologie.

I geni responsabili di alcune tra le più note malattie ereditarie (quali il retinoblastoma, il tumore di Wilms, la sindrome di Li-Fraumeni, le neurofibromatosi di tipo 1 e 2, la M.E.N. 2A, la sindrome di Von Hippel-Lindau, la poliposi familiare del colon e la sindrome di Lynch o HNPCC) (26-28) sono stati identificati e si iniziano a delineare i meccanismi biologici della cancerizzazione.

In particolare grandi progressi nelle conoscenze biomolecolari si sono ottenuti per il cancro del colon retto, che rappresenta una delle neoplasie di maggior interesse sociale, sia relativamente alle forme cosiddette sporadiche (90%) (6,8,57) che, soprattutto, per quelle familiari, la Poliposi adenomatosa familiare del colon (FAP) e le sindromi di Lynch o HNPCC. Tali forme offrono interessanti spunti di ricerca e le recenti acquisizioni genetiche nella FAP possono definirsi paradigmatiche per la valutazione delle implicazioni cliniche delle conoscenze biomolecolari.

Alla scoperta della delezione nel braccio lungo del cromosoma 5 (7,20,32) nei pazienti affetti da FAP è rapidamente seguito il clonaggio del gene APC (Adenomatous Polyposis Coli) (25) e da allora sono state descritte numerose mutazioni nella linea germinale

Abstract

FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS OF THE COLON: THE IMPACT OF MOLECULAR ANALYSIS ON THE DIAGNOSTIC-THERAPEUTIC APPROACH

Germline mutations of the Adenomatous polyposis gene (APC) are responsible for Familial Adenomatous Polyposis (FAP), an inherited condition that predisposes to the development of hundreds to thousands benign adenomas in the colo-rectum. If not surgically removed, they inevitably progress into malignant adenocarcinoma.

To date more than 450 germline mutations have been described allowing the establishment of genotype/phenotype correlation between the site and type of molecular defects and their morbid consequences.

Authors reviewed their experience concerning 22 FAP affected patients and their 26 first degree relatives, in whom the mutational analysis of the APC gene had been carried out. Site and type of mutations were associated with clinical parameters (age of onset, rectal involvement, extracolonic manifestations, presence of colorectal cancer) and treatments. The impact of mutational analyses on the clinical approach could be very interesting in the future, modifying both surveillance programs and therapeutical choices

Key words: Familial adenomatous polyposis (FAP); APC gene.

(oltre 450) (16), eterogenee e per lo più confinate a singoli pedigree. Tale eterogeneità potrebbe essere alla base della complessa e varia espressione fenotipica della FAP, responsabile del notevole impegno diagnostico e terapeutico richiesto per tali pazienti.

Una precisa correlazione tra genotipo e fenotipo porterebbe al corretto inquadramento di ogni singolo paziente.

Scopo del nostro studio è stato quello di comparare le mutazioni identificate mediante analisi molecolare con il fenotipo espresso e valutarne le possibili implicazioni cliniche.

Materiali e metodi

L'esperienza dell'Istituto di Chirurgia Generale e Trapianti d'Organo dell'Università "Federico II" di Napoli in tema di FAP è relativa a 45 pazienti operati nel periodo 1963-99 (Tab. I).

Per completezza di informazioni cliniche e di follow-up e per l'analisi molecolare da questa casistica sono stati considerati 22 operati (appartenenti a 9 famiglie non imparentate tra loro) ed i loro 26 familiari di primo grado.

In ogni individuo le mutazioni del gene APC ottenute dall'analisi molecolare sono state comparate con l'espressione fenotipica. Le informazioni cliniche sono state ricavate dalle cartelle cliniche e dalle note di follow-up dei pazienti.

Sono state analizzate le seguenti varianti: età d'insorgenza, modalità di diagnosi (sintomatologia o screening) presenza di cancro, trattamento, presenza di manifestazioni extracoliche (ECM) (pigmentazione epitelio retinico (CHRPE), polipi del tratto digerente superiore, desmoidi, neoplasie extracoliche).

Per la *diagnosi molecolare* sono stati utilizzati i due metodi (diretto ed indiretto) secondo modalità precedentemente descritte (14,49,50). L'analisi delle mutazioni nel

gene APC è stata effettuata mediante amplificazione genica ed analisi dei prodotti della polymerase chain reaction (PCR) con il metodo single strand conformation polymorphism (SSCP). Inoltre è stato messo a punto il protein trunkation test (PTT) che permette di identificare le mutazioni del gene APC che danno origine ad un polipeptide tronco (fig. 1). I frammenti che mostravano un pattern variante sono stati sequenziati con il metodo di Sanger.

Risultati

L'analisi molecolare ha individuato un'alterazione genica in 18/22 (81%) pazienti affetti da FAP e la mutazione è stata identificata in 13/18 casi (72,2%) mediante esame diretto.

10/26 familiari di I grado, sottoposti a screening genetico, sono risultati portatori di alterazione genica ed in 2 casi dopo conferma endoscopica si è proceduto all'intervento chirurgico profilattico.

Tutte le mutazioni fino ad ora da noi identificate consistono in delezioni o inserzioni, che provocano lo sfalsamento del quadro di lettura e la formazione di codoni di terminazione prematuri, che portano ad un prodotto proteico tronco, verosimilmente non funzionale. Inoltre, in tre famiglie abbiamo riscontrato ampie delezioni che rimuovono tutto il gene APC.

Nei casi in cui non è stato possibile determinare la mutazione responsabile della malattia, è stata effettuata l'analisi di linkage utilizzando i seguenti polimorfismi:

- 1) T → C nucleotide 1458 nell'esone 11 (29);
- 2) G → A codone 545 nell'esone 13 (39);
- 3) A → G nucleotide 5037 nell'esone 15 (29);
- 4) il polimorfismo Ssp I al 3' non tradotto del gene (19);
- 5) i marcatori extragenici JW25(CA)_n e DP1(CA)_n (52,58).

Nel corso di tale analisi abbiamo identificato un nuovo polimorfismo intragenico nel frammento I dell'esone 15 (14).

Le correlazioni genotipo/fenotipo sono riportate in Tab. II.

Considerazioni

La prima segnalazione di FAP si deve a Menzel nel 1721. Dopo oltre un secolo Cripps ne descrisse le caratteristiche di familiarità (1881) e Cockayne ne definì le modalità di trasmissione autosomica dominante (1927). In seguito furono descritti diversi quadri clinici in cui l'associazione con specifiche alterazioni extracoliche (ECM) portò alla definizione di sindromi distinte, la Gardner e la Turcot, Tale concetto oggi sembrerebbe superato, essendo l'alterazione del gene APC comune a tali quadri clinici e l'orientamento attuale è di unificare le differenti sindromi.

Tab. I – FAP: CASISTICA (PERIODO 1963-99)

| | Operati | Follow-up |
|-------------------------------|---------|------------|
| Proctocolectomia definitiva | 3 | 2 |
| Colectomia totale + I.R.A. | 25 | 20 (14+6*) |
| Proctocolectomia conservativa | 17 | 16(15+1*) |
| Tot. | 45 | 38 |

*Provenienti da altri centri

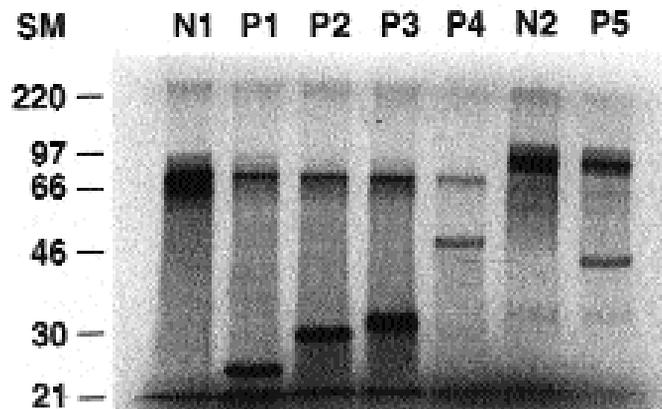


Fig. 1: Analisi mediante PTT dei frammenti 15a 15f (canali 1-5) e 15e-15j (canali 6-7) del gene APC

N1: banda polipeptidica normale di circa 74KDa derivata dal frammento 15a-15f trascritto e tradotto in vitro;

N2: banda polipeptidica normale di circa 82KDa derivante dal frammento 15a-15j trascritto e tradotto in vitro;

P1-P5: polipeptidi tronchi derivati dai frammenti su citati in cui è presente una mutazione di frame shift che da origine ad uno stop codon precoce.

Tab. II – CORRELAZIONI GENOTIPO/FENOTIPO IN 18 PAZIENTI AFFETTI DA FAP.

| Mutazioni | Pazienti | Età d'insorgenza (<30 anni) | Diagnosi | | CHRPE | Desmoidi | Polipi gastrici | Neoplasie extracoliche | Interventi | | Cancro |
|----------------------|----------|-----------------------------------|----------|-----------|-------|----------|--------------------|---------------------------|------------|------|--------|
| | | | Sintomi | Screening | | | | | IRA | IPAA | |
| 595 - esone 5 | 3 | 100% | 1 | 2 | no | 1 | NS* | | 1 | 1 | no |
| 3926 -esone 15 | 5 | 100% | 1 | 4 | si | 2 | NS* | | - | 5 | 1 |
| 3577-8 esone 15 | 2 | 100% | 1 | 1 | si | - | 1 | | 1 | - | 1 |
| 2638 - esone 15 | 3 | 100% | 1 | 2 | si | - | NS* | | | 1 | no |
| Estesa delezione APC | 5 | 100% | 2 | 3 | si | - | 1 | 1° | - | 3 | no |

IRA= colectomia totale + anastomosi ileorettale

IPAA = proctocolectomia conservativa con anastomosi ileoanale ed interposizione di reservoir ileale

°Adenoma tiroideo

* NS= non studiato (età <30 anni)

Tab. III – MANIFESTAZIONI EXTRACOLICHE (E.C.M) NELLA FAP

| Non neoplastiche | Neoplastiche | |
|--------------------------------------|-------------------|--|
| | Benigne | Maligne |
| Anomalie dentarie | Adenomi endocrini | Carcinoma periampollare, V.B.P., pancreas, stomaco, surrene, tiroide |
| Cisti epidermoidi | Osteomi | Epatoblastoma |
| Ipertrofia epitelio retinico (CHRPE) | Adenomi duodenali | Carcinoidi |
| Malformazioni | Adenomi del tenue | Sarcoma osteogenico |
| | Polipi gastrici | Tumori S.N.C. |
| | Desmoidi | |

A dispetto di un sensibile progresso delle conoscenze cliniche ed etiopatologiche della FAP, rimangono ancora vive le difficoltà e l'impegno per il chirurgo per il trattamento sia delle lesioni neoplastiche intestinali che delle ECM.

La storia naturale della malattia è diversa nelle varie famiglie affette con significative variazioni dell'espressione fenotipica sia colica che extracolica, imponendo l'adozione di schemi di follow-up e terapie differenziate e, talora, modulati ai singoli casi. L'alterazione della mucosa colica, infatti, può manifestarsi con notevoli differenze nel numero e nell'età di insorgenza degli adenomi, e non è sempre la sola anomalia presente in questi pazienti. Accanto ad essa altri distretti possono essere interessati in diverse percentuali da alcune ECM (Tab. III), la cui importanza clinica dipende dalle caratteristiche anatomopatologiche e dal rapporto cronologico con l'insorgenza dei polipi colici (2, 4, 21, 22, 35, 44, 55).

Tali alterazioni sono potenzialmente letali, se non diagnosticate e trattate tempestivamente, e l'insorgenza di alcune di esse è a volte difficilmente prevedibile, per cui non è possibile poter stabilire con esattezza la prognosi di un paziente affetto da FAP.

L'isolamento del gene APC ha portato nuovi entusiasmi ed interessanti prospettive per una migliore conoscenza della malattia. Si tratta di un gene onco-soppressore, localizzato sul cromosoma 5 in posizione q21, lungo 8532 bp e formato da 16 esoni, Esso codifica per una proteina di 311,8 KDa, che ha un ruolo fondamentale

nell'adesione cellulare e probabilmente nella comunicazione intercellulare (47).

Il DNA per lo studio del gene APC viene estratto dai leucociti, ottenuti con un prelievo di sangue periferico (5 ml).

Le mutazioni del gene APC sono responsabili dell'insorgenza della poliposi e consistono generalmente in inserzioni o delezioni di alcune basi, che generano in circa il 98% dei casi la formazione di una proteina tronca. La maggior parte delle mutazioni sono localizzate nell'esone 15, che contiene circa il 75% della sequenza codificante.

Lo screening delle famiglie è stato il primo obiettivo della diagnosi molecolare. Attualmente l'analisi delle mutazioni del gene APC con le tecniche innovative della biologia molecolare unitamente allo screening clinico (endoscopia, esame del fondo oculare) consente una diagnosi nel 95% dei pazienti (12, 23, 41, 43).

L'osservazione della spiccata eterogeneità fenotipica delle mutazioni, presenti nelle diverse famiglie e talora all'interno di uno stesso nucleo familiare (24), ha indotto a correlare la differente localizzazione della mutazione nel gene APC con l'ampio spettro fenotipico della FAP.

La presenza di mutazioni verificate in differenti codoni del gene si può associare a espressioni cliniche diverse (Tab. IV) con la possibilità di effettuare una correlazione genotipo/fenotipo (Fig. 2).

Le mutazioni localizzate nei primi quattro esoni sono in genere associate ad un fenotipo attenuato (Attenuated

Tab. IV – CORRELAZIONI GENOTIPO-FENOTIPO NELLA FAP: REVISIONE DELLA LETTERATURA

| <i>Clinica</i> | <i>Mutazione (sede)</i> | <i>Autore</i> |
|--|--|---------------------------------------|
| CHRPE presenti | 10-tratto prossimale dell'esone 15 (codoni 463-1387) | Traboulsi (32) |
| CHRPE assenti | Esoni 1-8, tratto distale dell'esone 15 | Traboulsi (33) |
| Poliposi diffusa (estesa proliferazione adenomatosa) | 1250-1464 | Nagase (34) Wu (35), Nordling (36) |
| "Early onset" | 835-1309 | Caspari(37), Presciuttini (38) |
| Late onset" | 1061 | Presciuttini (38), Giardiello (39,40) |
| ↑ Cancro colorettales | 1250-1450 | Cunningham (30) |
| ↑ ECM | 1309, 1402-1578 | Legget (41), Nugent (42) |
| Molteplici ECM | 1465, 1546, 2621 | Giardiello (39,40) |
| AFAP | Esoni 1-4 | Lynch (43), Spirio (44) |

↑ = aumentata incidenza

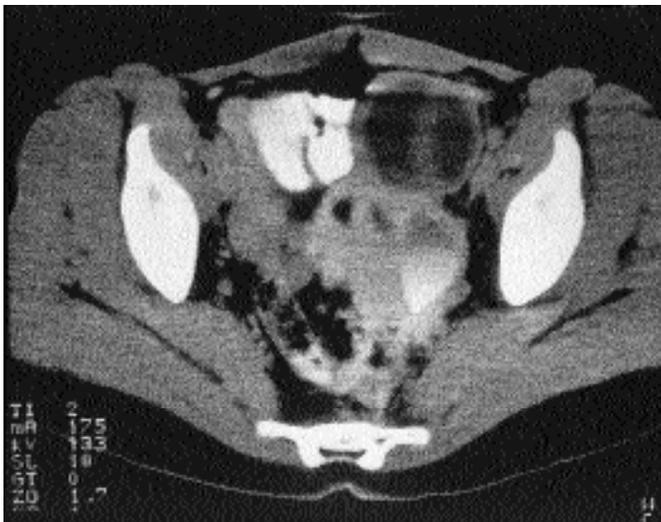


Fig. 2A

Fig. 2: Correlazione genotipo-fenotipo in una paziente con tumore desmoide della parete addominale e mutazione al cordone 3926 dell'esone 15.

A: Immagine TAC; B: analisi mediante SSCP: evidenza della mutazione nella sequenza diretta.

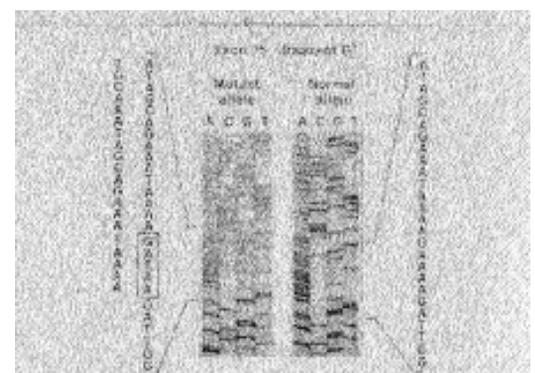
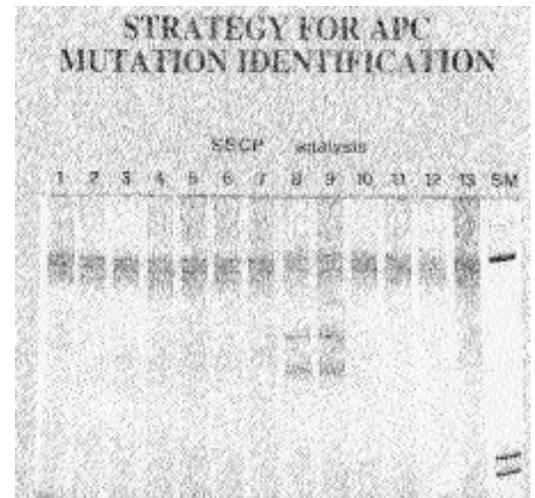


Fig. 2B

Polyposis o AFAP) in cui sono presenti poche decine di polipi con un pattern di accrescimento piatto (flat adenoma) e localizzati in percentuale maggiore al colon prossimale. In tali pazienti inoltre l'età d'insorgenza del cancro del colon è più avanzata di circa dieci anni rispetto alla sindrome classica (in media 55 anni) (53). Le lesioni retiniche sono assenti nei pazienti in cui la mutazione è localizzata tra gli esoni 1 e 9 e presenti in quel-

li in cui la mutazione è compresa tra 10 e 15, dal codone 463 al 1387 (Fig. 3). Le mutazioni localizzate tra i codoni 1403 al 1578 sono associate ad un incremento di ECM (desmoidi e osteomi) ed all'assenza di macchie retiniche. Una maggiore incidenza di tumori colo-rettali è riportata in pazienti con mutazioni che cadono tra i codoni 1250 e 1464 (12, 17, 18). Caspari tra i primi ha associato mutazioni al codone 1309 con la FAP ad

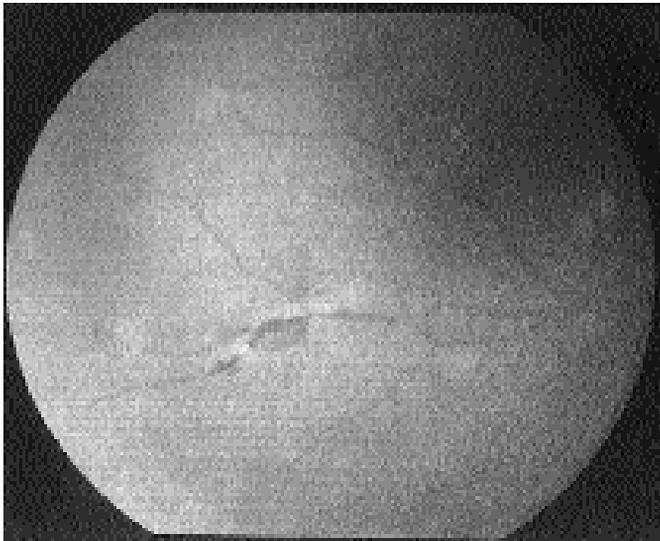


Fig. 3A

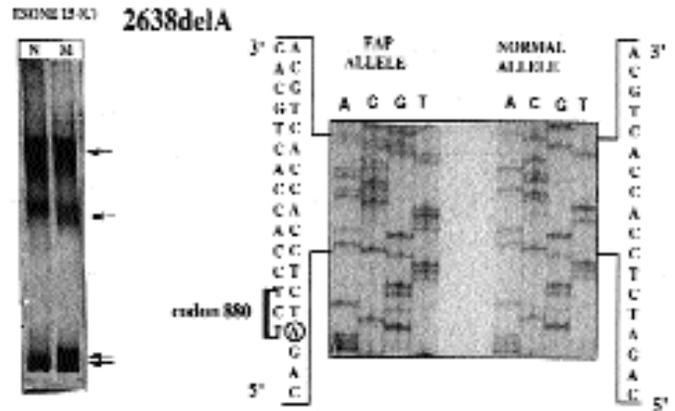


Fig. 3B

Fig. 3: Presenza di ipertrofia dell'epitelio pigmentato della retina (CHRPE+) in paziente con delezione di una base al codone 880. A: Esame del fondo oculare; B: SSCP: sulla sinistra il gel mostra il conformero variante nel canale M., sulla destra la sequenza diretta evidenzia la delezione di una A al codone 880.

esordio precoce ("early onset") in cui il processo di cancerizzazione si verifica con 10 anni di anticipo rispetto agli altri casi di poliposi (3).

Tali correlazioni possono avere importanti implicazioni cliniche: infatti, associando il tipo di mutazione con la possibilità di poter manifestare un determinato carattere, si possono associare i vari soggetti a specifici programmi di sorveglianza, chemioprevenzione, follow-up e terapia personalizzati.

Il follow-up sia orto- che eterotopico (46) della FAP è particolarmente costoso ed impegnativo per l'adozione di varie indagini sia routinarie che a' la demande particolarmente sofisticate. Grazie ad una precisa correlazione genotipo-fenotipo, si possono limitare alcune indagini specifiche di determinate alterazioni (desmoidi, polipi nel tratto digerente superiore, neoplasie maligne, etc.) solo ai pazienti a rischio, creando schemi differenziati a seconda del tipo della mutazione con indiscutibili vantaggi in termini di spesa sanitaria.

Dal punto di vista terapeutico è auspicabile che una precisa correlazione genotipo/fenotipo possa influenzare la tattica chirurgica. L'intervento chirurgico è diretto all'interruzione della sequenza adenoma-carcinoma mediante l'asportazione del colon e del retto, tuttavia diversi fattori programmabili su base individuale influenzano sia la scelta dell'intervento che il timing dello stesso.

La proctocolectomia totale con ileostomia definitiva è attualmente limitata a pochi casi e la scelta del chirurgo fondamentalmente ricade tra la colectomia totale con ileoectomia (IRA) o la proctocolectomia totale con ileoanoanastomosi (IPAA), che consentono di conservare la normale continuità intestinale con soddisfacenti risultati funzio-

nali. Il tipo di ricostruzione preferibile dopo l'exeresi del colon (IRA o IPAA) è un problema tuttora irrisolto e l'identificazione della mutazione genica potrebbe validamente affiancare, se non soppiantare, gli attuali criteri di scelta puramente tecnici (1, 5, 9, 11, 13, 24, 34, 44, 45, 47, 48, 54, 55, 59, 61). Le mutazioni, associate ad una maggior frequenza di cancro (verificatesi dopo il codone 1250, in particolare al codone 1309) controindicherebbero l'effettuazione di una IRA a favore dell'IPAA.

Allo stesso modo l'analisi mutazionale potrebbe avere un ruolo di primo piano per stabilire l'età in cui sottoporre il paziente al trattamento chirurgico profilattico in assenza di CRC. La colectomia andrebbe infatti anticipata nelle "famiglie early onset" e procrastinata in pazienti appartenenti a famiglie "late onset" o che presentino un rischio significativamente alto di sviluppare un desmoide.

Il programma di sorveglianza a livello rettale dopo colectomia totale con ileoectomia (IRA) deve essere stressato nei pazienti con aumentato rischio di cancerizzazione (mutazioni del gene APC dopo il codone 1250). Allo stesso modo una sorveglianza particolarmente intensa è necessaria per i pazienti a rischio elevato di ECM potenzialmente letali (desmoidi, polipi del tratto digerente superiore). Inoltre sulla scorta dei risultati ottenuti nel controllo della proliferazione della mucosa colonica, va sottolineata la possibilità di instaurare una chemioprevenzione con supplementi orali di Ca⁺, vitamina C o FANS (4, 30, 40).

I dati della nostra casistica si uniformano a quelli riportati nella letteratura più recente. Relativamente alla correlazione tra CHRPE e livello della mutazione le alterazioni retiniche sono infatti costantemente presenti nei

soggetti con mutazioni interessanti l'esone 15 ed assenti quando la mutazione è stata rilevata nell'esone 5. L'insorgenza di cancro coloretale è stata segnalata in due pazienti in cui la mutazione si è verificata nell'esone 15 dopo il codone 1250.

Unica eccezione è risultata una paziente con mutazione al codone 595 dell'esone 5, in cui il fenotipo da noi osservato è risultato particolarmente aggressivo con lo sviluppo di un voluminoso tumore desmoide retroperitoneale non resecabile trattato con chemioterapia. In tale caso si può ipotizzare la presenza di una mutazione in un altro locus (locus modificatore?).

I risultati della nostra e delle altre esperienze in letteratura possono ritenersi incoraggianti, ma l'entusiasmo della ricerca non deve far dimenticare alcuni limiti per un'applicazione routinaria dell'analisi mutazionale.

In primo luogo le metodiche per l'analisi genetica richiedono a volte tempi lunghi e costi relativamente alti d'effettuazione, nonché centri altamente qualificati e specializzati. Vanno poi sottolineate le difficoltà dovute all'estrema eterogeneità delle mutazioni nel gene APC. Mutazioni di uno stesso codone (codone 1309) possono associarsi a manifestazioni cliniche diverse inter e intra-familiari, facendo ipotizzare anche un probabile coinvolgimento di fattori ambientali o di altri geni (17).

Conclusioni

Il clonaggio del gene APC ha aperto interessanti prospettive di ricerca e fa prevedere un definitivo chiarimento delle basi etiopatogenetiche della FAP.

L'utilizzo di metodiche di biologia molecolare presenta innegabili vantaggi sociali, psichici ed economici.

La conoscenza precisa della correlazione genotipo-fenotipo consentirà di adottare programmi di sorveglianza, terapia e follow-up differenziati modulati sulla base dell'alterazione molecolare.

La costituzione di Gruppi di Studio che promuovono la collaborazione tra diversi specialisti (chirurghi, genetisti, endoscopisti, oncologi, gastroenterologi) può rivelarsi fondamentale per un ulteriore progresso delle conoscenze, per il perseguimento di linee di ricerca prospettiche e per la sistematizzazione e la diffusione delle acquisizioni più recenti. Accanto a questi che possono essere considerati i primi obiettivi raggiungibili nell'immediato futuro, va ipotizzato in tempi più lunghi l'adozione di una vera e propria terapia genica.

Riassunto

Le mutazioni del gene APC localizzato nel braccio lungo del cromosoma 5 sono responsabili della Poliposi familiare del colon (FAP), malattia ereditaria caratterizzata dall'insorgenza di centinaia di adenomi colici con rischio di cancerizzazione nel 100% dei casi non trattati.

Allo stato attuale sono state descritte in letteratura oltre 450 mutazioni germinali nel gene APC che permettono di correlare il tipo e la sede delle mutazioni con le manifestazioni cliniche della FAP.

Gli Autori riportano la propria esperienza relativa a 22 pazienti affetti da FAP e 26 familiari di primo grado, studiati mediante analisi molecolare. Il tipo e la sede della mutazione sono stati confrontati con alcuni parametri clinici (età d'insorgenza, grado di coinvolgimento del retto, manifestazioni extracoliche, presenza di cancro) e con il trattamento attuato.

I risultati ottenuti fanno intravedere interessanti prospettive di ricerca. In particolare, la conoscenza precisa delle correlazioni genotipo-fenotipo consentirà di adottare programmi di sorveglianza, terapia e follow-up differenziati modulati sulla base dell'alterazione molecolare. Parole chiave: Polinosi familiare del colon (FAP); gene APC.

Bibliografia

- 1) Ambrose W.L., Orangio G.R., Lucas G.: *Surgical options for familial adenomatous polyposis*. Semin Surg Oncol, 11:423-7, 1995.
- 2) Arvanitis M.L., Jagelman D.G., Fazio V.W., Lavery I.C., McGannon E.: *Mortality in patients with familial adenomatous polyposis*. Dis Col Rectum, 33:639-642, 1990.
- 3) Baba S.: *Molecular biological background of FAP and HNPCC and treatment strategies of both diseases depend upon genetic information*. Nippon Geka Gakkai Zasshi, 99(6), 336-44, 1998.
- 4) Bertario L., Presciuttini S., Sala P., Rossetti C., Pietroiusti M. (Italian Registry of Familial Polyposis): *Causes of deaths and post-surgical survival in familial adenomatous polyposis: results from the Italian Registry*. Seminars in Surgical Oncology, 10:225-234, 1994.
- 5) Bess M.A., Adson M.A., Elveback L.R., Moertel C.G.: *Rectal cancer following colectomy for polyposis*. Arch Surg, 115:460-7, 1980.
- 6) Bland K.I.: *Advances in molecular genetics*. The American Journal of Surgery, 1997
- 7) Bodmer Wf., Bailey Cj., Bodmer J., Bussey Hj., Ellis A., Gorman P., Lucibello Fc., Murday Va., Rider Sh., Scambler P.: *Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5*. Nature, 328:1411-3, 1987.
- 8) Boland Cr.: *The biology of colorectal cancer*. Cancer, 71:4180-6, 1993.
- 9) Bunyan D.J., Shea-Simonds J., Reck A.C., Finnis D., Eccles D.M.: *Genotype-phenotype correlations of new causative APC gene mutations in patients with familial adenomatous polyposis*. J Med, Genet, 32:728-731, 1995.
- 10) Caspari R., Friedl W., Mandl M., Moslein G., Kadmon M., Knapp M., Jacobasch K.H., Ecker K.W., Kreissler-Haag D., Timmermanns G.: *Familial adenomatous polyposis: mutation at codon 1309 and early onset of colon cancer*. Lancet, 343:629-632, 1994.
- 11) Church J.M., Fazio V.W., Lavery I.C., Oakley J.R., Milsom J., McGannon E.: *Quality of life after prophylactic colectomy and ileo-rectal anastomosis in patients with familial adenomatous polyposis*. Dis Col Rectum, 39:1404-8, 1996.

- 12) Cunningham C., Dunlop M.G., *Molecular genetic basis of colorectal cancer susceptibility*. Br J Surg, 83:321-9, 1996.
- 13) De Cosse J.J., Bulow S., Neale K., Jarvinen H., Alm T., Hultcrantz R., Moesgaard F., Costello: *Rectal cancer risk in patients treated for familial adenomatous polyposis*. Br J Surg, 79:1372-5, 1992.
- 14) De Rosa M., Scarano M.I., Panariello L., Salvatore F., Izzo P.: *A novel Mbo II polymorphism in exon of the human adenomatous polyposis coli gene*. Clinical Genetics, 1998.
- 15) Fazio V.W.: *Surgery of the colon and the rectum*. Am J Gastroenterol, 89:106-115, 1994.
- 16) Fodde R., Khan Pm.: *Genotype-phenotype correlations at the adenomatous polyposis coli gene*. Crit Rev Oncog, 6:291-303, 1995.
- 17) Giardiello F.M., Petersen G.M., Piantadosi S., Gruber S.B., Traboulsi E.I., Offerhaus G.J., Muro K., Krush A.J., Booker S.V., Luce M.C., Laken S.J., Kinzler K.W., Vogelstein B., Hamilton S.R.: *Apc gene mutations and extraintestinal phenotype of familial adenomatous polyposis*. Gut, 40:521-5, 1997.
- 18) Giardiello F.M., Krush A.J., Petersen G.M., Booker S.V., Kerr M., Tong L.L., Hamilton S.R.: *Phenotypic variability of familial adenomatous polyposis coli in 11 unrelated families with identical APC gene mutation*. Gastroenterology, 106: 1542-7, 1994.
- 19) Heighway J., Hoban P.R., Wyllie A.H.: *Ssp I polymorphism in sequence encoding 3' untranslated region of the APC gene*. Nucl Ac Res, 19:6966, 1991.
- 20) Herrera L., Kakati S., Gibas L., Pietrzak E., Sandberg A.A. *Gardner syndrome in a man with interstitial deletion of 5q*. Am J Med Genet, 25: 473-6, 1985
- 21) Jagelmann D.G.: *Extracolonic manifestations of in familial polyposis coli*. Min Chir, 1989, 44:1869-72.
- 22) Jarvinen A.J.: *Desmoid disease as apart of in familial polyposis coli*. Acta Chir Scand, 379:153, 1987.
- 23) Karner-Hanusch J., Wolf B., Zehetmayer M., Wrba F., Roth E., Mannhalter C.: *Screening by genomic linkage studies and mutation analysis of hereditary denomatous polyposis coli: usefulness for clinical practice*. World J Surg, 20, 578-584, 1996.
- 24) Kartheuser A., West S., Walon C., Curtis A., Hamzehloei T., Lannoy N., Michiels G., Smaers M., Chapman P., Burn. J.: *The genetic background of familial adenomatous polyposis. Linkage analysis, the APC gene identification and mutation*. Acta Gastroenterol Belg, 58:433-451, 1995.
- 25) Kinzler K.W.: *Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21*. Science, 253:1411-3, 1991.
- 26) Knudson A.G., Jr., Strong L.C.: *Mutation and cancer: a model for Wilms' tumor of kidney*. J Natl Cancer Inst, 48:313-24, 1972.
- 27) Knudson A.G., Jr.: *Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma*. Proc Natl Acad, Sci, USA, 68:820-3, 1971.
- 28) Knudson A.G.: *All in the (cancer) family*. Nature Genetics, 5:103-104, 1993.
- 29) Kraus C., Ballhausen W.G.: *Two intragenic polymorphism in exon 15 detected by PCR and enzymatic digestion*. Hum Genet, 88:705-706, 1992.
- 30) Labayle D., Fischer D., Vielh P., Drouhin F., Pariente A., Bories C., Duhamel O., Trouset M., Attali P.: *Sulindac causes regression of rectal polyps in familial adenomatous polyposis*. Gastroenterology, 101:635, 1991.
- 31) Leggett B.A., Young I.P., Biden K. Buttenshaw R.L., Knight N., Cowen A.E.: *Severe upper gastrointestinal polyposis associated with sparse colonic polyposis in a familial adenomatous polyposis family with an APC mutation at codon 1250*. Gut, 41:518-521, 1997.
- 32) Leppert M., Dobbs M., Scambler P., O'connell P., Nakamura Y., Stauffer D., Woodward S., Burt R., Hughes J., Gardner E.: *The gene for familial adenomatous polyposis maps to the long arm of chromosome 5*. Science, 238:1411-3, 1987.
- 33) Lynch H.T., Smyrk T.C., Mcjinn T., Lanspa S.J., Cavalieri J., Lynch J.F. et al.: *Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP): a phenotypically and genotypically distinctive variant of FAP*. Cancer, 2427-2433, 1995.
- 34) Madden M.V., Neale K.F., Nicholls R.J., Landgrebe J.C., Chapman P.D., Bussey H.J., Thomson J.P. *Comparison of morbidity and function after colectomy with ileorectal anastomosis or restorative proctocolectomy for familial adenomatous polyposis*. Br J Surg, 78:789-92, 1987.
- 35) Marrano D., Minni F., Tagariello C.: *La poliposi familiare del colon*. Minerva Med, Torino, 1989.
- 36) Nagase H., Miyoshi Y., Horii A., Aoki T., Ogawa M., Utsunomiya J., Baba S., Sasazuki T., Nakamura Y.: *Correlation between the location of germ-line mutations in the APC gene and the number of colorectal polyps in familial adenomatous polyposis patients*. Cancer Res, 52:4055-4057, 1992.
- 37) Nordling M., Engwall Y., Wahlstrom J., Wiklund L., Eriksson M.A., Gustavsson B., Fasth S., Larsson P.A., Martinsson T.: *Novel mutations in APC gene and clinical features in Swedish patients with polyposis coli*. Anticancer Res, 17:4275-4280, 1997.
- 38) Nugent K.P., Phillips R.K., Hodgson S.V., Cottrell S., Smith Ravin J., Pack K., Bodmer WF.: *Phenotypic expression in familial adenomatous polyposis: partial prediction by mutation analysis*. Gut, 35:1622-1623, 1994.
- 39) Olschwang S., Laurent-Puig P., Thuille B., Thomas G.: *Frequent polymorphism in the 13th exon of the adenomatous polyposis coli gene*. Hum Genet, 90:161-163, 1992.
- 40) Pasricha P.J., Bedi A., O'connor K., Rashid A., Akhtar A.J., Zahurak M.L., Piantadosi S., Hamilton S.R., Giardiello F.M.: *The effect of sulindac on colorectal proliferation and apoptosi in familial adenomatous polyposis*. Gastroenterology, 105:994, 1995.
- 41) Petersen G.M., Francomano C., Kinzler K., Nakamura Y.: *Presymptomatic direct detection of adenomatous polyposis coli (APC) gene mutations in familial adenomatous polyposis*. Hum Genet, 91:307, 1993.
- 42) Presciuttini S., Varesco L., Sala P., Gismondi V., Rossetti C., Bafico A., Ferrara Gb., Bertario L.: *Age of onset in familial adenomatous polyposis: heterogeneity within families and among APC mutations*. Ann Hum Genet, 58:331-342, 1994.
- 43) Renda A., Izzo P., Carlomagno N., Scarano M.I., Capasso L., De Rosa M., Panariello L. *Implicazioni cliniche delle conoscenze molecolari nei tumori erodofamiliari del colon-retto*. Atti 99° Congresso Nazionale Società Italiana di Chirurgia, ediz. Pozzi, Padova 1997.
- 44) Renda A., Carlomagno N., Tammaro V., Pisani A., Gargiulo S.: *Il trattamento delle manifestazioni extracoliche della poliposi familiare del colon*. Rivista Italiana di Ricerche Mediche e Chirurgiche, 3(2): 55-61, 1995.
- 45) Renda A., Lepore R., Coppola L., Landi R., Carbone I.,

- Mazzarella L.: *Familial polyposis coli: choice of the surgical procedure*. XXVI World Congress of the International College of Surgeons, 43-50, 1988.
- 46) Renda A., Romano G., Carlomagno N., Iovino F.: *Il follow-up degli operati per poliposi familiare del colon*. Atti della SIC, Vol 3:229-252, 1992.
- 47) Rustgi A.K.: *Hereditary gastrointestinal polyposis and nonpolyposis syndrome*, New Engl J Med, 331: 1694-1702, 1994.
- 48) Sarre R.G., Jagelman D.G., Beck G.J., McGannon E., Fazio V.W., Weakley F.L., Lavery I.C.: *Colectomy with ileorectal anastomosis for familial adenomatous polyposis: the risk of rectal cancer*. Surgery, 101:20-6, 1987.
- 49) Scarano M.I., De Rosa M., Panariello L., Carlomagno N., Riegler G., Rossi Gb., Bucci L., Pesce G., Toni F., Renda A., Izzo P.: *Familial adenomatous polyposis coli: five novel mutations in exon 15 of the adenomatous polyposis coli (apc) gene in italian patients. mutations in brief no. 225. online*. Hum Mut, 13(3):256-7, 1999.
- 50) Scarano M.I., De Rosa M., Gentile M., Bucci L., Ferulano G.P., Carlomagno N., Renda A., Guanti G., Salvatore F., Izzo P.: *Three novel germline mutations in the adenomatous polyposis coli gene*. Hum Mut, 9:191-3, 1997.
- 51) Scott Rj., Van Der Luijt R., Spycher M., Mary JI., Muller A., Hoppeler T., Haner M., Muller H., Martinoli S., Brazzola Pl.: *Novel germline APC gene mutation in a large familial adenomatous polyposis kindred displaying a variable phenotypes*. Gut, 36:731-6, 1995.
- 52) Spirio L., Joslyn G., Nelson L., Leppert M., White R.: *A CA repeat 30-70 KB downstream from the adenomatous polyposis coli (APC) gene*. Nucl Ac Res, 19:6348, 1991.
- 53) Spirio L., Otterud B., Stauffer D., Lynch H., Lynch P., Watson P., Lanspa S., Smyrk T., Cavalieri J., Howard L.: *Linkage of a variant or attenuated form of adenomatous polyposis coli to the adenomatous polyposis coli (APC) locus*. Am J Hum Genet, 51:92-100, 1993.
- 54) Tjandra J.J., Fazio Vw.: *The ileal pouch - indications for its use and results in clinical practice*. Gastroenterology, 4:22-8, 1993.
- 55) Tonelli F.: *La poliposi adenomatosa familiare*. Riv It Colonproct, 10:116-132, 1991.
- 56) Traboulsi E.I., Apostolides J., Giardiello F.M., Krush A.J., Booker S.V., Hamilton S.R., Hussels I.E.: *Pigmented ocular fundus lesions and APC mutations in familial adenomatous polyposis*. Ophthalmic Genet, 17:167-174, 1996.
- 57) Vogelstein B., Fearon E.R., Kern S.E., Hamilton S.R., Preisinger A.C., Nakamura Y., White R.: *Allelotype of colorectal carcinoma*. Science, 244: 207-11, 1989.
- 58) Wijnen J., Tops C., Breukel C., Van Leeuwen C., Goverde A., Van Der Klift H., Fodde R., Khan Pm.: *A CA repeat polymorphism from YAC JW25 at the D5S318 locus, distal to adenomatous polyposis coli (APC)*. Nucl Ac Res, 19:6966, 1991.
- 59) Williams N.S., Johnston D.: *The current status of mucosal proctectomy and ileoanal anastomosis in the surgical treatment of ulcerative colitis and adenomatous polyposis*. Br J Surg, 72:159-68, 1987.
- 60) Wu J.S., Mc Gannon E.A., Church J.M.: *APC genotype, polyp number and surgical options in familial adenomatous polyposis*. Ann Surg, 227:57-62, 1998.
- 61) Ziv Y., Church J.M., Oakley J.R., McGannon E., Schroeder T.K., Fazio V.W.: *Results after restorative proctocolectomy and ileal pouch-anal anastomosis in patients with familial adenomatous polyposis and coexisting colorectal cancer*. Br J Surg, 83: 1578-1580, 1996.

Autore corrispondente:

Dott. N. CARLOMAGNO
Via D. di Gravina 11 (Parco Soave)
Tel. 081/5444195
Fax 081/7462516
e-mail: renda@unina.it