



## CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO

### CASO CLÍNICO: SINDROME DE LYNCH

*ANA MARÍA SÁNCHEZ DE ABAJO. Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria.*

**Palabras clave:** HNPCC, MMR, MSI, IHQ.

### DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO

Mujer sana que acude a la consulta de consejo genético debido a sus antecedentes familiares de cáncer. Hermana diagnosticada de carcinoma *in situ* en colon derecho a los 30 años. Madre operada de cáncer de colon transversal (T3N0M0) a los 45 años y cáncer de colon derecho (T3N0M0) a los 52 años. Posteriormente, a los 57 años, tras biopsia endometrial, le diagnosticaron un adenocarcinoma de endometrio de tipo endometriode estadio I. Al recoger la historia familiar se observaron numerosos casos por rama materna: tío fallecido de cáncer intestinal, tía con tumoración anexial derecha a los 52 años y tío diagnosticado de cáncer gástrico a los 42 años. En una generación anterior también se detallaron varios familiares con neoplasias: abuela fallecida de adenocarcinoma de recto a los 60 años, tío-abuelo fallecido de cáncer de colon a los 70 años y tía-abuela con doble neoplasia de endometrio y ovario. Recientemente, a un primo hermano de 25 años en una revisión colonoscópica le reseccionaron dos adenomas vellosos con alto grado de displasia (Figura 1).

En la familia existe una alta incidencia de cáncer, principalmente colorrectal (CCR) y endometrio, aunque se observan tumores en otras localizaciones anatómicas, como ovario, intestino delgado y estómago. Existe una transmisión vertical de la enfermedad afectando a varias generaciones. Los tumores se han desarrollado a edades precoces y es relativamente frecuente la coexistencia de varios tumores primarios en un mismo individuo. ¿Podemos encuadrar todas estas características clínicas dentro de algún síndrome hereditario de cáncer conocido? ¿Existe un estudio genético que podamos ofrecer a la familia? ¿Podemos individualizar el seguimiento clínico de cada uno de los miembros de la familia?.

---

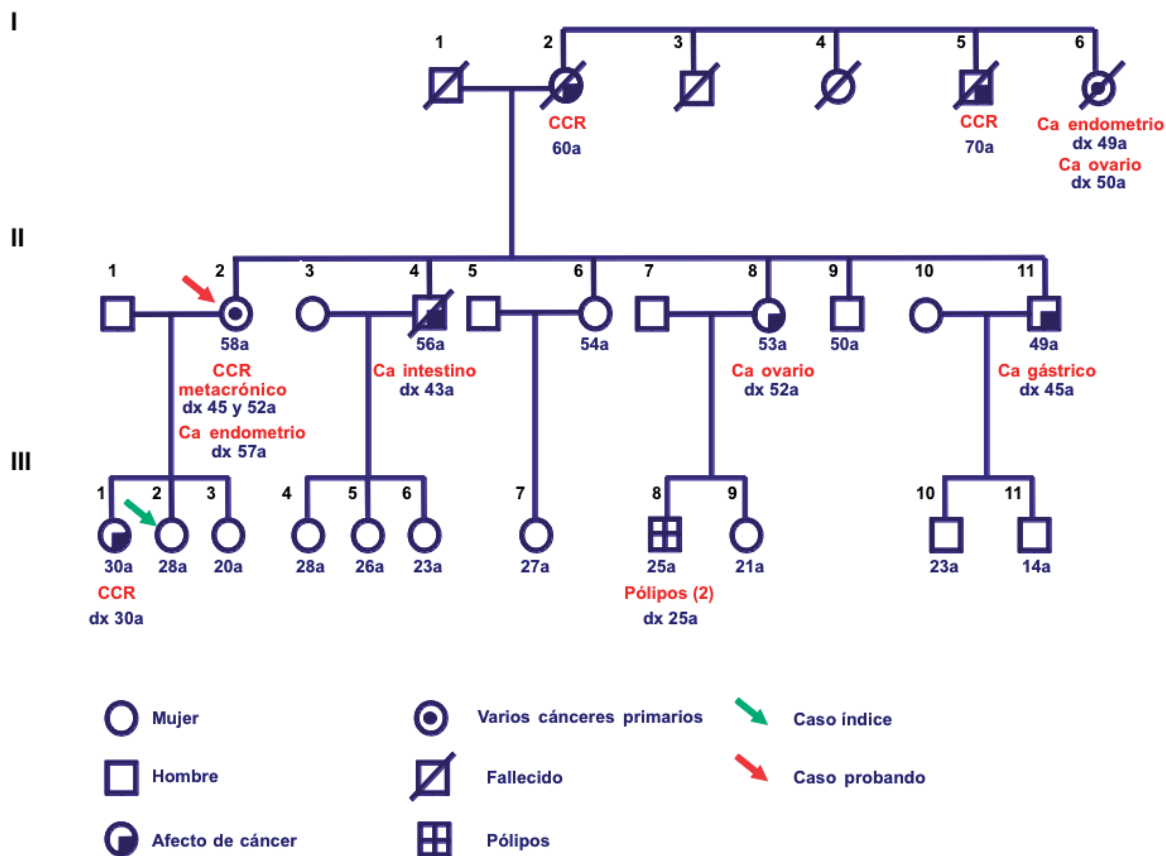


Figura 1. Árbol genealógico del caso clínico.

## CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO

Las formas hereditarias del CCR representan aproximadamente el 5 % del total de CCRs. Convencionalmente, estos síndromes se dividen en polipósicos y no polipósicos. La poliposis adenomatosa familiar (PAF) (OMIM 175100) y, en especial, el síndrome de Lynch (SL) (OMIM 120435) son las dos patologías hereditarias más frecuentes, aunque también se han descrito otros síndromes de muy baja incidencia como el síndrome de Turcot, enfermedad de Cowden, poliposis juvenil, síndrome de Gardner y síndrome de Peutz-Jeghers. La PAF constituye menos del 1 % de todos los CCRs y está causada por mutaciones germinales en el gen APC (OMIM 611731). Clínicamente, se caracteriza por el desarrollo de un número elevado de pólipos adenomatosos (>100) en el colon-recto de los individuos portadores. Existen fenotipos atenuados de la PAF, como son la poliposis adenomatosa familiar atenuada (PAFA) y la poliposis asociada al gen MYH (PAM) (OMIM 608456). Ambas variantes se caracterizan por la presencia de un número reducido de pólipos (generalmente más de 15 y menos de 100). La PAM está causada por mutaciones bialélicas en el gen MYH (OMIM 604933) y presenta una marcada diferencia con el resto de poliposis, ya que su patrón de herencia es autosómico recesivo. El SL es la forma de CCR hereditario más frecuente, representando aproximadamente el 3 % del total de CCRs diagnosticados. Se produce como consecuencia de mutaciones germinales en alguno de los genes reparadores del ADN, denominados "genes Mismatch Repair (MMR)".

En la actualidad, se conocen siete genes reparadores; *MLH1* (3p22.3; OMIM 120436), *MSH2* (2p22-p21; OMIM 609309), *MSH6* (2p16; OMIM 600678), *PMS1* (2q31-q33; OMIM 600258), *PMS2* (7p22.1; OMIM 600259), *MSH3* (5q11-q12; OMIM 600887) y *MLH3* (14q24.3; OMIM 604395). El nombre de este síndrome vino dado en honor a uno de los doctores que realizó la caracterización del mismo, Henry T. Lynch en 1966, aunque ya había sido previamente descrito por Aldred Warthin en 1913. Posteriormente, Henry T. Lynch en 1985 acuñó el término de Cáncer Colorrectal Hereditario No Polipósico (HNPCC). Desde entonces ambos términos han sido utilizados indistintamente. Sin embargo, los avances en la comprensión de la genética de la enfermedad han llevado a utilizar el término “Síndrome de Lynch” exclusivamente para las familias que presentan un defecto en los genes reparadores de ADN. Esto es así porque recientemente se ha descubierto una nueva entidad denominada “Cáncer Colorrectal Familiar tipo X” que engloba a familias con características clínicas similares al síndrome de Lynch pero donde no existe ningún defecto en el sistema reparador del ADN. Pese a esta salvedad, hoy en día se siguen utilizando ambos términos, HNPCC y síndrome de Lynch, de manera sinónima.

Los genes reparadores del ADN (genes MMR) tienen la función de reconocer y corregir los apareamientos incorrectos que se producen espontáneamente durante el proceso de replicación. *In vitro*, la ADN polimerasa tiende a cometer una mayor frecuencia de errores en secuencias repetitivas (microsatélites) donde introduce variaciones en el número de repeticiones. Por definición, los microsatélites son secuencias de menos de 100 pares de bases constituidas por repeticiones en tándem (generalmente, repeticiones de 1 a 5 pares de bases). Las secuencias microsatélites se encuentran dispersas por todo el genoma (incluyendo regiones codificantes) y su propia naturaleza las hace proclives a que la ADN polimerasa introduzca errores (de ahí que tiendan a ser regiones particularmente polimórficas). No obstante, *in vivo* esta frecuencia de errores durante el proceso de replicación es baja. Este incremento sustancial en la fidelidad de la replicación del ADN es debido a la acción del sistema MMR, que se encarga de eliminar los apareamientos incorrectos de base-base y los bucles producidos por inserciones/delecciones de varios pares de bases (IDLs del inglés *insertion/deletion loops*) tras la replicación. Defectos en el sistema MMR provocan un “fenotipo mutador” caracterizado por la presencia de ganancias o pérdidas (inserciones o delecciones) en secuencias repetitivas, produciéndose el fenómeno conocido como “inestabilidad de microsatélites” (MSI). De este modo, los tumores asociados al síndrome de Lynch presentan este patrón molecular característico.

Aunque la etiología del síndrome de Lynch no se comprende en su totalidad, se postula que la pérdida de función reparadora de estos genes MMR aumenta la frecuencia de mutaciones en secuencias microsatélites (generalmente homopolímeros: poliAs, poliTs, ...) localizadas en la región codificante de determinados genes (*TGFβRII*, *BAX*, *IGFIIR*, *GRB-14*, *MSH3*, *MSH6*, ...) implicados en la iniciación y progresión tumoral.

El fenotipo MSI fue inicialmente descrito en tumores HNPCC, aunque el 15 % de los CCRs es-

porádicos también lo presentan. En la gran mayoría de los casos esporádicos, el fenotipo MSI se explica por la ausencia de expresión del gen *MLH1* provocada por la hipermetilación de su promotor. A nivel histológico los tumores CCR MSI esporádicos presentan características muy similares a los tumores CCR MSI hereditarios. Por ello, cualquier marcador molecular que los distinga fácilmente resulta de gran utilidad clínica. Uno de estos marcadores es la mutación V600E del gen *BRAF* (OMIM 164757). Esta mutación está presente en el 80-90% de los tumores MSI esporádicos con metilación bialélica del promotor de *MLH1*, pero sin embargo no se detecta en los tumores MSI hereditarios asociados a una mutación germinal en *MLH1*.

El síndrome de Lynch (SL) es una enfermedad autosómica dominante que se caracteriza por el desarrollo temprano de CCR, edad media de 45 años, aproximadamente dos décadas antes que los tumores esporádicos. Estos CCRs asociados al SL suelen ser de localización proximal, pobremente diferenciados, mucinosos, con abundante infiltración linfocitaria, pseudodiploides, con inestabilidad de microsatélites y en general presentan un mejor pronóstico que los esporádicos. En una elevada proporción de casos se producen otros CCR sincrónicos o metacrónicos en los 10 - 15 años siguientes a la resección del colon.

En este síndrome, pese a no estar asociado a poliposis, frecuentemente encontramos pacientes con un número escaso de adenomas (generalmente <10 pólipos). Estos adenomas se caracterizan por su rápida evolución a carcinomas (2 - 3 años), por alcanzar un gran tamaño, contener componentes vellosos y mostrar un alto grado de displasia. Además de los tumores colónicos existen otros tumores extracolónicos asociados a este síndrome: endometrio, ovario, estómago, tracto urinario, tracto hepatobiliar, intestino delgado, piel (tumores de glándulas sebáceas), y cerebro. Estas dos últimas localizaciones están asociadas a variantes fenotípicas del SL, el síndrome Muir-Torre (asociado a neoplasias sebáceas) y el síndrome de Turcot (asociado a glioblastoma multiforme). El SL es un síndrome de alta penetrancia, aunque incompleta, presentando un riesgo acumulado para el desarrollo de CCR del 80 % y para el cáncer de endometrio del 50 - 60 %. Para el resto de cánceres anteriormente descritos varía del 2 % al 13 %.

Como acabamos de ver, el síndrome de Lynch presenta una gran heterogeneidad clínica con lo que su diagnóstico resulta complicado. Por este motivo, con el objetivo de crear un conjunto de características clínicas que definiesen el síndrome y facilitar los estudios cooperativos, el grupo ICG-HNPCC (*Internacional Collaborative Group on HNPCC*) estableció en 1991 los primeros criterios diagnósticos conocidos como "criterios de Ámsterdam I". Sin embargo, estos criterios eran muy estrictos y excluían a familias con tumores extracolónicos, por lo que se propusieron los "criterios de Ámsterdam II". En 1997, un grupo de expertos desarrollaron un conjunto de criterios que denominaron "guías de Bethesda" para la identificación de pacientes cuyos tumores fuesen candidatos a realizar el análisis de inestabilidad de microsatélites. Estas guías fueron revisadas en el año 2004 y son menos restrictivas que los criterios de Ámsterdam (Tabla 1). El análisis de inestabilidad de microsatélites es un método sensible ampliamente uti-

lizado como criterio de inclusión. De forma complementaria a este estudio, se utiliza la técnica inmunohistoquímica (IHQ) que permite observar la presencia o ausencia de las proteínas codificadas por los genes MMR mediante la tinción del tejido tumoral con anticuerpos específicos para cada proteína reparadora con una sensibilidad del 95 %. Además de los criterios clínicos establecidos, hoy en día existen herramientas informáticas que nos ayudan, en la consulta de consejo genético, a estimar la probabilidad de que un determinado individuo sea portador de una mutación patogénica en alguno de los genes MMR. Estos modelos estadísticos se basan en el fenotipo de cada paciente y en la historia familiar del mismo. Un ejemplo, es el modelo PREMM 1, 2, 6 de libre acceso a través de la página web (<http://www.dfc.org/premm>).

Aunque inicialmente los criterios clínicos Ámsterdam I eran considerados muy estrictos, estudios recientes han demostrado que el 30-40% de las familias que cumplen estos criterios no presentan defectos en el sistema reparador MMR, siendo estables (MSS) y con IHQ positiva para las proteínas reparadoras del ADN (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2). A esta entidad heterogénea de familias, como ya hemos citado anteriormente, se la denomina “CCR Familiar tipo X”, cuya base genética se desconoce para poderla diferenciar del síndrome de Lynch.

#### Criterios de Ámsterdam I

- Tres familiares con cáncer colorrectal, uno de ellos en primer grado de los otros dos
- Al menos dos generaciones afectadas
- Al menos uno de los cánceres colorrectales diagnosticado antes de los 50 años
- Haber descartado la poliposis adenomatosa familiar

*Deben cumplirse todos los criterios para el diagnóstico*

#### Criterios de Ámsterdam II

- Igual que los criterios Amsterdam I, con la excepción de que:  
No es necesario que los 3 cánceres sean colorrectales, sino que pueden estar afectados con otros tumores extracolónicos asociados a este síndrome HNPCC, como son: endometrio, estómago, intestino delgado, sistema hepatobiliar, riñón, uréter y ovario.

*Deben cumplirse todos los criterios para el diagnóstico*

#### Bethesda revisados (2004)

- Cáncer colorrectal diagnosticado antes de los 50 años.
- Tumores colorrectales sincrónicos o metacrónicos u otros relacionados con HNPCC (esto incluye estómago, vejiga, uréter, pelvis renal, tracto biliar, cerebro (glioblastoma), adenomas de glándulas sebáceas, queratoacantomas y carcinoma de intestino delgado), sin considerar la edad.
- Cáncer colorrectal con histología MSI-H (infiltración linfocitaria, reacción Crohn-like, diferenciación mucinosa/anillo de sello o patrón de crecimiento medular) diagnosticado en un paciente antes de los 60 años.
- Cáncer colorrectal diagnosticado en uno o más familiares de primer grado con un tumor relacionado con HNPCC, siendo uno de los cánceres diagnosticados antes de los 50 años (esto incluye adenomas que hayan sido diagnosticados antes de los 40 años).
- Cáncer colorrectal diagnosticado en dos o más familiares de primer o segundo grado con tumores HNPCC, independientemente de la edad.

*Si se cumple al menos un criterio debe realizarse estudio de inestabilidad y/o inmunohistoquímica*

**Tabla 1.** Criterios clínicos para la selección de familias con sospecha de síndrome de Lynch .

Todas las mutaciones patogénicas, variantes y polimorfismos identificados en los genes reparadores del ADN se recogen en la base de datos internacional InSIGHT “*International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours*”, de libre acceso (<http://www.insight-group.org>). De acuerdo a los criterios clínicos, el mayor porcentaje de mutaciones se encuentra en familias que cumplen los criterios clínicos Ámsterdam I y II. La mayoría de las mutaciones se han identificado en los genes *MLH1* (50 %) y *MSH2* (40 %). El 10% restante se encuentran principalmente en *MSH6* (7 %) y en menor medida en *PMS2* (<3 %). Estas mutaciones aparecen distribuidas a lo largo de toda la secuencia codificante, sin que podamos hablar de “regiones calientes”, aunque se ha sugerido que existe una mayor densidad de mutaciones en los exones 7 y 12 de *MSH2* y los exones 15 y 16 de *MLH1*. En cualquier caso, el perfil de mutaciones en una población dada puede estar caracterizado por la presencia de mutaciones fundadoras propias de un origen étnico o geográfico específico. Así, por ejemplo en algunos países como Finlandia, Dinamarca, Canadá, China, Norte América y Suecia se han identificado mutaciones fundadoras en los genes MMR.

La mayoría de las mutaciones encontradas en los genes MMR son cambios puntuales (sustituciones) o pequeñas indels (inserciones y deleciones), aunque también se han descrito reordenamientos génicos en el 15-30% de las familias Ámsterdam I/II sin mutación puntual en los genes *MLH1*, *MSH2* y *MSH6*. Recientemente, se han descrito deleciones germinales en el extremo 3' del gen *TACSTD1* (*EPCAM*) (OMIM 185535), causando hipermetilación del promotor de *MSH2* y por tanto ausencia de expresión de la proteína *MSH2*.

En el síndrome de Lynch no se han podido establecer relaciones sólidas genotipo-fenotipo, aunque se han observado determinadas tendencias. Así, las mutaciones en *MSH2* se han asociado a una edad de diagnóstico de CCR más temprana y a un mayor predominio de tumores extracolónicos que en *MLH1*. Las mutaciones en *MSH6* se asocian a un mayor riesgo de desarrollar cáncer endometrial y a una edad de diagnóstico del CCR más tardía.

Se han descrito pacientes con inactivación de los dos alelos de un gen MMR por vía germinal. En estos casos se han observado cuadros clínicos diferenciados del síndrome de Lynch. En general, estos individuos desarrollan a edades muy tempranas neoplasias hematológicas, tumores cerebrales, cáncer colorrectal y características de neurofibromatosis tipo I, incluyendo manchas café con leche.

## RESULTADO DEL CASO CLÍNICO

La familia cumple los criterios clínicos Ámsterdam I, pero esto no significa que todos los miembros de la familia sean candidatos a estudio genético. Es de vital importancia seleccionar el **caso probando**, puesto que a partir de su resultado genético asesoraremos al resto de la familia. Sin embargo, si observamos el árbol genealógico, la mujer que acude a la consulta, denominado **caso índice**, es sana y por tanto *a priori* no es una buena candidata a estudio

genético. En general, como caso probando se debe seleccionar aquel individuo que, en caso de que hubiera una mutación en la familia, tenga la mayor probabilidad de ser portador. Por esta razón, los individuos sanos no son buenos candidatos a estudio genético y se procura seleccionar al individuo más afectado por la enfermedad, el que presenta múltiples tumores o bien cáncer a una edad temprana.

En la presente familia hay varios pacientes idóneos para ser seleccionados como caso probando, por ejemplo la hermana y la madre del caso índice. Además, este síndrome tiene la ventaja de que los tumores presentan unas características moleculares específicas, como la inestabilidad de microsatélites y la pérdida de expresión de la proteína reparadora, que podemos analizar en el laboratorio y nos ayudan a seleccionar el caso probando. En este contexto el estudio genético se comenzó por el análisis molecular de los tumores colorrectales de la madre y la hermana (véase algoritmo de trabajo. Figura 2).

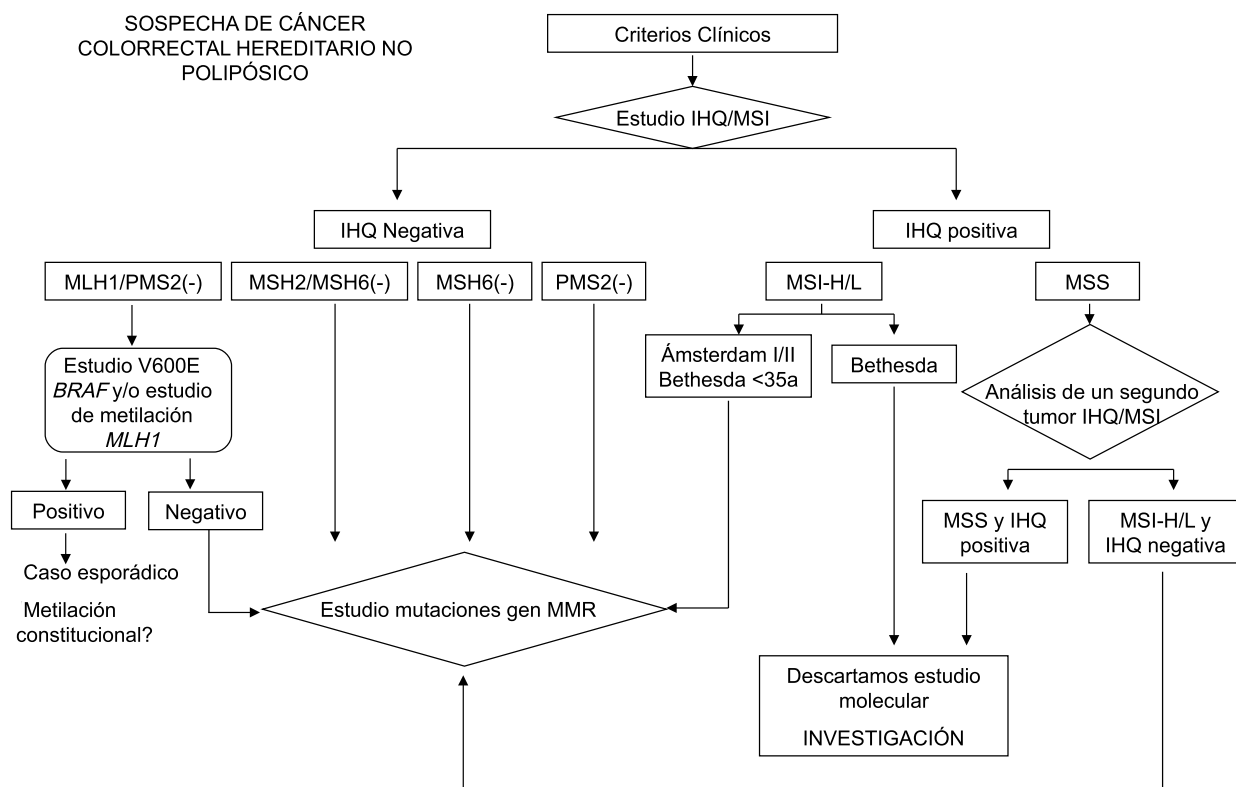


Figura 2. Algoritmo de análisis molecular en familias con sospecha de cáncer colorrectal hereditario no polipósico.

- **Estudio de inestabilidad de microsatélites.** Se estudió el panel consensuado de Bethesda que incluye 5 marcadores microsatélites, dos repeticiones mononucleotídicas (BAT26 y BAT25) y tres repeticiones dinucleotídicas (D2S123, D5S346, D17S250). Este estudio se realizó en muestras pareadas de ADN extraído de sangre periférica y ADN de tejido tumoral. Los microsatélites se amplificaron por PCR con uno de los cebadores marcado con un fluorocromo y, posteriormente, los productos de PCR se separaron mediante electroforesis capilar en un secuenciador automático. Como regla general, los tumores que presentan inestabilidad en dos

o más marcadores se definen como altamente inestables (MSI-H), mientras que aquellos que presentan inestabilidad en uno o ninguno se denominan de baja inestabilidad (MSI-L) y estables (MSS) respectivamente. En nuestro caso clínico, los dos tumores colorrectales analizados presentaron alta inestabilidad de microstélites (MSI-H) (Figura 3).

**- Estudio de expresión de las proteínas reparadoras del ADN (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2).** Se realizó por inmunohistoquímica (IHQ) incubando los cortes de tejido tumoral con los anticuerpos correspondientes [Anti-MLH1, Anti-MSH2, Anti-MSH6 y Anti-PMS2]. La expresión de las proteínas reparadoras tiene que ser valorada por un anatomopatólogo. Se cribó como positiva (+) cuando se observó tinción nuclear en las células tumorales y negativa (-) cuando se observó ausencia de expresión en el núcleo de las células tumorales, pero si existía tinción en los linfocitos (control interno). De este modo, los tumores que presentan una pérdida de función en uno de los genes MMR, muestran ausencia de tinción nuclear para dicha proteína reparadora, orientándonos hacia el gen candidato a estudio. Para interpretar correctamente el estudio IHQ tenemos que saber que dichas proteínas para ejercer su función reparadora forman heterodímeros. De este modo, cuando existe una mutación en el gen *MLH1* no se expresa dicha proteína y además al no poder dimerizar con *PMS2* observaríamos ausencia de expresión del heterodímero *MLH1/PMS2*. Del mismo modo, cuando existe una mutación en el gen *MSH2*, al no dimerizar con *MSH6* obtendríamos tinción negativa para ambas proteínas *MSH2/MSH6*. Sin embargo, cuando existe una mutación en *MSH6* o *PMS2* observaremos exclusivamente ausencia de expresión de dichas proteínas reparadoras (Tabla 2). En nuestra familia, los dos tumores analizados mostraron tinción nuclear negativa del heterodímero *MLH1/PMS2* (Figura 3).

Resultado Inmunohistoquímico				Gen a estudiar
IHQ MLH1	IHQ MSH2	IHQ MSH6	IHQ PMS2	
-	+	+	-	<i>MLH1</i>
+	-	-	+	<i>MSH2</i>
+	+	-	+	<i>MSH6</i>
+	+	+	-	<i>PMS2</i>

**Tabla 2.** Interpretación del estudio inmunohistoquímico de las proteínas MMR.

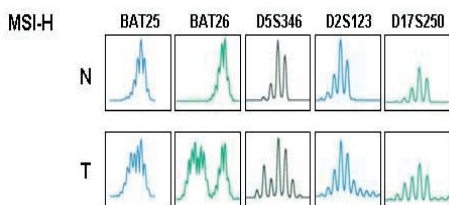
De este modo, la alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H) y la ausencia de expresión del heterodímero *MLH1/PMS2*, nos orientaron a la búsqueda de una mutación germinal en el gen *MLH1*. Sin embargo, no debemos olvidar que un 15 % de los CCR esporádicos también presentan estas mismas características moleculares (MSI-H y tinción negativa *MLH1/PMS2*). Por ello, antes de proceder al análisis genético tenemos que descartar que no se trate de un tumor esporádico integrado dentro de un contexto familiar (**fenocopia**). De este modo, analizamos la mutación somática V600E del gen *BRAF*, mediante amplificación por PCR del exón 15 de *BRAF* y posterior secuenciación directa. Dicha mutación somática no se encontró



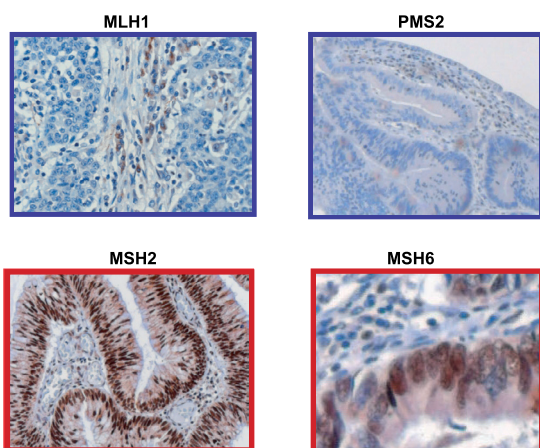
en los tumores colorrectales analizados descartando que se tratasen de tumores esporádicos. Por tanto, procedimos a la búsqueda de mutaciones germinales en el gen *MLH1*. El estudio de mutaciones puntuales, en ADN extraído de sangre periférica, se llevó a cabo en todos los exones codificantes y secuencias intrónicas adyacentes del gen *MLH1* por HRM (*High Resolution Melting*) y posterior secuenciación directa de los patrones alterados (Figura 3). Existen controles de calidad externos que evalúan la calidad del estudio genético, como por ejemplo los proporcionados por la EMQN (*European Molecular Genetics Quality Network*) <http://www.emqn.org>. Tras el estudio genético se detectó una mutación patogénica en el exon 16 del gen *MLH1* [c.1875 T>A; p.Tyr625Ter, según la nomenclatura HGVS (*Human Genome Variation Society*)] (Figura 3). Este cambio no está descrito en otras poblaciones. Es una mutación *nonsense* que produce una proteína que carece de los últimos 131 aminoácidos del extremo C-terminal y por tanto ha perdido su función reparadora. Una vez identificada la alteración patogénica responsable de la susceptibilidad al cáncer observada en la familia, el estudio se amplió al resto de familiares mayores de 18 años que quisieron realizárselo. En función de los resultados genéticos se pudo ofrecer un seguimiento clínico individualizado a cada uno de los pacientes. De este modo, a los no portadores de mutación se les informó que su riesgo de desarrollar cáncer es equivalente al de la población general, por tanto no se adhirieron a ningún programa especial de seguimiento de alto riesgo. A los portadores de mutación se les comunicó las recomendaciones específicas, que incluyen; colonoscopia total bianual a partir de los 20 - 25 años y anual a partir de los 40 años. El seguimiento colonoscópico ha demostrado una disminución significativa de la incidencia de CCR, por ello la cirugía colorrectal profiláctica es difícil de justificar en este contexto. Sin embargo, cuando el paciente portador es diagnosticado de CCR el tratamiento de elección es la colectomía total con anastomosis ileo rectal y/o coloprotectomía con reconstrucción funcional. A las mujeres portadoras se les recomendó un cribado específico de cáncer de endometrio y ovario mediante la realización de una ecografía transvaginal, aspirado endometrial y la determinación de CA-125 en suero a partir de los 30 años con una periodicidad anual. A las mujeres postmenopáusicas portadoras de mutación y en el momento del diagnóstico de CCR, puede ofrecerse una histerectomía y ooforectomía bilateral profiláctica en el mismo acto quirúrgico. Además, como en la familia existen antecedentes de cáncer de estómago, a los portadores de mutación también se les indicó una gastroduodenoscopia anual a partir de los 30 años.

Como acabamos de ver, en este caso clínico hemos sido capaces de identificar la mutación patogénica causante del síndrome de Lynch en la familia, sin embargo no siempre el estudio genético nos aporta un resultado informativo. En estas familias donde el estudio genético no nos permite individualizar el riesgo de cada uno de sus componentes, el asesoramiento y seguimiento clínico se basará en la historia familiar de cáncer observada en la familia.

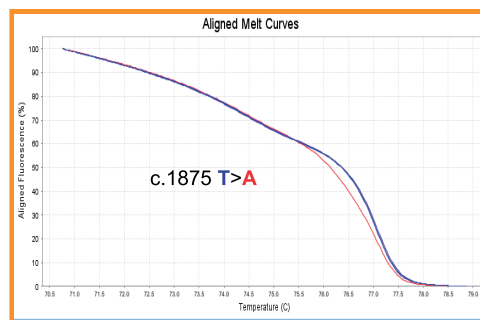
**A: ESTUDIO DE INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES**



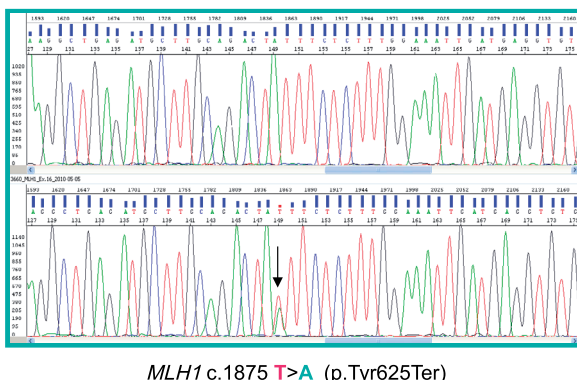
**B: ESTUDIO DE EXPRESIÓN DE MLH1, MSH2, MSH6 Y PMS2 POR INMUNOHISTOQUÍMICA**



**C: CURVA DE HRM PARA LA DETECCIÓN DE LA MUTACIÓN c.1875 T>A MLH1**



**D: SECUENCIACIÓN DE LA MUTACIÓN c.1875 T>A MLH1**



**Figura 3.** Estudio genético del caso probando.

**A: Estudio de inestabilidad de microsatélites.** El análisis incluyó 5 marcadores microsatélites (panel Bethesda). Se analizó en muestras pareadas, ADN normal (N) en la parte superior y ADN tumoral (T) en la parte inferior. Se observa que el ADN tumoral (T) presenta ganancias o pérdidas en las secuencias repetitivas de los 5 marcadores microsatélites en comparación con el ADN normal (N), por tanto el tumor muestra “alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H)”.

**B: Estudio de expresión de MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 por inmunohistoquímica.** En la parte superior se observa ausencia de expresión nuclear de las proteínas MLH1 y PMS2 en las células tumorales (tinción azul) y positiva (tinción marrón) en los linfocitos que nos sirven como control interno. En la parte inferior se observa expresión positiva (tinción marrón) de las proteínas MSH2 y MSH6 tanto en las células tumorales como en los linfocitos. De este modo el patólogo cribó el tumor como MLH1 (-), MSH2 (+), MSH6 (+) y PMS2 (-).

**C: Curva de HRM para la detección de la mutación c.1875 T>A MLH1.** En el gráfico se diferencian dos curvas de melting, una en azul que no muestra la mutación patológica (ADN normal) y otra en rojo que presenta la mutación (c.1875 T>A MLH1) en heterocigosis.

**D: Secuenciación de la mutación c.1875 T>A (p.Tyr625Ter) en el gen MLH1.** En la parte superior se muestra la secuencia normal (ADN sin la mutación) y en la parte inferior se muestra la secuencia con la mutación (MLH1 c.1875 T>A p.Tyr625Ter). El cambio de tirosina (Tyr) por un codón de parada (Ter) se produce por un cambio de Timina (T) a Adenina (A) en el nucleótido 1875.

**RESUMEN**

El síndrome de Lynch (SL) es la entidad de cáncer colorrectal hereditario más frecuente. Es un síndrome autosómico dominante, de alta penetrancia aunque incompleta, causado por mutaciones germinales en alguno de los genes reparadores del ADN “MMR” (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2). Se caracteriza principalmente por el desarrollo de cáncer colorrectal (CCR) a una edad temprana (edad media de 45 años), un número escaso de adenomas y la presencia de cánceres extracolónicos específicos: endometrio, ovario, estómago, tracto urinario, tracto hepatobiliar,

intestino delgado, piel (tumores de glándulas sebáceas) y cerebro. Para la selección de estas familias con sospecha de SL existen unos criterios clínicos bien establecidos (Ámsterdam I/II y guías Bethesda) que se basan tanto en la historia familiar de cáncer de los pacientes como en las características moleculares de los tumores asociados a este síndrome. De este modo, si el tumor presenta alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H) y/o ausencia de expresión de una determinada proteína reparadora por inmunohistoquímica (IHQ) se procede a la búsqueda de mutaciones en el gen MMR candidato a estudio.

## BIBLIOGRAFIA

- 1-Piñol V, Castells A, Andreu M, Castellví-Bel S, Alenda C, Llor X, et al.** Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer. *JAMA*. 2005;293(16):1986-94.
- 2- Vasen HFA, Möslein G, Alonso A, Bernstein I, Bertario L, Blanco I, et al.** Guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (hereditary non-polyposis cancer). *J Med Genet*. 2007;44:353-62.
- 3- Lynch HT, Lynch JF, Lynch PM, Attard T.** Hereditary colorectal cancer syndromes: molecular genetics, genetic counseling, diagnosis and management. *Fam Cancer*. 2008;7(1):27-39.
- 4- Kempers MJE, Kuiper RP, Ockeloen CW, Chappuis PO, Hutter P, Rahner N, et al.** Risk of colorectal and endometrial cancer in EPCAM deletion-positive Lynch syndrome: a cohort study. *Lancet Oncol*. 2011;12:49-55.

## LINKS A PÁGINAS WEB

- 1- The international Collaborative group on Hereditary Non-Poliposis Colorectal Cancer mutation database <http://www.insight-group.org>
- 2- MODELOS PREDICTIVOS [PREMM1,2,6 Model: Prediction Model for MLH1, MSH2, and MSH6 Gene Mutations] <http://www.dfci.org/premm>
- 3- EMQN (European Molecular Quality Network) <http://www.emqn.org>

---

## FORMACIÓN CONTINUADA EN GENÉTICA

### COMISION DE GENETICA MOLECULAR

*Josep Oriola Ambrós, Ana M<sup>a</sup> Sánchez de Abajo, Atocha Romero(coordinadora del curso), Begoña Ezquieta, Carmen Cañadas, Concha Alonso, Cristina Torreira Banzas, Jesús Molano, María Arruebo Muño, María Santamaría González, Orland Díez, Pilar Carrasco Salas*

### ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

*M. Rodríguez (presidente), D. Balsells, R. Deulofeu, M. Gassó, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, MC. Villà*

ISSN 1887-6463 – Octubre 2013 (recibido para su publicación septiembre 2013)