

## APLICACIÓN Y VALIDACIÓN DE DOS TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE METILACIÓN, (METHYLIGHT Y MS-MLPA) PARA EL DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME DE LYNCH

L. Pérez-Carbonell<sup>a</sup>, C. Alenda<sup>b</sup>, A. Payá<sup>b</sup>, C. Guillén<sup>c</sup>, A. Castillejo<sup>c</sup>, V. Barberá<sup>c</sup>, J.L. Soto<sup>c</sup>, R. Jover<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Investigación, Hospital General Universitario de Alicante

<sup>b</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario de Alicante

<sup>c</sup>Unidad de Investigación, Hospital General universitario de Elche

<sup>d</sup>Unidad de Gastroenterología, Hospital General Universitario de Alicante

Al menos una tercera parte de los casos de cáncer colorrectal (CCR) que reúnen criterios de Bethesda revisados y presentan pérdida de expresión de MLH1 son casos esporádicos debidos a hipermetilación de este gen y no deberían recibir análisis genético. El objetivo de este estudio es investigar el papel de un método nuevo y sencillo de determinación de la metilación de MLH1, el MS-MLPA (Methylation Specific-Multiplex Ligation Probe Amplification), en la selección de pacientes para diagnóstico genético de síndrome de Lynch. El MS-MLPA tiene la ventaja de no requerir modificación previa del ADN y ser una técnica sencilla y disponible para cualquier laboratorio de biología molecular.

**Métodos:** Se ha analizado 60 casos de CCR con pérdida de expresión de MLH1. El DNA procedente de muestras parafinadas de estos tumores ha sido estudiado con 2 métodos cuantitativos de detección de metilación: 1. Methylight (Applied Biosystems), considerado como "gold-standard" y 2. MS-MLPA (MCR Holland). La presencia de mutación somática V600E en el gen BRAF también fue investigada en el DNA tumoral. A todos los pacientes les fue realizado estudio de mutación germinal de MLH1 por secuenciación.

**Resultados:** La correlación de los resultados cuantitativos obtenidos con las 2 técnicas de estudio de metilación (Methylight y MS-MLPA) fue del 96,7% ( $p < 0,001$ ). Se encontraron mutaciones germinales en MLH1 en 8 de los 60 pacientes (13,3%). Ninguno de los tumores procedentes de pacientes con síndrome de Lynch mostró metilación de MLH1 en tejido tumoral con ninguna de las 2 técnicas. Cuarenta y dos de los 52 casos sin mutación germinal de MLH1 (80%) presentaban metilación significativa en tejido tumoral cuando se analizó con Methylight. Utilizando MS-MLPA, se encontró metilación en 44 de estos 52 casos (85%). Ambas técnicas mostraron una sensibilidad y valor predictivo negativo del 100% para detectar mutación germinal en MLH1. La especificidad fue del 80% para el Methylight y del 85% para el MS-MLPA. El valor predictivo positivo fue del 44% para Methylight y del 50% para MS-MLPA. Estos valores fueron superiores a los obtenidos utilizando la mutación BRAF, con una especificidad del 53,8%.

**Conclusión:** El análisis de metilación de MLH1 es una técnica con alta sensibilidad y especificidad para la detección de casos de CCR esporádico con inestabilidad de microsatélites. El uso de MS-MLPA como técnica sencilla de estudio de metilación de MLH1 puede ser un elemento de gran utilidad en el algoritmo selección de pacientes con CCR para test genético del síndrome de Lynch.

doi: 10.1016/j.gastrohep.2009.01.031

## ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL FAMILIAR: UN INDICADOR DE GRAVEDAD. ANÁLISIS DEL REGISTRO ENEIDA

M. Andreu<sup>a</sup>, L. Márquez<sup>a</sup>, J. P-Gisbert<sup>b</sup>, E. Domènech<sup>c</sup>, V. García<sup>d</sup>, F. Gomollón<sup>e</sup>, P. Nos<sup>f</sup>, O. Merino<sup>g</sup>, A. Gutierrez<sup>h</sup>, M. Esteve<sup>i</sup>, E. García-Planella<sup>j</sup>, J. Panés<sup>k</sup>

<sup>a</sup>H del Mar, Barcelona

<sup>b</sup>H La Princesa, Madrid

<sup>c</sup>H Germans Trias, Badalona

<sup>d</sup>H Reina Sofía, Córdoba

<sup>e</sup>H Clínico, Zaragoza

<sup>f</sup>H La Fe, Valencia

<sup>g</sup>H Cruces, Barakaldo

<sup>h</sup>H General, Alicante

<sup>i</sup>H Mutua, Terrassa

<sup>j</sup>H Sant Pau

<sup>k</sup>H Clínic, Barcelona

**Objetivo:** Analizar la influencia de la agregación familiar sobre el curso de la enfermedad de Crohn (EC) y colitis ulcerosa (CU) en una serie de pacientes incluidos en el Registro ENEIDA.

**Material y método:** Se incluyeron: 6.155 pacientes (2.910 CU y 3.245 EC). Se definió como EII familiar aquellos casos con uno o más familiares de primer grado con EII, el resto de pacientes fueron definidos como esporádicos.

**Resultados:** Se identificó una proporción superior de EII familiar entre los casos con EC (12%) comparados con la CU (8,7%). La edad de diagnóstico fue más precoz entre los casos con EII familiar. Tanto en la EC como en la CU la proporción de pacientes con corticodependencia, necesidad de inmunomoduladores (INM) o anti-TNF fue superior entre los casos con agregación familiar. La necesidad de cirugía fue superior en los casos con EC familiar (Tabla). El análisis de supervivencia demostró que los pacientes con EII familiar tenían un periodo de tiempo menor libre de inmunosupresores, antiTNF (en UC y EC) y de cirugía (en EC) comparados con la EII esporádica. El análisis de regresión logística confirmó que en la EII la agregación familiar tiene un valor predictivo independiente en el debut precoz de la enfermedad, en la necesidad de esteroides, corticodependencia (EC y CU) y necesidad de cirugía (EC).

CU	Familiar	Esporádica	p
Edad diagnóstico (años)	34 ± 13	38,9 ± 15,5	< 0,001
Córticodependencia (%)	27,4	16,8	< 0,0001
Necesidad de INM (%)	37,9	29,8	< 0,01
Necesidad de Anti-TNF (%)	12	7,8	< 0,02
EC			
Edad diagnóstico (años)	28,1 ± 11,7	32,4 ± 14,2	< 0,001
Córticodependencia (%)	42,2	28,7	0,0001
Necesidad de INM (%)	71,2	59,6	< 0,001
Necesidad de Anti-TNF (%)	29,2	22,6	< 0,006
Cirugía (%)	44,5	34,8	< 0,001

**Conclusión:** Los casos con CU y EC familiar tienen un curso más grave y requerimientos terapéuticos significativamente superiores comparados con los casos esporádicos. La agregación familiar en la EII puede ser un indicador de tratamiento precoz.

doi:10.1016/j.gastrohep.2009.01.032