

ESTUDIO GENÉTICO DE CÁNCER COLORRECTAL HEREDITARIO NO POLIPÓSICO. SECUENCIACIÓN DE LOS GENES MLH1, MSH2, PMS2 Y MSH6.

DATOS DEL MÉDICO

DATOS MUESTRA

DATOS DEL PACIENTE

Nombre:		Ref Interna:		Nombre:	
1 ^{er} Apellido:		Ref Externa:		1 ^{er} Apellido:	
2 ^o Apellido:		Procedencia:		2 ^o Apellido:	
Cargo:		Ref. Onco:		Fecha de Nacimiento:	
Dirección:		Tipo de Muestra:		Género:	
Nº Colegiado:		Fecha recepción:		H.C:	
Nº Teléfono:		Fecha informe:		Origen étnico:	

RAZÓN PARA LA JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO: El paciente presenta criterios de riesgo.

METODOLOGÍA

El estudio realizado consiste en la secuenciación de todos los exones codificantes y las regiones intrónicas adyacentes a los sitios de splicing del gen MLH1 (Gene ID: 4292), MSH2 (Gene ID: 4436), gen PMS2 (Gene ID: 5395) y MSH6 (GeneID: 2956). Comparación de las secuencias obtenidas con las secuencias de referencia MLH1 RefSeq; NG_007109.2, GI: 382544572, 16-Diciembre-2013, MSH2 RefSeq; NG_007110.2 GI:382544768, 5-Mayo-2014, PMS2 RefSeq; NG_008466.1 GI:198041722, 4-Mayo-2014, MSH6 RefSeq; NG_007111.1, GI:160948586, 9-Mayo-2014. Este estudio se realiza de forma secuencial. Primero se estudia el gen MLH1 y en caso de no encontrar mutaciones causales se procede al estudio sucesivo de los genes MSH2, PMS2 y MSH6.

Limitaciones: La clasificación y la interpretación de todas las variantes identificadas en este análisis reflejan el estado actual de los conocimientos científicos en el momento en que se emitió este informe. En algunos casos, la clasificación y la interpretación de tales variantes pueden cambiar a medida que la nueva información científica esté disponible. Este análisis no detecta posibles deleciones o duplicaciones de los genes MLH1, MSH2, PMS2 y MSH6.

RESUMEN DE LOS RESULTADOS (El resultado de este test es cualitativo y muestra si "Se ha encontrado una variante patogénica descrita" o "No se ha encontrado ninguna variante patogénica descrita").

No se ha encontrado ninguna variante patogénica descrita en los genes MLH1, MSH2, PMS2 y MSH6.

Pruebas realizadas

Secuenciación del gen MLH1
Secuenciación del gen MSH2
Secuenciación del gen PMS2
Secuenciación del gen MSH6

Resultados

Mutaciones no detectadas
Mutaciones no detectadas
Mutaciones no detectadas
Mutaciones no detectadas

Interpretación

Mutaciones no detectadas
Mutaciones no detectadas
Mutaciones no detectadas
Mutaciones no detectadas

DIAGNÓSTICO

El resultado del estudio de las secuencias de los genes MLH1, MSH2, PMS2 Y MSH6 relacionados con cáncer de colon hereditario en la muestra del paciente revelan que

NO EXISTEN MUTACIONES PATOGENICAS CAUSALES EN DICHS GENES.

De acuerdo con estos resultados, el paciente **NO** presenta predisposición genética a cáncer de de colon hereditario como consecuencia de mutaciones en estos genes.

Fecha de informe: 20 de Abril de 2015

Director científico

Director de laboratorio




Descripción de la metodología

Muestra; Muestra de sangre periférica contenida en recipiente vacutainer con EDTA como agente anticoagulante.

Extracción de ADN; la extracción de ADN se realizó empleando el kit DNeasy Blood & Tissue Kit (QiaGen).

Valoración de la calidad y cantidad de ADN extraído; Para el cálculo de la cantidad de ADN extraído se analizó la absorbancia de cada muestra a 260 nm empleando un equipo NanoDrop ND-2000. Se estudió también las relaciones de absorbancias a 260/280 y 260/230 para determinar la calidad del ADN obtenido, usando para ello el mismo aparato. Además la muestra de ADN genómico extraídas se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 0,8% siendo revisadas visualmente en el transiluminador U.V.

Este estudio se realiza de forma secuencial. Primero se estudia el gen MLH1 y en caso de no encontrar mutaciones causales se procede al estudio del gen MSH2 y así sucesivamente con los genes PMS2 y MSH6.

Amplificación de regiones genómicas del gen MLH1; Para la amplificación de los exones codificantes y las secuencias flanqueantes a los sitios de splicing del gen MLH1 se emplearon los cebadores diseñados por *Holinski-Feder et al. 2001 (PMID: 11179758)*. Los fragmentos amplificados, fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,5% y visualizados posteriormente en un transiluminador U.V. Como control negativo de contaminación se realizó una PCR sin ADN.

Amplificación de regiones genómicas del gen MSH2; Para la amplificación de los exones codificantes y las secuencias flanqueantes a los sitios de splicing del gen MSH2 se emplearon los cebadores diseñados por *Holinski-Feder et al. 2001 (PMID: 11179758)*. Los fragmentos amplificados, fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,5% y visualizados posteriormente en un transiluminador U.V. Como control negativo de contaminación se realizó una PCR sin ADN.

Amplificación de regiones genómicas del gen PMS2; Para la amplificación de los exones codificantes y las secuencias flanqueantes a los sitios de splicing del gen PMS2 se emplearon los cebadores diseñados por *Holinski-Feder et al. 2001 (PMID: 11179758)*. Los fragmentos amplificados, fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,5% y visualizados posteriormente en un transiluminador U.V. Como control negativo de contaminación se realizó una PCR sin ADN.

Amplificación de regiones genómicas del gen MSH6; Para la amplificación de los exones codificantes y las secuencias flanqueantes a los sitios de splicing del gen MSH6 se emplearon los cebadores diseñados por *Holinski-Feder et al. 2001 (PMID: 11179758)*. Los fragmentos amplificados, fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,5% y visualizados posteriormente en un transiluminador U.V. Como control negativo de contaminación se realizó una PCR sin ADN.

Reacciones de secuenciación de los productos amplificados; Las reacciones de secuenciación se llevaron a cabo empleando el kit Big Bye® V3.1 Terminador Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Para la purificación de las reacciones se empleó el kit CentriSept (Applied Biosystems). La secuenciación se llevó a cabo en un Analizador genético ABI3130 (Applied Biosystems). Posteriormente, las secuencias se ensamblaron con el software Seqman Ver. 5.00 (DNASTAR Inc.)

Análisis de los resultados de la secuenciación; Las secuencias de los genes MLH1, MSH2, PMS2 y MSH6 fueron revisadas visualmente por dos personas cualificadas de forma independiente. Para el estudio de las variantes genéticas existentes en la muestra se comparó la secuencia obtenida de la muestra con la secuencia de referencia obtenida de la base de datos RefSeq (NCBI) RefSeq; RefSeq; NG_007109.2, GI: 382544572, 16-Diciembre-2013 del gen MSH1, NG_007110.2 GI:382544768, 5-Mayo-2014 para MSH2, RefSeq; NG_008466.1 GI:198041722, 4-Mayo-2014 del gen PMS2, y RefSeq; NG_007111.1, GI:160948586, 9-Mayo-2014 del gen MSH6

Para la comparación de secuencias se empleó el programa Mutation Surveyor (Jayne et al., 2011).

Elaboración del informe: Para la elaboración del informe se han seguido las recomendaciones de la OECD Guidelines for Quality Assurance in Molecular Genetic Testing y las guías de la Swiss Genetics Society.

Características de rendimiento:

Sensibilidad Analítica (proporción de pruebas positivas si el genotipo está presente): aprox. 99%

Especificidad (porcentaje de pruebas negativas si el genotipo no está presente): Aprox. 99%

Limitaciones: Este test no analiza las regiones no codificantes; intrones, regiones reguladoras y algunos exones no codificantes, por lo que las variantes en estas regiones no son detectables. Este análisis no detecta posibles deleciones o duplicaciones de los genes MLH1, MSH2, PMS2 y MSH6.