

# Descripción de una nueva mutación germinal en el gen *TP53* en una familia con síndrome de Li-Fraumeni. Asesoramiento clínico a los portadores sanos

Judith Balmaña<sup>a</sup>, Josep Nomdedéu<sup>b</sup>, Orland Díez<sup>c</sup>, Josep Maria Sabaté<sup>d</sup>, Anna Balil<sup>e</sup>, Carles Pericay<sup>a</sup>, Juan José López López<sup>a</sup>, Joan Brunet<sup>a</sup>, Montse Baiget<sup>b</sup> y Carmen Alonso<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Oncología Médica. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Servicio de Hematología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Servicio de Genética. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

<sup>d</sup>Servicio de Radiodiagnóstico. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

<sup>e</sup>Servicio de Oncología Médica. Hospital Arnau de Vilanova. Lleida. España.

**FUNDAMENTO:** El síndrome de Li-Fraumeni (SLF) es un trastorno familiar autosómico dominante con predisposición a la aparición de sarcomas de partes blandas, osteosarcomas, cáncer de mama en mujeres premenopáusicas, leucemia aguda, tumores adrenocorticales y del sistema nervioso central. En más de la mitad de las familias afectadas se identifican mutaciones en línea germinal en el gen *TP53*.

**PACIENTES Y MÉTODO:** Se realizó el análisis de mutaciones del gen *TP53* en línea germinal en 8 familias con agregación de sarcomas infantiles, tumores cerebrales, neoplasia de mama en mujeres premenopáusicas y tumores renales. El estudio genético se realizó mediante la técnica SSCP y secuenciación posterior.

**RESULTADOS:** Siete familias reunían los criterios del síndrome de Li-Fraumeni *like* y una los criterios clínicos clásicos. Se identificó la mutación C238S en el exón 7 del gen *TP53* en línea germinal en la familia con criterios clásicos. Dicha mutación no ha sido descrita previamente.

**CONCLUSIONES:** La heterogeneidad clínica, la complejidad molecular y las implicaciones del asesoramiento genético de las familias con este síndrome hacen necesaria la elaboración de protocolos y su posterior evaluación. Debería plantearse un enfoque multidisciplinario coordinado desde unidades de consejo genético en cáncer familiar.

**Palabras clave:** Li-Fraumeni. Consejo genético. Gen *TP53*.

Description of a new *TP53* gene germline mutation in a family with the Li-Fraumeni syndrome. Genetic counselling to healthy mutation carriers

**BACKGROUND:** Li-Fraumeni syndrome is a dominantly inherited disorder characterized by early-onset breast cancer, soft-tissue sarcomas and osteosarcomas, acute leukemia, adrenocortical neoplasms and central nervous system tumors. Germline mutations in gene *TP53* are identified in a percentage of affected families.

**PATIENTS AND METHOD:** Eight families with aggregation of childhood sarcomas, brain tumors, breast cancers in pre-menopausal women, and renal tumors were screened for *TP53* germ-line mutations. SSCP and posterior direct sequencing were performed for genetic analysis. We also report a previously undescribed family with the Li-Fraumeni syndrome carrying a germline mutation.

**RESULTS:** Seven families fulfilled so-called «Li-Fraumeni like» criteria and one fulfilled classical criteria. A new germ-line mutation in codon 238 at exon 7 of the gene *TP53* was identified in the family fulfilling classical criteria. This mutation has not been previously reported.

**CONCLUSIONS:** The clinical heterogeneity as well as the molecular complexity and consequences of mutation analysis and genetic counseling make it necessary to develop protocols in this area. A multidisciplinary approach is needed; this approach should be coordinated by a Familial Cancer Genetic Counseling Unit.

**Key words:** Li-Fraumeni. Genetic counseling. Gene *TP53*.

Correspondencia: Dra. Judith Balmaña.  
Servicio Oncología Médica. Hospital Sant Pau.  
Sant Antoni M.<sup>a</sup> Claret, 167. 08025 Barcelona.  
Correo electrónico: jbalmana@hsp.santpau.es

Recibido el 21-1-2002; aceptado para su publicación el 13-6-2002.

El síndrome de Li-Fraumeni (SLF) se describió en 1969 a partir de datos clínicos y epidemiológicos de familias con agregación de sarcomas en la infancia y segundas neoplasias en varios miembros de una misma familia<sup>1</sup>. Posteriormente se observó que este síndrome familiar sigue un patrón de herencia autosómica dominante<sup>2</sup> y en 1988 se definieron los criterios clínicos «clásicos» del SLF: un individuo con diagnóstico de sarcoma antes de los 45 años, con un familiar de primer grado afectado de cualquier neoplasia antes de los 45 años, y otro familiar de primer o segundo grado afectado de sarcoma u otra neoplasia a cualquier edad<sup>3</sup>. El espectro de tumores que se incluyen en este síndrome está constituido principalmente por sarcomas de partes blandas y osteosarcomas, cáncer de mama en mujeres premenopáusicas, leucemia aguda, tumores del sistema nervioso central (SNC) y adrenocorticales. Otras neoplasias que también pueden aparecer con frecuencia son melanomas, tumores de células germinales, tumores de Wilms, carcinomas gástricos y pancreáticos y cáncer de pulmón. Estas asociaciones condujeron a la definición de unos criterios menos restrictivos del SLF (SLF-*like*), que incluyen a familias con estos diferentes tipos de neoplasias y edades al diagnóstico más avanzadas<sup>4,5</sup>.

Se ha estimado que aproximadamente un 50-70% de las familias con el SLF clásico tienen mutaciones en el gen *TP53* en línea germinal<sup>6-8</sup>, y que este porcentaje disminuye en las familias seleccionadas con criterios más amplios. La presencia o ausencia de mutaciones germinales en el gen *TP53* en las familias con SLF parece relacionarse con diferencias fenotípicas. La aparición de sarcomas de partes blandas a edades muy tempranas (especialmente rabdomiosarcoma antes de los 4 años), carcinoma adrenocortical en la infancia, cáncer de mama antes de los 40 años y tumores del SNC en niños y adultos jóvenes se asocian al hallazgo de dichas mutaciones<sup>9,10</sup>.

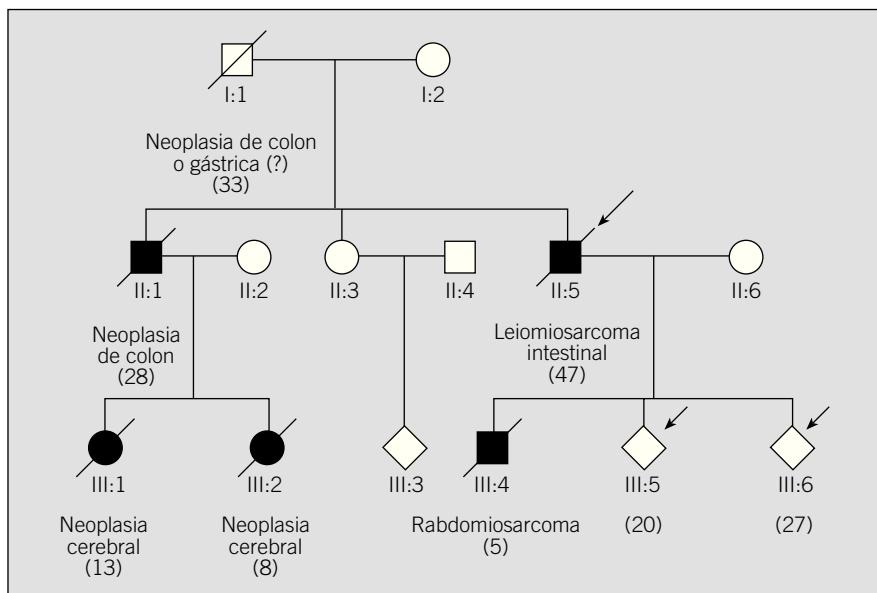


Fig. 1. Árbol genealógico de la familia con el síndrome de Li-Fraumeni y la mutación C238S en el gen TP53. Las flechas señalan a los individuos estudiados. Cuadrado: varón; círculo: mujer; rombo: sexo no especificado; diagonal: fallecido; en negro: afectado; entre paréntesis: edad en el momento del diagnóstico.

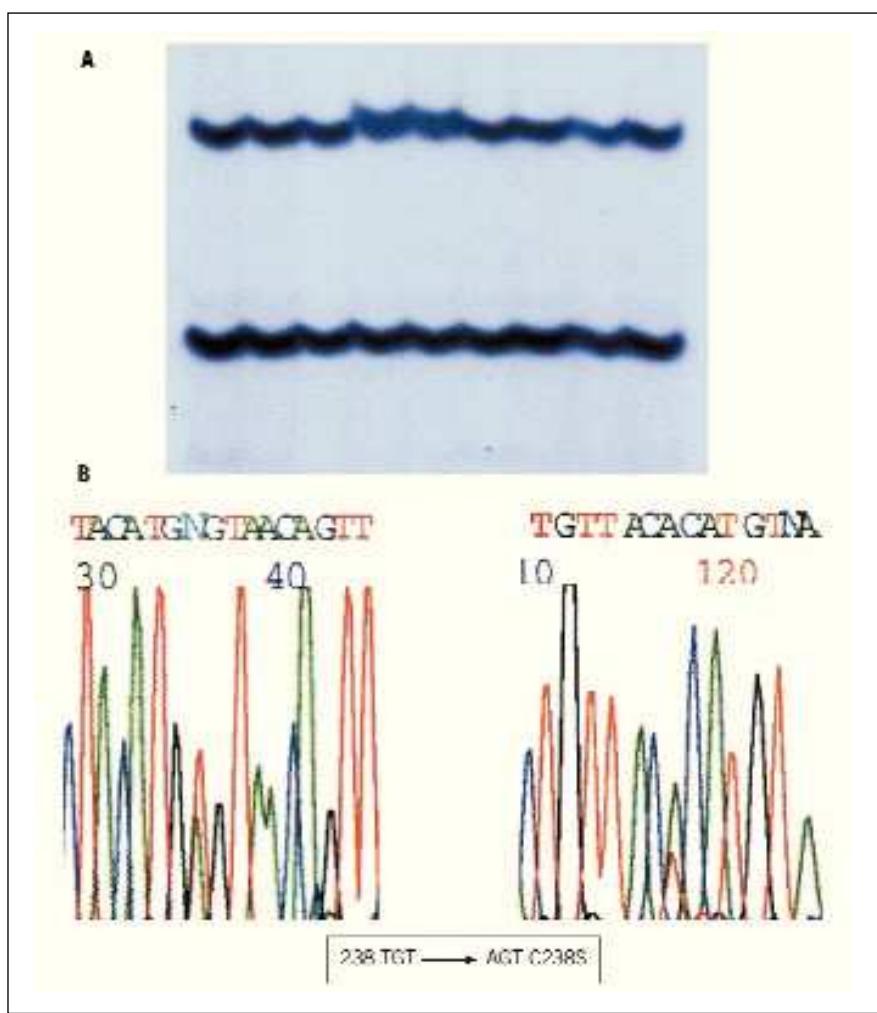


Fig. 2. A: gel de acrilamida que indica una banda adicional en los individuos III:5 y III:6. B: secuencia del gen TP53 que objetiva un cambio TGT → AGT en el codón 238 del exón 7 que condiciona un cambio de aminoácido (Cys → Ser).

El riesgo de desarrollar cáncer en los portadores de estas mutaciones es muy elevado a lo largo de la vida. Se ha estimado un riesgo aproximado de un 20% de desarrollar tumores infantiles, un 50% a la edad de 40 años y un 90% a los 60-70 años<sup>11,12</sup>. Además, el riesgo de desarrollar neoplasias primarias múltiples es muy elevado, especialmente en supervivientes de cánceres infantiles (riesgo relativo [RR] global = 5,3; intervalo de confianza [IC] del 95%, 2,8-7,8)<sup>13</sup>.

## Pacientes y método

En la Unidad de Consejo Genético del Servicio de Oncología Médica del Hospital de la Santa Creu y Sant Pau se atendieron 8 familias con agregación de sarcomas infantiles, tumores cerebrales, carcinomas de mama en mujeres jóvenes y tumores renales. Una de las familias reunía los criterios clásicos del SLF, y 7 los criterios del SLF-like. Después de una entrevista informativa y consejo genético se obtuvo consentimiento para el estudio del gen TP53 en línea germinal. Tras el análisis de los exones 4 al 8 del gen se identificó una mutación en la familia que presentaba el patrón clásico del SLF y ninguna en las familias seleccionadas con criterios laxos.

La familia con el SLF clásico (fig. 1) se componía de 6 miembros afectados de distintas neoplasias: un individuo diagnosticado de neoplasia de tracto digestivo a la edad de 33 años (individuo I:1); otro afectado de neoplasia de colon a los 28 años (individuo II:1); uno afectado de leiomiosarcoma intestinal a los 47 años (individuo II:5); dos afectados de neoplasia cerebral a los 13 y 8 años, respectivamente (individuos III:1 y III:2), y uno afectado de rabdomiosarcoma a los 5 años (individuo III:4). Los diagnósticos se confirmaron mediante informes médicos clínicos de todos los miembros, excepto del individuo I:1.

En esta familia, debido a la ausencia de miembros afectados vivos en el momento del estudio, se realizó el análisis molecular en el ADN de los individuos III:5 y III:6, extraído a partir de linfocitos de sangre periférica. Se detectó el cambio TGT → AGT en el codón 238 del exón 7, que condiciona un cambio de aminoácido (Cys → Ser) (figs. 2 A y B). Aunque dicha mutación había sido descrita con anterioridad como mutación somática en diversos tipos de tumores (base de datos [www.iarc.fr/p53](http://www.iarc.fr/p53))<sup>14</sup>, su identificación en línea germinal en miembros de esta familia supone la primera descripción de la mutación C238S como causante del SLF.

El análisis del ADN del bloque tumoral del individuo II:5 evidenció la presencia en heterozigosis de la misma mutación. Mediante técnicas de inmunohistoquímica se observó una sobreexpresión de la proteína p53 en el 100% de las células neoplásicas.

El protocolo de diagnóstico temprano recomendado a los portadores de la mutación fue la realización de análisis sanguíneo completo anual, mamografía anual a las mujeres a partir de los 25-30 años, y una resonancia magnética (RM) craneal basal ante la historia familiar de neoplasias del SNC. Dado que no existen métodos para el diagnóstico temprano de neoplasias de partes blandas, se recomienda facilitar el acceso a pruebas diagnósticas ante la aparición de síntomas indicativos de sarcoma. El seguimiento clínico de los portadores sanos de esta mutación se realiza de forma consensuada entre la Unidad de Consejo Genético y el médico de referencia de la familia.

## Discusión

La heterogeneidad de las neoplasias que constituyen el síndrome y el amplio intervalo de edad con riesgo incrementado de desarrollar un tumor dificultan considerablemente el establecimiento de un protocolo de cribado y diagnóstico temprano para estas familias y los individuos sanos.

portadores de una mutación. A pesar de que en la actualidad no existen programas de diagnóstico temprano con eficacia demostrada en este síndrome, el conocimiento derivado del estudio genético puede ser beneficioso, especialmente para los individuos sanos portadores jóvenes, ya que se les puede ofrecer un seguimiento médico que permita el diagnóstico temprano de una neoplasia y, por tanto, una mayor probabilidad de curación. Sin embargo, al individuo con riesgo de ser portador de una mutación germinal se le debe ofrecer información suficiente y tiempo para decidir si accede al análisis genético, dado que en muchos casos los resultados obtenidos pueden generar ansiedad y la necesidad de intervención psicológica.

Por otro lado, p53 es una proteína reguladora de la apoptosis celular que controla la progresión del ciclo celular después de irradiaciones<sup>15</sup>. Mutaciones en *TP53* puedan alterar esta función de apoptosis y ser la causa de una radiorresistencia celular y tumoral. Diferentes estudios realizados en fibroblastos con una mutación germinal en *TP53* indican que la presencia de dicha mutación conduce a una acumulación de alteraciones genéticas en la célula, inestabilidad genómica y potencial transformación neoplásica<sup>16,17</sup>. Por tanto, las células de los pacientes con el SLF podrían ser más sensibles a cualquier lesión en el ADN. Este aspecto es relevante en ciertos procedimientos diagnósticos con radiaciones ionizantes, ya que podrían inducir un proceso neoplásico en las células irradiadas. Por esta razón, y a pesar de que no existen estudios concluyentes, es aconsejable evitar un programa de seguimiento que someta al individuo a un exceso de radiaciones ionizantes<sup>18</sup>.

En los protocolos de diagnóstico temprano del cáncer de mama podría valorarse

la sustitución de la mamografía por la RM y la ecografía mamaria, aunque las dosis de radiación que atraviesan la piel al realizar una mamografía sean muy pequeñas. Asimismo, en pacientes con una historia familiar de neoplasia del SNC es recomendable el estudio con RM craneal. En cualquier caso, es necesario individualizar el protocolo de diagnóstico temprano teniendo en cuenta la historia oncológica personal y familiar. La complejidad molecular, la heterogeneidad clínica y las implicaciones del consejo genético de las familias con este síndrome indican la necesidad de recomendaciones o programas protocolizados y su posterior evaluación. El enfoque debe ser multidisciplinario, con participación de profesionales de oncología, biología molecular, radiodiagnóstico, psicología, asistencia primaria, etc., conocedores de las particularidades del cáncer familiar y hereditario y coordinados en unidades de consejo genético en cáncer familiar. La integración de toda la información obtenida permite proporcionar una mejor asistencia clínica, de forma que los portadores de una mutación, ante la aparición de síntomas indicativos de una neoplasia, puedan acceder a un médico informado y someterse a una selección ordenada de pruebas diagnósticas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Li FP, Fraumeni JF. Soft-tissue sarcomas, breast cancer and other neoplasms: a familial syndrome? *Ann Int Med* 1969;71:747-52.
2. Strong LC, Stine M, Norsted TL. Familial cancer. 1<sup>st</sup> International Research Conference (Karger, Basel 1987), p.151; Strong LC. *J Natl Cancer Inst* 1987;79:1213-20.
3. Li FP, Fraumeni JF, Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfuss MG, Tucker MA, et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res* 1988;48:5358-62.
4. Birch JM. Li-Fraumeni syndrome. *Eur J Cancer* 1994;30:1935-41.
5. Eeles RA. Germline mutations in the *TP53* gene. *Cancer Surv* 1995;25:101-23.
6. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF Jr, Nelson CE, Kim DH, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas and other neoplasms. *Science* 1990;250:1233-8.
7. Birch JM, Hartley AL, Tricker KJ, Prosser J, Condie A, Kelsey AM, et al. Prevalence and diversity of constitutional mutations in the *p53* gene among 21 Li-Fraumeni families. *Cancer Research* 1994;54:1298-304.
8. Lynch JM, McGown G, Thorncroft M, Santibáñez-Koref MF, Kelsey AM, Tricker KM, et al. Germline mutations of *TP53* in Li-Fraumeni Families: an extended study of 39 families. *Cancer Res* 1997;57:3245-52.
9. Kleihues P, Schäuble B, Hausen A, Estève J, Ohgaki, H. Tumors associated with p53 germline mutations. A synopsis of 91 families. *Am J Pathol* 1997;150:1-13.
10. Lynch HT, McComb RD, Osborn NK, Wolpert PA, Lynch JF, Wszolek ZK, et al. Predominance of brain tumors in an extended Li-Fraumeni (SBLA) kindred, including a case of Sturge-Weber syndrome. *Cancer* 2000;88:433-9.
11. Lutsbader ED, Williams WR, Bondy ML, Strom S, Strong LC. Segregation analysis of cancer in families of childhood soft tissue sarcoma patients. *Am J Hum Genet* 1992;51:344-56.
12. LeBihan C, Moutou C, Brugières L, Feunteun J, Banati-Pellie C. ARCAD: a method for estimating age-dependent disease risk associated with mutation carrier status from family data. *Genetic Epidemiol* 1995;12:13-25.
13. Hisada M, Garber JE, Fung CY, Fraumeni JF Jr, Li FP. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:606-11.
14. Hernández-Boussard T, Rodríguez-Tome P, Montesano R, Hainaut P. IARC *p53* mutation database: a relational database to compile and analyze *p53* mutations in human tumors and cell lines. *International Agency for Research on Cancer. Hum Mut* 1999;14:1-8.
15. Zeng M, Narayanan L, Xu XS, Prolla TA, Liskay RM, Glazer PM. Ionomizing radiation-induced apoptosis via separate PMS2 and p53 dependent pathways. *Cancer Res* 2000;60:4889-93.
16. Paules RS, Levedakou EN, Wilson SJ, Innes CL, Rhodes N, Tlsty T, et al. Defective G2 checkpoint function in cells from individuals with familial cancer syndromes. *Cancer Res* 1995;55: 1763-73.
17. Liu PK, Kraus E, Wu TA, Strong LC, Tainsky MA. Analysis of genomic instability in Li-Fraumeni fibroblasts with germline p53 mutations. *Oncogene* 1996;12:2267-78.
18. Varley JM, Evans DGR, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome -a molecular and clinical review. *Br J Can* 1997;76:1-14.