



Fundación
J. L. Castaño

Para el desarrollo del Laboratorio clínico

**CASOS CLÍNICOS DE
EDUCACIÓN CONTINUADA**

Ed Cont Lab Clín; 29: 58 - 68

SEQC^{ML}

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2016-2017

POLIPOSIS ADENOMATOSA EN PACIENTE DE 21 AÑOS.

Ana Peña Cobia.

Residente Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Virgen de la Luz. Cuenca.

Sandra Serrano Martínez.

F.E.A. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Virgen de la Luz. Cuenca.

EXPOSICIÓN DEL CASO

Presentación:

Varón de 21 años remitido desde Atención Primaria al Servicio de Oncología de nuestro Hospital para valoración de antecedentes familiares de poliposis intestinal y cáncer de colon.

Anamnesis:

El paciente refiere que varios familiares de la rama materna (desconoce cuántos y en qué grado ya que viven en Alemania), padecen de poliposis intestinal, cáncer de colon y adenocarcinomas sebáceos.

Antecedentes familiares:

- El abuelo materno falleció de cáncer, el paciente desconoce de qué tipo de cáncer se trata.
- La abuela materna padeció un cáncer de mama. Sigue viva.
- La madre fue diagnosticada de cáncer de colon a los 31 años (6 años antes se le había realizado colonoscopia no patológica). Falleció a los 34 años.
- La hermana falleció a los 11 años por glioblastoma multiforme.

El paciente aporta los siguientes informes de familiares:

- Informe realizado a la tía materna con 39 años. En el estudio genético se realizó secuenciación de los genes MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, en los que no se identificó mutación.
-

- Informe clínico de la hermana fallecida con diagnóstico de glioblastoma multiforme.
- Informe de un familiar materno residente en Alemania (el paciente no sabe el grado de parentesco) con diagnóstico de cáncer de colon. En este paciente la secuenciación realizada de los genes MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 no identificó ninguna mutación.

Dicho familiar tiene dos hijos, uno diagnosticado de cáncer de colon y otro con presencia de pólipos en el colon. Al primero se le realizó inmunohistoquímica de las proteínas MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2 que mostró expresión conservada y ausencia de inestabilidad de microsatélites. Al segundo se le realizó secuenciación de los genes APC y MUTYH sin encontrar mutación y también se realizó rastreo de grandes reordenamientos del gen MSH6 por Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), sin detectar ninguna variante genética que pudiera ser causante de la enfermedad. Finalmente, en ambos hermanos se realizó secuenciación del gen POLE, encontrando mutación en el exón 13: POLE c.1270C>G (p.Leu424Val) que se considera patogénica y probablemente heredada de su madre.

Exploración física del paciente:

Paciente consciente y orientado, sin hábitos tóxicos, no tratamientos domiciliarios. Exploración normal.

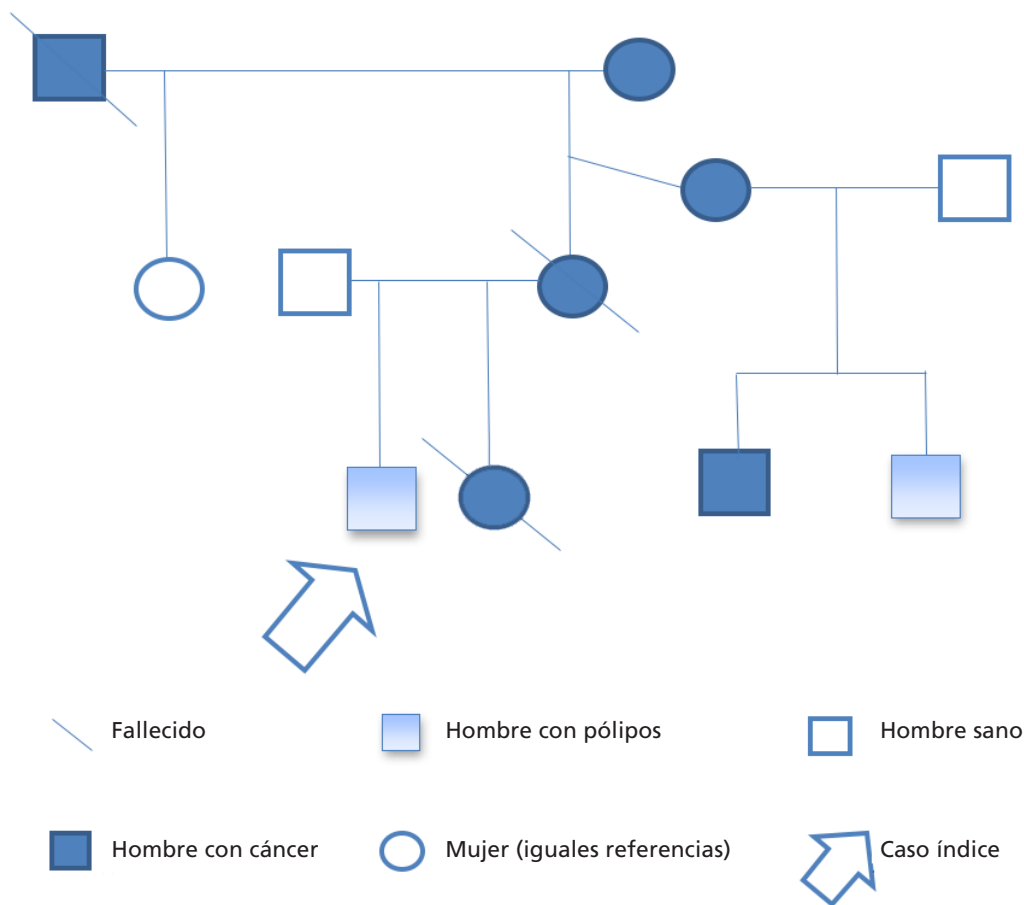


Figura 1: Árbol genealógico de la familia del paciente.

RESOLUCIÓN DEL CASO

Por sus antecedentes se considera que el paciente cumple criterios de *Ámsterdam II*, así como criterios de *Bethesda*, por lo que se le deriva a la Unidad de Consejo Genético y al Servicio de Digestivo para la realización de colonoscopia. Tras consentimiento informado, al paciente se le realiza estudio del gen *POLE* debido a sus antecedentes familiares

En la colonoscopia realizada al paciente se aprecian 4 pólipos pequeños que se extirpan. Los pólipos presentaban las siguientes localizaciones: en ascendente cerca del ciego, en ascendente cerca del ángulo hepático, en transverso cerca del ángulo hepático y en transverso cerca del ángulo esplénico. El estudio de Anatomía Patológica revela que los cuatro pólipos son adenomatosos (adenoma tubular) con displasia epitelial ligera.

En la secuenciación del gen *POLE* se encuentra la mutación c.1270C>G (p.Leu424Val). Se trata de un paciente portador de mutación, pero que en el momento actual no ha desarrollado la enfermedad.

La detección de mutaciones germinales en el gen *POLE* es muy reciente, y se necesitan estudios epidemiológicos para establecer una estrategia preventiva adecuada. Actualmente, se recomienda un cribado y vigilancia similar a los pacientes con síndrome de *Lynch*:

- Pacientes portadores de mutación: realizar colonoscopia anual, iniciándose a los 25 años o 5 años antes de la edad del caso más joven diagnosticado en la familia.
- En ausencia del test genético, los familiares de primer grado del individuo afectado, deben realizarse colonoscopia cada 1-2 años, empezando entre los 30-40 años de edad, y anualmente a partir de los 40 años, o cada 1-2 años comenzando a los 25 años.

Con estas medidas se persigue realizar un diagnóstico precoz en caso de que aparezca cáncer colorrectal (CCR), consiguiendo disminuir la morbi-mortalidad del paciente.

Cáncer de colon hereditario

El CCR es la segunda causa de muerte por cáncer en los países industrializados. La mayoría de los casos de CCR son esporádicos, pero hasta un 5% de todos los casos se debe a un síndrome hereditario conocido. Normalmente, el diagnóstico de estos tumores se realiza a edades tempranas y los pacientes llevan asociado un mayor riesgo de desarrollar otros tumores.

En los casos de CCR hereditario, lo más importante es la posibilidad de detectar personas sanas con alto riesgo de desarrollar CCR e iniciar medidas de seguimiento que permitan una reducción en la incidencia de este tumor o un aumento de la supervivencia gracias al diagnóstico precoz.

Dentro del CCR hereditario, los dos síndromes más importantes, tanto por el número de

casos como por la posibilidad de tomar medidas activas en su control, son el síndrome de Lynch (CCR hereditario no polipósico) y la poliposis adenomatosa familiar. Aunque también existen otros, como la poliposis asociada a MUYTH o síndromes asociados a mutaciones en el gen POLE, entre otros.

1. Síndrome de Lynch o cáncer colorrectal hereditario no polipósico (HNPCC)

Este trastorno es el responsable de entorno al 3 % de todos los cánceres de colon. Presenta una herencia autosómica dominante. Está causado por la mutación en alguno de los genes reparadores de errores del ADN o "*MisMatch Repair genes*" (MMR). Los miembros más importantes de este grupo de proteínas en cuanto a susceptibilidad hereditaria a padecer CCR son: hMLH1, hMSH2, hMSH6 y hPMS2. Cuando se produce una alteración en estas proteínas, se puede dar lugar a lo que se conoce como inestabilidad de microsatélites (IMS) consecuencia de la incapacidad del sistema de reparación de corregir los errores que se producen en la replicación del ADN, lo que provoca la acumulación de errores en el ADN celular, sobre todo en áreas cromosómicas de zonas de repetición de unos pocos pares de bases (microsatélites), dando lugar a alteraciones en su tamaño. La posibilidad de desarrollar un CCR en las personas portadoras de mutación puede llegar a ser de un 70 – 80 % a lo largo de la vida.

Para realizar el diagnóstico del síndrome de Lynch, el primer paso es cumplir los criterios clínicos actuales (criterios de Ámterdam II y guías de Bethesda revisados):

- **Criterios de Ámsterdam II:**

- Tres o más individuos afectados de CCR o neoplasia relacionada (endometrio, intestino delgado, uréter o pelvis renal), uno de ellos, ha de ser familiar de primer grado de los otros dos
- Afectación por CCR de, al menos, 2 generaciones consecutivas
- Como mínimo un caso diagnosticado antes de los 50 años
- Exclusión del diagnóstico de poliposis adenomatosa familiar

- **Criterios de Bethesda revisados:**

- CCR diagnosticado antes de los 50 años
- Presencia de CCR sincrónico o metacrónico u otra neoplasia relacionada (endometrio, estómago, ovario, páncreas, urinario, cerebro, intestino delgado), con independencia de la edad
- CCR con infiltración linfocitaria, células en anillo de sello o crecimiento medular diagnosticado antes de los 60 años
- Paciente con CCR y uno o más familiares de primer grado con CCR o neoplasia relacionada (endometrio, estómago, ovario, páncreas, urinario, cerebro, intestino delgado) diagnosticada antes de los 50 años

- Paciente con CCR y dos o más familiares de primer o segundo grado con CCR o neoplasia relacionada (endometrio, estómago, ovario, páncreas, urinario, cerebro, intestino delgado), con independencia de la edad

Técnicas de biología molecular para diagnosticar el síndrome de Lynch:

a) *Secuenciación*: la secuenciación del ADN es el estudio del genoma “base por base”. Este método utiliza la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar los exones y los sitios de unión exón/intrón de un gen y estudiarlos base por base.

La secuenciación completa de los genes hMLH1, hMSH2, hMSH6 y hPMS2 en todos los pacientes con criterios clínicos de riesgo es una estrategia que permite llegar al diagnóstico del 85 % de los casos, aproximadamente. El porcentaje restante se debe a mutaciones aún no conocidas o malinterpretadas, en estos casos, el método de Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), que permite amplificar varios segmentos de ADN a la vez con un único primer, puede detectar la mayoría de ellas. El problema es que ésta es una técnica cara, por lo que, para no utilizarla en todos los casos, se recurre a otros métodos como la inmunohistoquímica o el panel de inestabilidad microsatelital para seleccionar a qué pacientes se les realizarán finalmente los estudios genéticos.

b) *Test de inestabilidad de microsatélites (MSI)*: en el mercado se comercializan los llamados paneles de Bethesda que son marcadores con 5 sondas que buscan en el ADN repeticiones de 5 microsatélites conocidos (BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250). Si no se encuentran presentes, se dice que el tumor tiene estabilidad microsatelital (MSS), si solo 1 es positivo el tumor tiene inestabilidad microsatelital baja (MSI-L) y si 2 o más son positivos sería un caso de inestabilidad alta (MSI-H). También existen otros kits comerciales que tienen hasta 10 marcadores en donde se define como MSS cuando existe menos del 10 % de inestabilidad, MSI-L cuando la inestabilidad es del 10 - 30 % y MSI-H cuando el defecto es superior al 30 %.

MSI nos permite detectar los casos de MSI-H, que serán candidatos a estudios de secuenciación genética y MLPA, pero no nos permite conocer cuál es exactamente el gen mutado, ni detectar la mutación para el estudio de familiares de riesgo. Por tanto, MSI no debe ser usado como único recurso diagnóstico de síndrome de Lynch sino, como se comentó en el apartado anterior, un método de selección de pacientes para estudios genéticos.

c) *Inmunohistoquímica (IHQ)*: La inmunohistoquímica es una técnica que utiliza anticuerpos monoclonales para la identificación de proteínas específicas. Es un método relativamente sencillo y de bajo coste. Esta técnica identifica la presencia de una proteína específica, pero no determina el funcionamiento de la misma ni el motivo de su ausencia. Por ello, al igual que el MSI, se utiliza en el síndrome de Lynch como método indirecto. La IHQ permite detectar la presencia de las proteínas codificadas por los genes MMR.

Por ejemplo, un resultado negativo en la búsqueda de MLH1, puede deberse a mutaciones en su gen codificante o a su silenciamiento por hipermetilación. Esto último es lo que se

observa en los CCR esporádicos con MSI-L o MSI-H. De obtenerse este resultado, se debe realizar el test de metilación, que nos permite distinguir si estamos frente a un síndrome de Lynch o un CCR esporádico con IMS. Como alternativa al test de metilación, se ha descrito una mutación somática del gen BRAF. Este es un gen mucho más pequeño que MLH1 por lo que esta estrategia resulta mucho más económica y sencilla.

Diferentes trabajos coinciden en que la sensibilidad de MSI asociado a IHQ asciende a 94 %, con una especificidad del 98 %.

Para llevar a cabo el manejo de estos pacientes se recomienda realizar colonoscopias anuales a los portadores de mutaciones a partir de los 25 años, y también, hacer un seguimiento a los familiares de primer grado.

En resumen, las estrategias en el diagnóstico del síndrome de Lynch son múltiples. Casi todas las guías internacionales coinciden en realizar un primer tamizaje a través de criterios clínico-histológicos (Amsterdam II y Bethesda) y, posteriormente, realizar IHQ y/o MSI para definir los candidatos a estudios genéticos de MMR.

Criterios de Amsterdam o Bethesda positivos

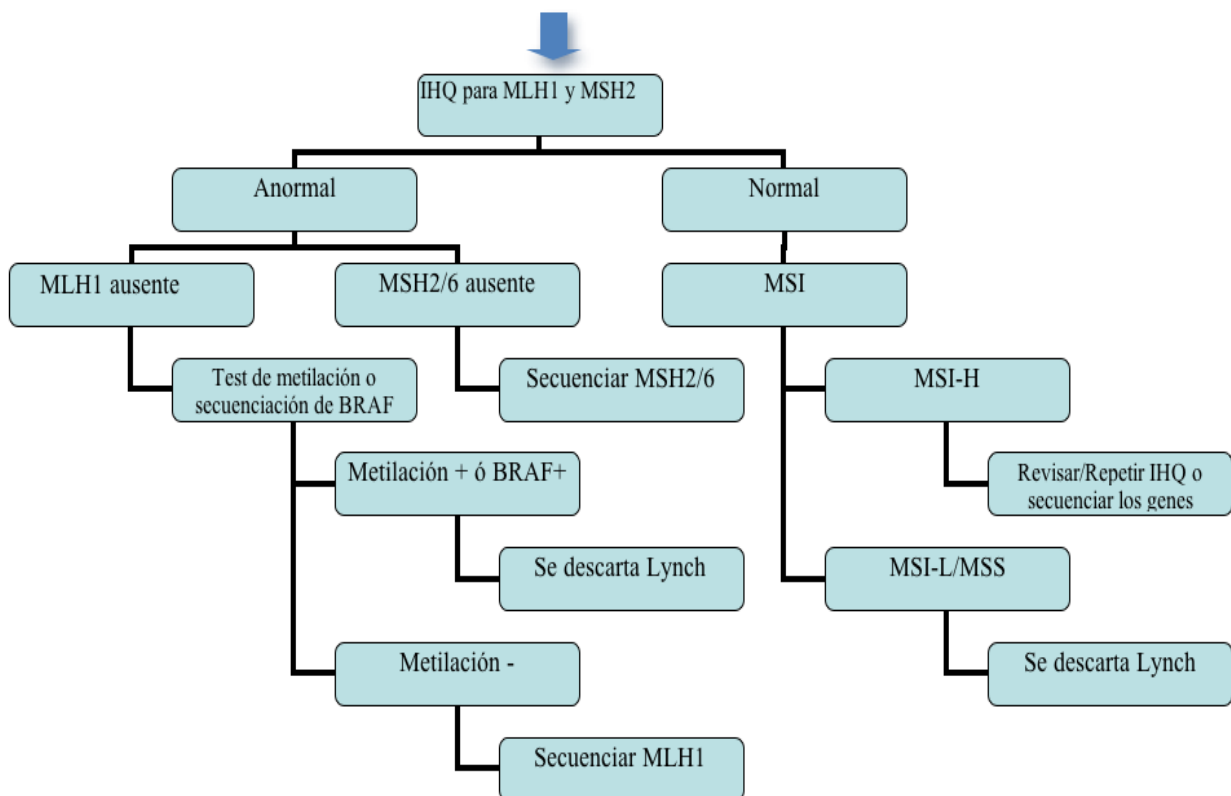


Figura 2: Algoritmo diagnóstico del síndrome de Lynch. Vaingurt M. *Genómica en el diagnóstico del cáncer colorrectal hereditario. Revisión bibliográfica. Servicio de coloproctología. Buenos Aires. 2012. 1-34.*

2. Poliposis adenomatosa familiar

La poliposis adenomatosa familiar es, con una incidencia de 1:8.000 recién nacidos, el segundo síndrome más frecuente de predisposición genética a CCR tras el Síndrome de Lynch, siendo responsable de entre el 1 – 2 % de todos los casos de CCR.

Esta enfermedad hereditaria, habitualmente con patrón autosómico dominante, está caracterizada por la aparición de un número rápidamente creciente de pólipos adenomatosos en el intestino grueso y, en menor medida, a lo largo de otras regiones del tracto gastrointestinal. Se diagnostica clínicamente cuando existe un número mayor de 100 pólipos adenomatosos colorrectales, o existe un número menor pero un familiar de primer grado ha sido diagnosticado de poliposis adenomatosa familiar. Los pólipos comienzan a aparecer a una edad media de 16 años, son clínicamente sintomáticos a los 29 años y degeneran en CCR inevitablemente al comienzo de la cuarta década de vida.

En un contexto actual, el término poliposis adenomatosa familiar incluye, además de la poliposis adenomatosa familiar clásica (PAF), la poliposis adenomatosa atenuada, el síndrome de Gardner y el síndrome de Turcot, que serían los fenotipos producidos por las mutaciones en células germinales del gen APC (adenomatous polyposis coli), situado en el brazo largo del cromosoma 5 (q21-q22).

- Poliposis familiar del colon atenuada (AAPC): Presencia de un número menor de pólipos (alrededor de 30), de localización más proximal que malignizan a partir de los 50-55 años. Las manifestaciones extraintestinales son raras.
- Síndrome de Gardner: Presenta manifestaciones extracolónicas. Es la asociación de pólipos adenomatosos con osteomas y tumores de tejidos blandos (tumores desmoides).
- Síndrome de Turcot: Es la asociación de poliposis con tumores del sistema nervioso central. Dos terceras partes de los casos están causadas por mutaciones en APC mientras que el tercio restante resulta de mutaciones en los genes reparadores de los errores de la replicación relacionados con el HNPCC.

La penetrancia de la poliposis adenomatosa familiar es del 100 %, es decir, todos los pacientes portadores de la mutación desarrollarán la enfermedad, aunque hasta un 25 % de los casos no presentan antecedentes familiares, como resultado de una mutación de novo. Por tanto, tras saber la indefectible secuencia adenoma-carcinoma, la estrategia terapéutica para llevar a cabo es detectar los pólipos y extraerlos mediante cirugía, además de realizar un seguimiento de por vida.

El 95 % de las mutaciones germinales en APC son mutaciones sin sentido o cambios en el marco de lectura que condiciona la aparición de una proteína truncada con una función anormal.

El gen presenta 3 sitios de mayor sensibilidad a las mutaciones, los codones 1061, 1309 y 1465. Conocer el sitio de la mutación es importante porque existe una correlación con el fenotipo de la enfermedad. Las mutaciones localizadas entre los codones 1250 y 1464 se relacionan con formas más agresivas de la enfermedad, mientras que las mutaciones en los extremos del gen suelen ser las responsables de las formas atenuadas (AAPC).

– Estudio genético para diagnosticar la poliposis adenomatosa familiar:

Se realiza, como primer abordaje diagnóstico, la secuenciación completa del gen APC. En los casos en que no se halle la mutación, se debe indicar la secuenciación de MUTYH, ya que las mutaciones del gen APC pueden encontrarse en aproximadamente el 80 % de los pacientes con poliposis adenomatosa familiar, pero el 20 % restante se deben a mutaciones del gen MUTYH, síndrome conocido como MAP (poliposis adenomatosa relacionada al gen MUTYH), o a mutaciones no conocidas.

Se podría recurrir a MLPA cuando no se ha podido identificar la mutación causal de la enfermedad.

3. Poliposis asociada a MUYTH

Este proceso se debe a la mutación bialélica del gen MYH (homólogo humano de *mutY* de *E. coli*), que forma parte del sistema de reparación del ADN. Este es el único síndrome de CCR hereditario de transmisión autosómica recesiva. Clínicamente tiene un modo de presentación similar al de la poliposis adenomatosa familiar atenuada, con presencia de un número variable de pólipos, y con desarrollo de CCR en edades más tardías. Estos tumores podrían asociarse a un mejor pronóstico, pero pueden presentar tumores extracolónicos (duodenales) y quistes sebáceos. El diagnóstico debe sospecharse en los pacientes con clínica de poliposis adenomatosa familiar atenuada para los que no se ha encontrado mutación en APC y se confirma mediante el análisis del gen MYH.

4. Nuevos síndromes de predisposición hereditaria al cáncer colorrectal: POLE y POLD1

El CCR hereditario debido a mutaciones en genes conocidos (síndrome de Lynch, poliposis adenomatosa familiar, poliposis asociada a MUTYH, etc.) explica aproximadamente el 5 % de todos los casos de CCR. Sin embargo hay pacientes que presentan características clínicas que sugieren un origen hereditario, como la multiplicidad de tumores, el inicio temprano y los antecedentes familiares de la enfermedad, pero en los que no identificamos mutaciones en los genes conocidos de predisposición al CCC. El uso de tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) ha supuesto el inicio de una revolución con el descubrimiento de nuevos genes de predisposición hereditaria al CCR. Se ha descubierto recientemente mutaciones germinales en los genes POLE y POLD1. En un estudio publicado en 2013, se buscaron nuevos genes de predisposición de alta penetrancia en una serie de casos y familias con decenas de adenomas colorrectales y carcinomas mediante NGS, seguido por el análisis de asociación de varios miles de casos y controles. En algunas familias se detectaron muta-

ciones germinales patogénicas en 2 genes relacionados, POLE y POLD1, que codifican las polimerasas principales implicadas en la replicación del ADN. Las mutaciones más comunes, POLE p.Leu424Val y POLD1 p.Ser478Asn, se encuentran en sitios análogos en los dominios de corrección de las proteínas y se predice que obstaculizan la corrección de apareamientos de bases que se producen durante la replicación del ADN. Esto se manifiesta como una tendencia a presentar todo tipo de mutaciones, especialmente transversiones G:C>T:A. Los portadores de mutaciones germinales en POLE y POLD1 presentan un fenotipo variable, con inicio precoz de múltiples adenomas y CCR, habiéndose observado un posible aumento de riesgo de cáncer de endometrio en portadores de mutaciones en POLD1. Se ha propuesto denominar a este nuevo síndrome PPAP (Polymerase Proofreading-Associated Polyposis), recomendando el análisis de mutaciones en estos genes en cualquier familia con fenotipo de síndrome de Lynch o poliposis adenomatosa atenuada sin mutación detectada en los genes causantes de estos síndromes.

Consejo genético

El consejo genético es el acto en el cual se informa al paciente de los riesgos que tiene de presentar una determinada enfermedad y de transmitirla, así como de los procedimientos diagnósticos disponibles tanto para él como para sus familiares.

Este proceso incluye la intervención de varios profesionales, que deben ayudar al paciente o familia a comprender el diagnóstico, la probable evolución de la enfermedad y las opciones de manejo clínico disponibles; entender de qué manera la herencia contribuye a desarrollar un determinado CCR hereditario y las posibilidades de aparición de la enfermedad en otros miembros de la familia; comprender las medidas de prevención disponibles, incluido el test genético predictivo; elegir las acciones más apropiadas según el riesgo personal, las expectativas de la familia, las convicciones éticas y religiosas propias del individuo, actuar en consecuencia con dicha decisión y, por último, ofrecer el soporte necesario al individuo y la familia para el afrontamiento de la enfermedad.

Por ejemplo, en el caso del síndrome de Lynch se debería aconsejar la realización de las pruebas genéticas a individuos afectos de familias que cumplan los criterios de Ámsterdam, individuos afectos que cumplan los criterios de Bethesda y los familiares en primer grado de pacientes con mutación conocida. Sin olvidar que estos estudios solo se pueden hacer si se ha procedido a la firma del consentimiento informado correspondiente y tras el asesoramiento correcto por parte del personal especializado.

Además, es beneficioso crear registros de pacientes con CCR hereditario que permitan llevar a cabo un control e investigación adecuado de esta enfermedad. El objetivo fundamental es elaborar protocolos terapéuticos y diagnósticos a partir de la detección, el conocimiento y el seguimiento de las familias afectadas de la enfermedad o de riesgo mediante el consejo genético.

Conclusiones

Si bien los estudios genéticos son nuestro principal recurso diagnóstico, al mismo tiempo debemos saber que todavía no logran diagnosticar el 100 % de las mutaciones causantes de los síndromes de CCR hereditario. Por este motivo, cabe remarcar que una mutación detectada en el caso índice, nos informa que el paciente es portador del defecto genético y nos permite estudiar a los familiares de riesgo. En estos familiares, un resultado positivo significará la presencia de la mutación, mientras que un resultado negativo descarta totalmente la presencia de la misma.

Por otro lado, si el estudio del caso índice se informa como negativo “mutación no detectada o estudio no informativo”, esto significa que no se ha podido detectar la mutación por el método estudiado, pero no se puede descartar totalmente la presencia de la enfermedad.

Se han realizado grandes avances, en los últimos años, con respecto al diagnóstico de las formas hereditarias del CCR.

Queda patente la diversidad de variantes posibles que cada una de estas formas de CCR pueden adquirir, entendiéndose entonces la necesidad de buscar un enfoque más personalizado en cada caso particular.

Como profesionales del Laboratorio Clínico debemos conocer los métodos diagnósticos para detectar los CCR hereditarios, así como cuál es la estrategia terapéutica a seguir en el caso índice y en los familiares, para poder realizar un adecuado seguimiento y asesoramiento a cada paciente.

BIBLIOGRAFÍA

Balaguer F. Genética del cáncer colorrectal. *Gastroenterol Hepatol.* 2013; 36(supl 2):73-79.

Alonso Sánchez A. Guía de manejo de poliposis adenomatosa familiar. Grupo de trabajo en Cáncer Hereditario de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).

Hindi Muíz, N, Lamarca Lete A, Feliú Batlle J. Cáncer de colon hereditario. *Med Clin* 2012; 138(5):220-223.

Pérez Segura P, Fernández-Martos C. Guía de manejo de cáncer de colon hereditario no polipósico (HNPCC). Grupo de trabajo en Cáncer Hereditario de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).

Parés D, Pera M, González S, Pascual M, Blanco I. Poliposis adenomatosa familiar. *Gastroenterol Hepatol.* 2006;29(10):625-35.

Valle L, Hernándezíllan E, Bellido F, Aiza G, Castillejo A, Castillejo MI et al. New insights into POLE and POLD1 germline mutations in familial colorectal cancer and polyposis. *Human Molecular Genetics*, 2014. Vol 23. No 13. 3506-3512.

Nuñez R, Galán E, Moreno C, Romero A, Santamaría JI. Poliposis adenomatosa familiar: síndrome de Gardner. *Cir Pediatr* 2006; 19:111-114.

Vaingurt M. Genómica en el diagnóstico del cáncer colorrectal hereditario. Revisión bibliográfica. Servicio de coloproctología. Buenos Aires. 2012. 1-34.

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi (*Residente*), R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, A. Peña (*Residente*), M. Rodríguez (*Presidente*), N. Rico, MC. Villà.

ISSN 1887-6463 – Marzo 2017 (recibido para publicación Mayo 2016).