

VII Foro de Investigación en Salud

Eje

Exposición, Detección y Tratamiento de la Población

Desarrollo de una técnica molecular para inestabilidad de microsatélites aplicable a cáncer de

colon *Development of a molecular technique for microsatellite instability for use in colon cancer*

M. Marino²; L. Locarno²; J. Bufaliza³; A. Mampel⁴; C. Binia¹ y S. Furfuro¹ ¹Facultad de Ciencias Médicas- Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina ²Laboratorio de Genética Forense. Cuerpo Médico Forense. Poder Judicial Mendoza. Argentina ³Hospital Luis Lagomaggiore. Mendoza. Argentina ⁴Hospital Universitario- Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina

Contacto: sfurfuro@hotmail.com

Palabras clave: Cáncer de Colon; Inestabilidad de microsatélites; Síndrome de Lynch

Key Words: Colorectal cancer; Microsatellite Instability; Lynch Syndrome

Introducción: el Cáncer Colorrectal (CCR) es la segunda causa de muerte por cáncer en Argentina, con más de 11.000 nuevos casos por año. Entre el 3 y el 8% de los casos son producidos por mutaciones heredables. El síndrome más común es el Síndrome de Lynch o Cáncer Colorrectal Hereditario no Polipósico (CCHNP). Los pacientes afectados tienen un riesgo superior al 80% de desarrollar cáncer de colon y en mujeres, el riesgo de cáncer de endometrio es de 60%. También se encuentra incrementado el riesgo de padecer cáncer de estómago, ovario, intestino delgado, vías biliares y riñón. La patogénesis del CCHNP se relaciona con fallas en el sistema de reparación del ADN que lleva a la acumulación de mutaciones de nucleótido único y cambios en la longitud de secuencias repetitivas, fenómeno conocido como Inestabilidad de Microsatélites (MSI). Alta Inestabilidad de microsatélites (MSI-High) se presenta en más del 85% de casos de CCHNP. Además, puede detectarse en el 10-15% de los casos de CCR no asociados a CCHNP debido a metilación de los genes de las enzimas de reparación del ADN. Los tumores colorrectales con MSI tienen características histológicas definidas, mejor pronóstico que los tumores sin MSI y diferente respuesta a la quimioterapia. El descubrimiento de MSI en CCR ha incrementado el conocimiento de la diversidad de los CCR y colabora en el diagnóstico, tratamiento y asesoramiento genético.

Objetivo: diseñar una técnica molecular para el análisis de MSI de bajo costo y adecuar los algoritmos para mejorar el diagnóstico de Síndrome de Lynch en la región.

Metodología: se incorporaron 33 pacientes con CCR de hasta 70 años con al menos un familiar de primer grado con CCR o un familiar con CCR menor de 50 años (2º grado o más). Se solicitó la firma del consentimiento informado previo a la extracción de sangre y recepción de muestras de biopsia intestinal. Se registraron los datos personales, antecedentes familiares, resultados anatómopatológicos y de inmunohistoquímica. Se extrajo ADN a partir de las muestras obtenidas y se cuantificó para su uso posterior. Se seleccionaron los marcadores microsa-

télites: D2S123, D5S346, D17S250, BAT-25 y BAT-26, NR-21, NR-22 y NR-24 y se incluyeron en una única reacción de PCR multiplex. La corrida electroforética se realizó en un secuenciador ABI3130 y los resultados se analizaron con GeneMapper ID. Se compararon los perfiles genéticos de las muestras normales y tumorales para determinar el grado de MSI.

Resultados: se estudiaron 33 pacientes, de los cuales 24 fueron estables en los 8 microsatélites y 9 (27%) tuvieron MSI-High con 3 o más marcadores inestables. 9/9 (100%) pacientes con microsatélites estables presentaron expresión conservada de las proteínas de reparación del ADN (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) por inmunohistoquímica y 4/6 (67%) pacientes con MSI-High presentaron alteración en la expresión de algunas de las proteínas. De los 9 pacientes con MSI-High, solo 3 casos tenían antecedentes familiares de tumores asociados a Síndrome de Lynch.

Discusión: la PCR demostró una alta sensibilidad en muestras complejas o escasas con buenos perfiles genéticos. Se obtuvo buena correlación entre inmunohistoquímica y MSI. Los casos con ausencia de alguna de las proteínas, resultaron MSI-High. En dos casos se obtuvo MSI-High con las cuatro proteínas presentes que podría relacionarse a defectos en MSH6 o a mutaciones missense que afectan la función de la proteína aunque puede ser detectada antigénicamente.

Conclusiones: la determinación de MSI es un estudio que debe realizarse de rutina en los pacientes con CCR como prueba de screening para Síndrome de Lynch. La metodología desarrollada es innovadora, altamente sensible y específica para la detección de MSI. La disminución en el costo permitirá que un mayor número de pacientes puedan acceder al análisis.

«Proyecto subsidiado por el Programa Investigadores Mendocinos, Ministerio de Salud, Desarrollo Social y Deportes» 2015