

Analisi di instabilità dei microsatelliti, immunohistochimica e mutazioni germinali dei geni del “mismatch repair” per la diagnosi della sindrome di Muir-Torre in pazienti immunocompromessi

Giovanni Ponti¹, Giovanni Pellacani¹, Roberta Sestini², Greta Gorelli², Aldo Tomasi³

¹Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università di Modena e Reggio Emilia

²Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Clinico “Mario Serio”, Unità di Genetica Medica, Università di Firenze

³Dipartimento di Medicina Diagnostica, Clinica e di Sanità Pubblica, Università di Modena e Reggio Emilia

ABSTRACT

Microsatellite instability, immunohistochemistry and germline mismatch repair gene mutations for the diagnosis of Muir-Torre syndrome in immunosuppressed patients. Although rare sebaceous tumors and keratoacanthomas are clinical criteria for Muir-Torre syndrome (MTS), they can also be found in the context of immunosuppression. We present here two patients who underwent organ transplantation in which immunosuppression unmasked MTS through the early appearance of the cutaneous sebaceous neoplasms. In all of their sebaceous tumors we detected microsatellite instability (MSI) e loss of mutS protein homolog 2 (MSH2) and 6 (MSH6) expression at immunohistochemistry (IHC). Although in the absence of visceral MTS phenotype, we performed the sequencing analysis for mismatch repair genes (MMR) identifying two novel MSH2 and MSH6 germline mutations. The combination of MSI and IHC status can therefore be considered useful for the recognition of MTS, even in case of incomplete MTS phenotype and/or in immunosuppressed patients. It would allow a cost-effective approach to identify individuals who should undergo MMR genes direct sequencing.

INTRODUZIONE

La condizione di immunodepressione nei pazienti in terapia anti-rigetto dopo trapianto d'organo si associa a un aumentato rischio di tumori maligni. In particolare, sono i tumori cutanei non-melanocitari (NMSC) a essere più frequenti in questa popolazione. Recentemente, studi di coorte hanno dimostrato un'incidenza da 50 a 100 volte maggiore del rischio di carcinoma a cellule squamose e un aumento da 5 a 10 volte del rischio di carcinoma a cellule basali tra i trapiantati rispetto alla popolazione generale. Inoltre, è stato dimostrato che il rischio cumulativo di NMSC nei pazienti trapiantati può raggiungere il 40% entro 20 anni dal trapianto. Tra i NMSC è stata evidenziata un'aumentata incidenza delle neoplasie sebacee cutanee, quali adenomi, epitelomi e carcinomi, molto rare nella popolazione generale, ma peculiari dello spettro neoplastico cutaneo della sindrome

di Muir-Torre (MTS) (1-3). In particolare, è noto che le neoplasie sebacee e i cheratoacantomi che si sviluppano nei pazienti in terapia immunosoppressiva e/o con immunodepressione primaria possono presentare instabilità dei microsatelliti (MSI) e un'alterata espressione delle proteine del “mismatch repair” (MMR) all'analisi immunohistochimica (IHC) (1, 4, 5). Queste ultime caratteristiche sono tipiche delle neoplasie dei “setting” eredo-familiari, quali la sindrome del cancro colo-rettale ereditario non associato a poliposi, anche nota come sindrome di Lynch (LS), e/o la sua variante clinica MTS, mentre non si riscontrano solitamente nella controparte di neoplasie cosiddette sporadiche (6).

La MTS è definita clinicamente dalla coesistenza sincrona o metacrona in un medesimo paziente di neoplasie viscerali e neoplasie cutanee sebacee e/o cheratoacantomi (3), e insieme alla sindrome di Turcot (TS), caratterizzata invece dall'insorgenza di neoplasie

Corrispondenza a: Giovanni Ponti, Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università di Modena e Reggio Emilia. Via del Pozzo 71, 41124 Modena. Tel. 0594224748, Fax 0594224271, E-mail giovanni.ponti@unimore.it

Ricevuto: 03.11.2015

Revisionato: 18.12.2015

Accettato: 15.01.2016

Pubblicato on-line: 11.05.2016

DOI: 10.19186/BC_2016.009

cerebrali, può considerarsi la completa espressione fenotipica della LS con la quale condivide la patogenesi molecolare legata a mutazioni a carico dei geni del MMR (6). Dal punto di vista clinico, la diagnosi di LS richiede la presenza dei requisiti clinici minimi definiti dai criteri di Amsterdam I e II (7), ovvero di neoplasie gastrointestinali e/o dello spettro sindromico (neoplasie del distretto genitourinario, endometriali, ovariche) in almeno 3 familiari di cui uno con diagnosi in età <50 anni. Inoltre, i criteri di Bethesda rivisitati hanno introdotto quale criterio biomolecolare diagnostico il riscontro di MSI a carico delle neoplasie dello spettro sindromico (8). Caratteristica di queste neoplasie è la presenza del fenotipo RER+ ("replication errors repeat"), oltre all'alterata espressione immunoistochimica delle proteine codificate dai geni del MMR: entrambi i fenomeni solitamente sono correlati a mutazioni germinali a carico dei geni del MMR, che determinano una diffusa instabilità genomica cellulare che si manifesta particolarmente a livello dei microsatelliti (corte sequenze di DNA, che consistono nella ripetizione variabile di mono-, di- e trinucleotidi dispersi nel genoma umano, che sono molto suscettibili a errori durante la replicazione). In una bassa percentuale (<5%), fattori in parte ancora non noti (ad es., fattori epigenetici, quali la metilazione del promotore di *MLH1*, o meccanismi iatrogeni, quali le terapie immunomodulanti) possono essere responsabili di MSI e alterata espressione IHC delle proteine del MMR anche in neoplasie che insorgono in assenza di mutazioni germinali dei geni del MMR (1, 4).

In questo studio presentiamo le storie cliniche, corredate dell'iter laboratoristico-diagnostico attuato, di due pazienti in cui è stata riscontrata l'insorgenza di numerosi adenomi e carcinomi sebacei dopo aver intrapreso terapia immunosoppressiva con tacrolimus in seguito a trapianto renale.

MATERIALI E METODI

La determinazione dell'instabilità dei microsatelliti è stata condotta su DNA estratto da inclusioni in paraffina di neoplasie sebacee e della corrispondente mucosa normale. Queste sono state deparaffinate con xylene, lavate con etanolo e digerite "overnight" a 5 °C. I campioni sono stati riscaldati a 80 °C per 10 min allo scopo di inattivare la proteinasi K e centrifugati. Dopo purificazione con soluzione satura di NaCl e precipitazione in etanolo assoluto, il sovrantante è stato utilizzato come modello per la reazione di amplificazione. I campioni di DNA, ottenuti dai tessuti neoplastici e dai campioni di controllo sani, sono stati amplificati in un volume di 10 µL contenente 30-50 ng di DNA, 5 ng dei due "primer", 200 µM di ognuno dei 4 nucleotidi trifosfato, 1,5 mM di MgCl₂, 50 mM di KCl, 10 mM di tampone Tris, pH 8,3 e 0,3 unità di Taq polimerasi.

Lo status MSI è stato determinato utilizzando i 5 marcatori microsatelliti previsti dal panel di Bethesda (BAT25, BAT26, D2S123, D5S346 e D17S250). Le reazioni di polimerizzazione a catena (PCR) sono state effettuate con programmi di amplificazione differenti per le ripetizioni mononucleotidiche e dinucleotidiche. I

frammenti amplificati sono stati analizzati su gel di acrilammide e visualizzati con il metodo "silver staining". Le lesioni sono state ritenute MSI+ quando l'instabilità era individuata in almeno due dei 5 loci microsatellitari (9).

La determinazione IHC ha riguardato l'analisi di espressione delle proteine "mutL homolog 1" (*MLH1*), "mutS homolog 2" (*MSH2*) e 6 (*MSH6*) su campioni di tessuto neoplastico cutaneo incluso in paraffina ed è stata realizzata utilizzando il "NEX-ES automatic staining system" (Ventana). Gli anticorpi anti-*MSH6* (Transduction Labs, BD Biosciences) sono stati utilizzati alla diluizione di 1:2,000, gli anti-*MLH1* (Pharmingen) alla diluizione di 1:40 e gli anticorpi anti-*MSH2* (Pharmingen) alla diluizione di 1:40. I nuclei cellulari sono stati evidenziati con ematossilina e il tessuto normale contiguo al campione neoplastico veniva utilizzato quale controllo positivo (9).

L'analisi della regione codificante e delle giunzioni introne/esone dei geni *MSH2* e *MSH6* è stata condotta mediante sequenziamento diretto del DNA estratto da leucociti da sangue periferico dei probandi e dei familiari degli stessi. Le sequenze esoniche e le giunzioni introne/esone dei geni *MSH2* e *MSH6* sono state amplificate in volume di 30 µL (contenente 50 ng di DNA). I campioni sono stati amplificati per 35 cicli in presenza di dNTP mix (concentrazione finale di 200 µM per ciascun nucleotide), tampone PCR contenente 1,5 mM MgCl₂ (Qiagen), 1 pmol/µL di ciascun "primer" e 2,5 unità di HotStar Taq plus DNA polimerasi (Qiagen). Le sequenze e le temperature di "annealing" dei "primer" utilizzati per l'amplificazione delle regioni codificanti dei geni *MSH2* e *MSH6* sono riportate nelle Tabelle 1 e 2.

I prodotti di PCR sono stati purificati mediante Qiagen PCR purification kit e successivamente marcati in un volume finale di 20 µL. In particolare, a 2-4 µL di prodotto di PCR purificato è stato aggiunto 1 µL di ciascun "primer" per reazione, 3,5 µL di "terminator ready reaction mix" contenente "big dye terminators" (Applied Biosystems) e 1 µL di "big dye" (Applied Biosystems). È stata successivamente effettuata una purificazione per eliminare i "big dye terminators" non incorporati tramite il kit DyeEx 2.0 Spin (Qiagen) e infine 5 µL di prodotto sono stati miscelati con 10 µL di formammide e sottoposti ad analisi di sequenza su sequenziatore capillare ABI PRISM 310 (Applied Biosystems).

RISULTATI

Nel maggio 2000 a un paziente di 36 anni viene diagnosticato e asportato un adenoma del colon destro. Successivamente, nel gennaio 2013, all'età di 49 anni, in seguito a un'insufficienza renale grave causata da una glomerulonefrite, il paziente è sottoposto a un trapianto renale e intraprende una terapia immunosoppressiva con tacrolimus e prednisone. A un anno dal trapianto, il paziente sviluppa un carcinoma basocellulare del naso e un cheratoacantoma della guancia sinistra asportati chirurgicamente. All'età di 51 anni sono diagnosticati e asportati chirurgicamente 4 adenomi sebacei localizzati

Tabella 1

Sequenze e temperature di "annealing" dei "primer" utilizzati per l'amplificazione delle regioni codificanti del gene MSH2

Esone	Sequenza	Temperatura
1F	5'-GAGGCGGGAAACAGCTTAGC-3'	57 °C
1R	5'-CACTGGAGAGGCTGCTCAC-3'	
2F	5'-GAAGTCCAGCTAATACAGTGC-3'	55 °C
2R	5'-CTTCACATTTTTATTTTCTACTC-3'	
3NNF	5'-TTTTAAAGTATGTTCAAGAGTTTGT-3'	53 °C
3NNR	5'-CATGTCAATTAAGAGCCTTTCC-3'	
4FN	5'-CTTTTCTTATTCCTTTTCTCATAGT-3'	54 °C
4RN	5'-CAGAAATATCCTTCTAAAAAGTCAC-3'	
5NF	5'-CAGAATTTATTTTCATTTTGCATTTG-3'	53 °C
5R	5'-TTTTTAACCATTC AACATTTTAACC-3'	
6F	5'-AATGAGCTTGCCATTCTTTCT-3'	57 °C
6RN	5'-TGGTATAATCATGTGGGTAAGTGC-3'	
7FN	5'-GCTTTTTAAATGGAATTTGAGC-3'	55 °C
7RN	5'-GGACAGCACATTGCCAAGTA-3'	
8F	5'-TCAGTCAAAATTTATGATTTGTAT-3'	53 °C
8RN	5'-TCTTAAAGTGGCCTTTGCTTTT-3'	
9FN	5'-TGTCTTTACCCATTATTATAGGATTT-3'	55 °C
9RN	5'-TAATTCTGGCATCAATTTTGTCTA-	
10F	5'-TGAAAATGGTAGTAGGTATTTAT-3'	55 °C
10RN	5'-CACATCATGTTAGAGCATTAGGG-3'	
11FN	5'-TGTTTACAGTAGTACACATTGCTT-3'	59 °C
11RN	5'-GCCAGGTGACATTCAGAACA-3'	
12FN	5'-GGGTTTTGAATTCCCAAATG-3'	53 °C
12RN	5'-ACAAAACGTTACCCCCACAA-3'	
13FN	5'-AGAAGTTTAAAATCTTGCTTTCTGA-3'	54 °C
13RN	5'-CAGAGACATACATTTCTATCTTCAA-3'	
14FN	5'-TGGCATATCCTTCCCAATGT-3'	53 °C
14RN	5'-TTTCCCATTACCAAGTTCTGA-3'	
15FN	5'-TTCTCATGCTGTCCCCTCAC-3'	57 °C
15R	5'-AAAACTTCATCTTAGTGTCTCTG-3'	
16F	5'-GAAATGAAACAATTTGTCACTGTCT-3'	57 °C
16R	5'-GCTTATCAATATTACCTTCATTCCA-3'	

Tabella 2

Sequenze e temperature di "annealing" dei "primer" utilizzati per l'amplificazione delle regioni codificanti del gene MSH6

Esone	Sequenza	Temperatura
1F	5'-AGATGCGGTGCTTTTAGGAG-3'	59 °C
1R	5'-TCATTCAAGCCAACTCTGCG-3'	
2F	5'-TGCCAGAAGACTTGGAATTGT-3'	54 °C
2R	5'-AAACACACACACATGGCAGT-3'	
3F	5'-CACCCGGCCCTTATTGTTTA-3'	58 °C
3R	5'-AACAACTGAATGCTTGCCGT-3'	
4.1F	5'-CAGTGGCTGCACGGGTAC-3'	59 °C
4.1R	5'-TTGCTTGTGGTGGCTGAG-3'	
4.2F	5'-TGGCTCTTAAAAGGAAAAGCT-3'	58 °C
4.2R	5'-AGGGAATCTGAATAACGGCCA-3'	
4.3F	5'-TGAAGTGGGGCTGGTATTCA-3'	58 °C
4.3R	5'-GTGTGCCACTAGAGTCTAAA-3'	
4.4F	5'-GTCAGTTTTAGATGATCGCCA-3'	58 °C
4.4R	5'-GCACCATTGTTGATAGGCT-3'	
4.5F	5'-TTCCCTTGATTCTGACACAG-3'	58 °C
4.5R	5'-ACTTTGAATCCTTCCAGAGCAG-3'	
4.6F	5'-GAGTCAGAACCACCCAGACA-3'	58 °C
4.6R	5'-GCAAATTGCGAGTGGTAAA-3'	
4.7F	5'-CAGAATTGGCTGTAGGACCA-3'	57 °C
4.7R	5'-AGGGATAATATACAGCTGGCAA-3'	
5F	5'-GGGGAGATCGTTGGACTGTA-3'	58 °C
5R	5'-ACTGTGTTGGAAAATGATCACC-3'	
6F	5'-ACAGAACCAACGTACATGTGA-3'	58 °C
6R	5'-ACTGAATGAGAACCTAAGTGGGA-3'	
7F	5'-GCCCCGGCCAATAATTGCATA-3'	59 °C
7R	5'-ACTATCGGTCTGTGCCACAA-3'	
8F	5'-TGTAACGACGGCCAGT-3'	59 °C
8R	5'-CTGGCTGGGGTCTTACATT-3'	
9F	5'-TGCGCCTAGGACATATGGTA-3'	58 °C
9R	5'-TGCATCATCCCTTCCCCTTT-3'	
10F	5'-AGAAACAGTAAAAGGGGAAGGG-3'	57 °C
10R	5'-ACAGCCTGAAAGTGTATGCA-3'	

al volto e uno al tronco.

L'analisi biomolecolare condotta sui campioni di tessuto neoplastico di tutte le suddette neoplasie sebacee ha evidenziato instabilità nei loci analizzati (MSI+) in almeno 3 dei 5 marcatori microsatelliti studiati. L'IHC degli adenomi sebacei ha evidenziato una mancata espressione delle proteine MSH2 e MSH6 e normale espressione della proteina MLH1. L'esame genetico eseguito sul DNA costituzionale del probando ha identificato la presenza di una variante di sequenza in eterozigosi nell'esone 7 del gene MSH2 a livello codone 406 (c.1216C>T; p.Arg406*). Tale alterazione determina

la formazione di un codone di stop prematuro ed era identificata anche nei due figli del probando (di 28 e 31 anni, rispettivamente). La ricostruzione della storia familiare e dell'anamnesi patologica remota ha evidenziato un carcinoma del colon insorto all'età di 65 anni in una sorella e di neoplasie endometriali insorte rispettivamente all'età di 54 e 50 anni in un'altra sorella e in una nipote. Nessuno dei familiari di primo e secondo grado ha avuto diagnosi di tumori sebacei e/o cheratoacantomi.

Al secondo paziente è stata diagnosticata all'età 21 anni una sindrome di Berger. All'età di 45 anni è stato

sottoposto a un trapianto renale per una grave insufficienza renale. Da allora il paziente ha intrapreso una terapia immunosoppressiva con ciclosporina A, che ha seguito fino al 2012, quando ha iniziato una nuova terapia con prednisone e tacrolimus. Dopo il trapianto, all'età di 58 anni ha sviluppato un adenoma sebaceo della palpebra inferiore sinistra poi asportato chirurgicamente. All'età di 64 anni gli sono stati diagnosticati e asportati chirurgicamente due adenomi sebacei localizzati al volto. L'IHC dei due adenomi sebacei ha evidenziato mancata espressione delle proteine MSH2 e MSH6 e normale espressione della proteina MLH1. Il successivo esame genetico eseguito su DNA estratto da leucociti da sangue periferico ha rivelato la presenza di una mutazione germinale nel gene *MSH6* localizzata a livello del codone 782 (c.2345T>C; p.Leu728Pro). La variante riscontrata determina la sostituzione dell'amminoacido leucina codificato dal codone 782 con l'amminoacido prolina; l'analisi in silico di tale sostituzione non ha chiarito la reale patogenicità della sostituzione, che allo stato attuale delle conoscenze è da ritenersi di significato patogenetico incerto [classe 3 secondo Plon et al. (10)].

L'anamnesi patologica familiare ha evidenziato diagnosi di neoplasie uterine benigne (fibromi) e carcinoma del colon a carico di due sorelle del probando e un cancro del colon è stato diagnosticato a uno zio materno. In nessuno dei familiari di primo e secondo grado è stata posta diagnosi di tumori cutanei sebacei e/o cheratoacantomi.

DISCUSSIONE

Nonostante la diagnosi clinica di MTS richieda la coesistenza sincrona e/o metacrona del fenotipo neoplastico viscerale e cutaneo in un medesimo paziente, il rilievo di una chiara predisposizione allo sviluppo di molteplici neoplasie sebacee, autorizza il sospetto clinico di MTS e, secondo il nostro punto di vista, l'adozione di procedure di sorveglianza clinico-strumentali per il potenziale rischio associato di neoplasie viscerali e l'esecuzione dell'analisi MSI e IHC delle suddette rare neoplasie quale strumento di valutazione dello status di espressione delle proteine del MMR (9, 11).

In alcuni pazienti, tra cui quelli descritti nel nostro lavoro, la terapia immunomodulante può slatentizzare il fenotipo MTS legato a una mutazione germinale dei geni del MMR, anticipando l'epoca di comparsa dello spettro neoplastico cutaneo e svelando una suscettibilità genetica eredo-familiare (5). In una percentuale inferiore di casi, la genesi del solo fenotipo cutaneo indotto dall'immunodepressione non si associa a mutazioni germinali dei geni del MMR e quindi all'aumentato "lifetime risk" per neoplasie viscerali (1). Tuttavia, in quest'ultimo contesto, non risulta chiaro quali meccanismi determinano la comparsa di MSI e la mancata espressione delle proteine del MMR nelle neoplasie sebacee in pazienti negativi alla ricerca mutazionale. Sono stati ipotizzati differenti possibili

meccanismi inerenti fattori epigenetici, quali la metilazione, l'azione virale e l'azione iatrogena sulla selezione di cellule con fenotipo "mutatore" (12). Circa quest'ultima ipotesi, per l'azatioprina è stato supposto che contribuisca alla selezione di cellule caratterizzate da anomalie dei geni del MMR e quindi di un fenotipo "mutatore" predisponente allo sviluppo della cancerogenesi cutanea (4). Nel caso della ciclosporina e del tacrolimus ("calcineurin inhibitors") è stato ipotizzato un effetto cancerogenetico per la stimolazione del rilascio di "transforming growth factor" (TGF)- β , dell'interleuchina-6 (IL-6) e del "vascular endothelial growth factor" (VEGF). Relativamente all'impatto dei differenti farmaci immunomodulatori nel favorire la suscettibilità allo sviluppo di neoplasie sebacee, vi sono evidenze di una riduzione/scomparsa dell'aumentata suscettibilità alla cancerogenesi cutanea in seguito all'avvicendamento terapeutico del sirolimus dopo tacrolimus, ma a tale proposito, e in generale al fine di comprendere il fenomeno della cancerogenesi sebacea in condizioni di immunodeficienza, necessitano ampi studi prospettici mirati alla caratterizzazione epidemiologica, biomolecolare (MSI) e IHC dei tumori sebacei diagnosticati in tali contesti.

Dal punto di vista clinico, proponiamo un approccio metodologico alternativo per l'identificazione di LS, che parte dallo studio delle neoplasie cutanee sebacee. Infatti, i casi "sospetti" di MTS includono sia i pazienti con diagnosi di neoplasie sebacee e/o cheratoacantomi in assenza di neoplasie viscerali, che i soggetti che sviluppano tali neoplasie in condizioni di immunodepressione. In entrambe i contesti le analisi MSI e IHC potranno essere di ausilio nel decidere se procedere con l'esame di sequenza diretta dei geni. In particolare, nel contesto dell'immunodepressione è importante indagare a fondo la storia patologica familiare e, dopo aver escluso la possibilità di una verosimile fenocopia, considerare la possibilità che l'immunodepressione slatentizzi un difetto genetico costituzionale dei geni del MMR, evidenziabile dall'esame di sequenziamento genico.

Dal punto di vista dell'inquadramento diagnostico, i due casi di MTS presentati ci permettono di evidenziare che l'approccio laboratoristico seguito con l'analisi contestuale MSI e IHC delle neoplasie sebacee quale valutazione preliminare risulta valido ai fini della conferma del sospetto clinico di MTS in casi in cui non è chiara l'anamnesi patologica personale e familiare e/o non vi è evidenza di neoplasie viscerali a carico del probando. In tali casi la mancata espressione in IHC della specifica proteina del MMR sarà verificata con l'analisi di sequenza diretta del gene potenzialmente coinvolto, che potrà consentire la diagnosi molecolare di MTS.

E' noto che vi è un'altissima concordanza tra lo status MSI+ e l'alterata espressione delle proteine del MMR all'IHC e che nella pratica laboratoristica si assiste all'adozione di differenti combinazioni sequenziali di questi due approcci di studio preliminare da parte dei diversi laboratori, che privilegiano l'una o l'altra metodologia a seconda delle proprie possibilità, attitudini

e/o delle specifiche applicazioni nell'ambito di programmi di screening o diagnostici. Così come è nota la maggiore specificità dell'IHC nell'individuare il particolare gene del MMR potenzialmente coinvolto. Infatti, la mancata espressione in IHC della specifica proteina del MMR sarà verificata con l'analisi di sequenza diretta del gene corrispondente, che potrà consentire di porre la diagnosi molecolare di MTS e di attuare tempestive strategie di sorveglianza clinico-strumentale per il probando e di screening per i familiari di primo e secondo grado.

I criteri di Bethesda rivisitati utilizzati per la diagnosi di LS e delle sue varianti cliniche includono la determinazione dello status MSI a carico delle neoplasie viscerali, ma non tengono conto della valutazione IHC delle proteine codificate dai geni del MMR a carico dei tumori sebacei. Nonostante il potenziale "bias" relativo alla possibile falsa positività all'analisi MSI e IHC dei tumori insorti in "setting" di immunodepressione, riteniamo che l'analisi mediante IHC delle neoplasie sebacee dello spettro neoplastico sindromico debba essere inclusa tra i criteri diagnostici della LS e delle sue varianti MTS e TS e adottata in particolare quale approccio di screening volto all'individuazione di nuovi casi di LS/MTS proprio a partire dalla diagnosi consecutiva di tutte neoplasie cutanee sebacee.

In conclusione, sebbene in pazienti trapiantati e immunodepressi l'insorgenza di cancerogenesi cutanea sebacea sia frequentemente giustificata quale conseguenza dello status di immunocompromissione, l'approccio di studio laboratoristico summenzionato può consentire di confutare e/o confermare l'ipotesi della presenza di sottese mutazioni costituzionali dei geni del MMR. La ricerca di queste mutazioni, mediante analisi MSI e IHC preliminare e successiva sequenza diretta dei geni del MMR, eventualmente estesa agli altri membri della famiglia, potrà consentire di attuare tempestive ed efficaci strategie clinico-strumentali di sorveglianza non solo per il probando, ma anche per i familiari di primo e secondo grado, in quanto potenzialmente affetti dalla stessa mutazione genetica costituzionale.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Harwood CA, McGregor JM, Swale VJ, et al. High frequency and diversity of cutaneous appendageal tumors in organ transplant recipients. *J Am Acad Dermatol* 2003;48:401-8.
2. Janjua TA, Citardi MJ, Sasaki CT. Sebaceous gland carcinoma: report of a case and review of literature. *Am J Otolaryngol* 1997;18:51-4.
3. Schwartze RA, Torre DP. The Muir-Torre syndrome: a 25 years retrospect. *J Am Acad Dermatol* 1995;33:90-104.
4. Harwood CA, Swale VJ, Bataille VA, et al. An association between sebaceous carcinoma and microsatellite instability in immunosuppressed organ transplant recipients. *J Invest Dermatol* 2001;116:246-53.
5. Landis MN, Davis CL, Bellus GA, et al. Immunosuppression and sebaceous tumors: a confirmed diagnosis of Muir-Torre Syndrome unmasked by immunosuppressive therapy. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:1054-8.
6. Peltomaki P, Lothe RA, Aaltonen LA, et al. Microsatellite instability is associated with tumors that characterize the hereditary non-polyposis colorectal carcinoma syndrome. *Cancer Res* 1993;53:5853-5.
7. Vasen HFA, Watson P, Mecklin JP, et al. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999;116:1453-6.
8. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004;18;96:261-8.
9. Ponti G, Losi L, Di Gregorio C, et al. Identification of Muir-Torre syndrome among patients with sebaceous tumors and keratoacanthomas: role of clinical features, microsatellite instability, and immunohistochemistry. *Cancer* 2005;103:1018-25.
10. Plon SE, Eccles DM, Easton D, et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat* 2008;29:1282-91.
11. Ponti G, Losi L, Pedroni M, et al. Value of MLH1 and MSH2 mutations in the appearance of Muir-Torre syndrome phenotype in HNPCC patients presenting sebaceous gland tumors or keratoacanthomas. *J Invest Dermatol* 2006;126:2302-7.
12. Stockl FA, Dolmetsch AM, Codère F, et al. Sebaceous carcinoma of the eyelid in an immunocompromised patient with Muir-Torre syndrome. *Can J Ophthalmol* 1995;30:324-6.