

## **Restrisico na laboratoriumtesten**

### **Aanbevelingen:**

Omdat met kiembaanmutatie analyse een erfelijke aanleg kan worden vastgesteld dient voorafgaand aan dit onderzoek counseling door een klinisch geneticus plaats te vinden en een zogenaamd 'informed consent' voor genetisch onderzoek van de patiënt te zijn verkregen.

Mutatiescreening dient bij voorkeur te worden verricht bij één of meerdere aangedane personen met een colorectaal carcinoom, dat kenmerken vertoont passend bij Lynch syndroom. Is dit niet mogelijk dan kan in het geval van een overleden patiënt eventueel opgeslagen paraffine materiaal op MMR-gen mutaties worden onderzocht of kunnen, bij voorkeur meerdere, niet-aangedane familieleden worden onderzocht op aanwezigheid van een kiembaanmutatie. Bij de interpretatie van de uitkomsten dient er rekening mee te worden gehouden, dat een persoon de eventuele mutatie in de familie niet heeft geërfd.

Onderzoek naar exon deleties of exon duplicaties *MLH1*, *PMS2*, *MSH2*, *MSH6* en het laatste exon van *EPCAM* dient onderdeel uit te maken van de routinematige DNA-diagnostiek.

Een colorectaal carcinoom met kenmerken van een deficiënt MMR-systeem, die niet wordt verklaard door hypermethylering van de *MLH1* promotor, een kiembaanmutatie in een van de DNA mismatch repair genen of een 3'deletie van *EPCAM*, kan getest worden op inactiverende somatische mutaties. Indien beide allelen alleen in de neoplastische cellen zijn gemuteerd is Lynch syndroom als oorzaak van de MMR-deficiëntie onwaarschijnlijk.

Een patiënt met een carcinoom met kenmerken van een deficiënt MMR-systeem, die niet wordt verklaard door hypermethylering van de *MLH1* promotor of door twee inactiverende somatische mutaties, bij wie geen kiembaanmutatie is gevonden, draagt mogelijk een nog niet detecteerbare kiembaanmutatie en wordt geclassificeerd als vermoedelijk Lynch syndroom (zie hoofdstuk 2 Verwijscriteria voor verwijzing naar de klinisch geneticus).

In families met erfelijke darmkanker kunnen ook patiënten voorkomen die colorectaal carcinoom hebben gekregen zonder de erfelijke aanleg ('sporadisch colorectaal carcinoom'). Daarom verdient het aanbeveling in families zondig carcinomen van meerdere aangedane personen te onderzoeken op kenmerken passend bij Lynch syndroom en bij meerdere aangedane personen mutatiediagnostiek uit te voeren. In families, waarin in de tumoren van de meest verdachte patiënten geen MMR-deficiëntie is aangetoond of de MMR-deficiëntie wordt veroorzaakt door uitsluitend somatische veranderingen, is de diagnose Lynch syndroom onwaarschijnlijk. Deze families zouden daarom ook niet langer als zodanig beschouwd moeten worden. Als er in deze families veel adenomen voorkomen kan eventueel diagnostiek naar AFAP of MAP worden overwogen.

### Literatuurbespreking:

Het restrisico op een kiembaanmutatie na standaard mutatiescreening is afhankelijk van het a priori risico op een mutatie en de sensitiviteit van de mutatiescreening. Het a priori risico op een mutatie in de DNA mismatch repair (MMR-) genen *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* en *PMS2* kan worden bepaald door het onderzoeken van de tumor op eiwitexpressie van deze genen (immunohistochemie) of op microsatelliet instabiliteit (MSI) [Cunningham 2001 [80](#), Hampel 2005a [139](#), Hendriks 2006 [147](#), Pinol 2005 [261](#), Southey 2005 [306](#)]. Het a priori risico op een MMR-genmutatie wordt mede bepaald door de klinische diagnose, waarbij jonge leeftijd een belangrijke risicofactor is.

Wanneer verlies van expressie van *MLH1* is aangetoond, is nader onderzoek naar hypermethylering van de promotor van *MLH1* aangewezen (zie hoofdstuk [Verwijscriteria voor verwijzing naar de klinisch geneticus](#)) Wanneer geen afwijkingen bij immunohistochemie of MSI worden aangetoond is mutatiescreening van *MLH1*, *MSH2* en *PMS2* niet zinvol. Ook voor mutatiescreening van *MSH6* is dan in de routinediagnostiek geen plaats [Kets 2006 [179](#)]. Wel kan overwogen worden andere tumoren in een verdachte familie te testen.

De routinematige kiembaanmutatiescreening omvat analyse van alle coderende exonen inclusief de intron-exon overgangen door middel van DNA-sequencing met een techniek die minimaal de gevoeligheid van Sanger sequencing heeft. Als aanvulling op deze test wordt ook gescreend op exon deleties of exon duplicaties, veelal door middel van MLPA [Gille 2002 [124](#)]. In circa 85% van de gevallen waarin een deficiënt MMR-systeem wordt aangetoond zonder hypermethylering van de *MLH1* promotor of twee somatische MMR-gen mutaties, wordt een pathogene MMR-genmutatie gevonden. Hieruit zou afgeleid kunnen worden dat de sensitiviteit van de routinematige mutatiescreening minimaal circa 85% is. Mutaties die bijvoorbeeld diep in intronen en in promotorsequenties liggen worden met de routinematige mutatiescreening gemist. Een complicatie bij mutatiescreening is dat soms afwijkingen worden gevonden waarvan niet onomstotelijk kan worden vastgesteld of deze pathogeen zijn ('variants of unknown

significance (VUS)'). Het gaat hierbij veelal om DNA-afwijkingen die aminozuursubstituties tot gevolg hebben. In deze gevallen kan geen presymptomatische DNA-diagnostiek in de familie worden verricht.

### Conclusies:

Het is aangetoond dat het restrisico op een kiembaanmutatie in een MMR-gen afhankelijk is van het a priori risico op een mutatie en de sensitiviteit van de mutatiescreening. Het a priori risico op een kiembaanmutatie in één van de MMR-genen is afhankelijk van de leeftijd en kan het beste worden bepaald door onderzoek van de tumor naar aanwijzingen voor een MMR deficiëntie (immunohistochemie van de MMR-eiwitten, microsatelliet instabiliteitsanalyse en/of analyse van hypermethylering van de *MLH1* promoter).

**Niveau 2:** B Cunningham 2001 [80](#), Hampel 2005 [139](#), Piñol 2005 [261](#), Southey 2005 [306](#), Kets 2006 [179](#)

Het is aangetoond dat een substantieel deel van de pathogene mutaties in *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* en *PMS2* wordt gevormd door exon deleties of duplicaties in deze genen en in *EPCAM*.

**Niveau 2:** B Gille 2002 [124](#), Hendriks 2006 [147](#)

De sensitiviteit van standaard kiembaanmutatiescreening van MMR-genen is naar schatting 85%. De werkgroep is van mening dat de consequentie hiervan is dat de diagnose Lynch syndroom door kiembaanmutatiediagnostiek niet kan worden uitgesloten.

**Niveau 4:** D mening werkgroepleden

### Overwegingen:

Kiembaanmutatiescreening wordt bij voorkeur uitgevoerd bij een aangedaan familielid gediagnosticeerd met een colorectaal carcinoom dat afwijkende immunohistochemie van mismatch repair-eiwitten en/of MSI vertoont. Dit is echter in de praktijk niet altijd mogelijk. Onderzoek primair bij niet-aangedane familieleden heeft als nadeel dat de onderzochte persoon de eventuele mutatie niet geërfd hoeft te hebben.

DNA-onderzoek bij meerdere niet-aangedane familieleden is in een dergelijke situatie aangewezen. Per 2014 kan ook in tumor van een overleden patiënt naar mutaties worden gezocht.

Bij de selectie van de indexpatiënt moet tevens rekening gehouden worden met het feit dat ook in families met Lynch syndroom patiënten met een sporadische vorm van colorectaal carcinoom voorkomen (fenokopieën). In het geval de indexpatiënt een carcinoom blijkt te hebben dat geen deficiëntie van het MMR-systeem heeft of een dergelijke deficiëntie heeft in combinatie met hypermethylering van de *MLH1* promoter, kan het afhankelijk van de familie-gegevens van belang zijn nog een andere tumor te testen op een mismatch repairdefect.

Een voorbeeld is gegeven in onderstaand figuur.

### **Figuur 1**