

APLICACIONES DIAGNÓSTICAS DEL FISH EN PATOLOGÍA

FISH EN PATOLOGIA DE MAMA

Dr. JM^a Corominas. Hospital del Mar-UAB. Barcelona

La introducción en los Servicios de Patología de la técnica de hibridación in situ fluorescente (FISH), como una nueva estrategia de ayuda al diagnóstico va produciendo paulatinamente. El resultado de la técnica de FISH, de manera aislada tiene poco valor diagnóstico, su gran utilidad está en la suma e integración de sus resultados a los otros métodos diagnósticos (morfología, inmunohistoquímica, técnicas moleculares, citogenética, etc.) La técnica de FISH ha sido desarrollada y utilizada principalmente por los citogenetistas como ayuda al estudio del cariotipo y es la base de las nuevas técnicas de (Sky, multibanding, HGC, etc). La utilización de la técnica de FISH se ha usado principalmente en la patología hematológica y es quizás en la patología mamaria, con la determinación de la amplificación del gen ERBB2 en el cáncer de mama en donde la técnica de FISH ha sido utilizada por primera vez en muchos de nuestros laboratorios, la aparición de nuevas sondas para nuevas aplicaciones abre grandes expectativas de utilización de dicha técnica en el laboratorio de Patología.

En estos momentos la utilización de la técnica de FISH en patología mamaria, se centra en el estudio del estado del proto-oncogén ERBB2, como factor predictivo de respuesta al tratamiento con Trastuzumab (Herceptin[®]). Una de las alteraciones genéticas más frecuentes asociadas al cáncer de mama es la amplificación del proto-oncogén ERBB2 (25-30 %) (1,2), localizado en el cromosoma 17 (q12-21), causando la sobreexpresión de la glicoproteína de transmembrana ERBB2 (185 Kd) con actividad tirosin-kinasa. La sobreexpresión de la proteína ERBB2 se ha correlacionado con un peor pronóstico, resistencia a ciertos tratamientos, pero como hemos indicado principalmente por su carácter predictivo al tratamiento con Trastuzumab.

La demostración de la sobreexpresión de la proteína ERBB2 se realiza mediante técnica de inmunohistoquímica, mientras que el estudio de la amplificación del gen ERBB2 puede realizarse con técnicas moleculares aunque lo más habitual y sencillo es la técnica de FISH. En los casos de cáncer de mama, a pesar de que se puede realizar solamente la técnica de FISH, normalmente se seleccionan antes los mismos mediante el estudio por inmunohistoquímica del estado de sobreexpresión de la proteína, dicha técnica debe realizarse con un método validado y con controles positivos y negativos adecuados. En nuestra experiencia en los tumores primarios de mama, sólo realizamos el estudio por FISH de los casos con score 2+ (expresión total de la membrana con intensidad débil) y para confirmación de los casos con score 3+, no practicando la técnica de FISH en los casos negativos 0 y 1+(expresión incompleta de la membrana). En

los casos de pacientes con cáncer de mama metastásico, realizamos estudio de FISH en los casos con score 1+, 2+ y 3+.

En nuestras series estudiadas (3,4), no hemos observado amplificación del gen ERBB2 en los casos de score 0 y 1+ demostrando amplificación en un 15,3 % de los score 2+ y en el 98,5 % de los 3+. La utilización en la técnica de FISH con dos sondas (locus específica y centromérica 17) permite obtener no sólo información del estado del gen si no también del estado de la ploidia, así en nuestra serie hemos hallado un importante número de polisomias del cromosoma 17 (13 %), en los casos que mediante inmunohistoquímica corresponden a un score 2+ (59 %)y que por lo tanto podrían justificar dicha expresión a pesar de no existir una amplificación génica, mientras que en el score 3+ observamos un 41 % de polisomias que en un 88,8 % están asociadas a amplificación del gen ERBB2.

Otra de las aplicaciones de la técnica de FISH en cáncer de mama es el estudio del gen de la topoisomerasa II α (TOPO II α) con valor predictivo a la respuesta con antraciclinas (5). La amplificación del gen ERBB2 se ha asociado a resistencia al tratamiento con CMF i Tamoxifeno y normalmente a una mejor respuesta a las antraciclinas. En la actualidad se sabe que esta respuesta esta relacionada con la amplificación o delección del gen de la topoisomerasa II α localizado en el cromosoma 17q12 y en continuidad con el gen ERBB2, observándose en un 90 % de los casos de amplificación del gen ERBB2 amplificación del gen TOPO II α , no hallándose por el momento amplificación del gen TOPO II α , sin amplificación del gen ERBB2. En un trabajo nuestro en 45 casos estudiados hemos demostrado un 28,8 % de amplificación del gen ERBB2 y de ellos en un 76,9 % amplificación del gen de la TOPO II α , un 15,4 % de los casos con delección y un 7,7 % de casos con normalidad, no hallando ningún caso de alteración del gen de la TOPO II α , cuando el gen ERBB2 no estaba amplificado. La utilización en este caso de tres sondas (dos locus específicas y la cromocéntrica del 17) permite no diagnosticar amplificaciones en casos de monosomías (6)

La técnica de FISH permite el estudio de expresiones génicas, de alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas en tejido incluido en parafina, lo que lo hace una método fácil y sencillo de utilizar en trabajos de investigación básica y traslacional. En este campo nuestro grupo tiene experiencia en el estudio mediante técnicas de FISH de la expresión del oncogén c-MYC en la progresión de cáncer de mama estudiando parénquima normal, alteraciones hiperplásicas, carcinoma intraductal y ductal infiltrante en un mismo paciente, mediante la aplicación de microarray de tejido. Los resultados preliminares muestran que el el tejido normal y en la hiperplasia no existe amplificación de c-MYC, hallando un 33 % de polisomias del cromosoma 8 en los casos de carcinoma intraductal e infiltrante y un 13 % de amplificación del gen c-MYC sólo en el carcinoma de carácter infiltrante. Otra sonda estudiada a sido el amplicon 20q en donde se hallan los genes AIB1 y ZNF217, encontrado un

progresivo aumento de señal de amplificación desde el tejido normal al carcinoma invasivo (en prensa).

Dada la sencillez, reproductibilidad técnica, bajo coste y el poder utilizar material incluido en parafina hace de la técnica de FISH, una metodología fácil de realizar y de introducir en nuestros laboratorios, tanto desde el punto de vista diagnóstico como en el campo de la investigación. La obtención y comercialización de nuevas sondas de utilidad diagnóstica, pronóstica y predictiva está abriendo un gran futuro en la utilización de la técnica de FISH en el laboratorio de Patología.

Bibliografía

- 1.- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullirich A, McGuire WL
Human breast cancer: correlation of relapse and survival with ampification of the ERBB2 oncogene.
Science 1987; 235: 177-181
- 2.- Slamon Dj, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE
Studies of the ERBB2 proto-oncogene in human breast and ovarian cancer.
Science 1989; 244: 707-712
- 3.- Salido M, Solé F, Tusquets I, Corominas JM, Espinet B, Baró T, Fabregat X, Serrano S.
A comparative study of HER2/neu amplification and overexpression using fluorescence in situ hibridizatio (FISH) and immunohistochemistry (IHQ) in 101 breast cancer patients.
Rev Oncol 2002;4:255-259
- 4.- Salido M, Tusquets I, Corominas JM, Suarez M, Espinet B, Corzo C, Bellet M, Fabregat X, Serrano S, Solé F.
Polysomy of chromosome 17 in breast cancer tumors showing an overexpression of ERBB2:a study of 175 cases using fluorescence in situ hydridization and immunohistochemistry.
Breast Cancer Res 2005;7: 267-273.
- 5.- Coon JS, Marcus E, Gupta-Burt S, Seelig S, Jacobson K, Chen S, Renta V, Froda G, Preisler HD.
Amplification and overexpresion of topoisomerase IIalpha predict response to anthracycline-based therapy.
Clin Cancer Res 2002; 61 :73-82
- 6.- Corzo C, Tusquets I, Corominas JM, Suarez M, Salido M, Fabregat X, Serrano S, Solé F.
Intratumoral heterogeneity of HER2/neu and topoisomerase II in breast cancer: a case with clonal monosomy 17.
Cancer Genetics and Cytogenetics 2004; 154: 89-90.

: