



VII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica y I Congreso de Preparaciones Virtuales por Internet

Del 1 al 31 de octubre de 2005



ESTUDIO DE LA REGIÓN CROMOSÓMICA 3p21 EN TUMORES NEUROBLÁSTICOS: ANÁLISIS DE PÉRDIDA DE HETEROCIGOSIDAD (LOH) Y/O INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES (MSI)

Paula Lazcoz*, Manuel Nistal**, Ignacio Encio*, Javier S. Castresana***

* Universidad Pública de Navarra ESPAÑA

** Hospital La Paz ESPAÑA

*** Universidad de Navarra ESPAÑA

Resumen

Introducción

Los tumores neuroblásticos son los tumores sólidos extracraneales más frecuentes durante la infancia. Dentro de estos tumores se distinguen los ganglioneuromas, ganglioneuroblastomas y neuroblastomas, siendo estos últimos los más malignos. Las alteraciones genéticas más frecuentes en estos tumores son la amplificación de MYCN y las deleciones de 1p, 11q y 14q.

La región cromosómica 3p21 abarca distintos genes entre los que se encuentran RASSF1A y BLU, dos genes supresores de tumores que aparecen alterados en diversas neoplasias. La alteración más frecuentemente observada en estos genes es la hipermetilación de su promotor, la cual podría estar asociada a la pérdida de heterocigosidad (LOH) y/o la inestabilidad de microsatélites (MSI). Se ha descrito LOH en esta región en tumores de pulmón, colon, estómago, nasofaringe y neuroblastomas, entre otros.

Material y métodos

- Se dispuso de DNA genómico extraído de 21 neuroblastomas así como de sangre periférica de cada paciente (control negativo de lesión genética)

- Se realizó la técnica de PCR sobre DNA tumoral y DNA proveniente de sangre periférica de cada paciente para determinar la frecuencia de LOH y/o MSI en 3p21 mediante la amplificación de los siguientes microsatélites: D3S3507, D3S3522, D3S3615 y D3S3624.

Resultados

Aunque se partió de un total de 21 pares sangre/tumor tan sólo fueron analizables de 13 a 16 dependiendo del microsatélite estudiado. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla.

Alteracion	D3S3507	D3S3522	D3S3615	D3S3624
LOH	1/16 (6%)	0/13	2/14 (14%)	0/14
MSI	1/16 (6%)	2/13 (15%)	2/14 (14%)	3/14 (21%)
LOH+MSI	2/16 (12%)	2/13 (15%)	4/14 (28%)	3/14 (21%)

Conclusiones

La LOH y/o la MSI en la región cromosómica 3p21 parecen ser un tipo de alteración poco frecuente en los tumores neuroblásticos aunque podrían estar implicadas en la génesis de un pequeño porcentaje de los mismos.

Introduccion

Los tumores neuroblásticos son los tumores sólidos extracraneales más frecuentes durante la infancia. Dentro de estos tumores se distinguen los ganglioneuromas, ganglioneuroblastomas y neuroblastomas, siendo estos últimos los más malignos. Las alteraciones

genéticas más frecuentes en estos tumores son la amplificación de MYCN y las deleciones de 1p, 11q y 14q, algunas de las cuales, como la amplificación de MYCN, son factores de mal pronóstico (1-7).

La región cromosómica 3p21 abarca distintos genes entre los que se encuentran RASSF1A y BLU, dos genes supresores de tumores que aparecen alterados en diversas neoplasias. La alteración más frecuentemente observada en estos genes es la hipermetilación de su promotor, la cual podría estar asociada a la pérdida de heterocigosidad (LOH) y/o la inestabilidad de microsatélites (MSI). Se ha descrito LOH en esta región en tumores de pulmón, colon, estómago, nasofaringe y neuroblastomas, entre otros (8-13).

Material y Métodos

- Se dispuso de DNA genómico extraído de 21 neuroblastomas así como de sangre periférica de cada paciente (control negativo de lesión genética)
- Se realizó la técnica de PCR sobre DNA tumoral y DNA proveniente de sangre periférica de cada paciente para determinar la frecuencia de LOH y/o MSI en 3p21 mediante la amplificación de los siguientes microsatélites: D3S3507, D3S3522, D3S3615 y D3S3624.

Resultados

Aunque se partió de un total de 21 pares sangre/tumor tan sólo fueron analizables de 13 a 16 dependiendo del microsatélite estudiado. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla.

Alteracion	D3S3507	D3S3522	D3S3615	D3S3624
LOH	1/16 (6%)	0/13	2/14 (14%)	0/14
MSI	1/16 (6%)	2/13 (15%)	2/14 (14%)	3/14 (21%)
LOH+MSI	2/16 (12%)	2/13 (15%)	4/14 (28%)	3/14 (21%)

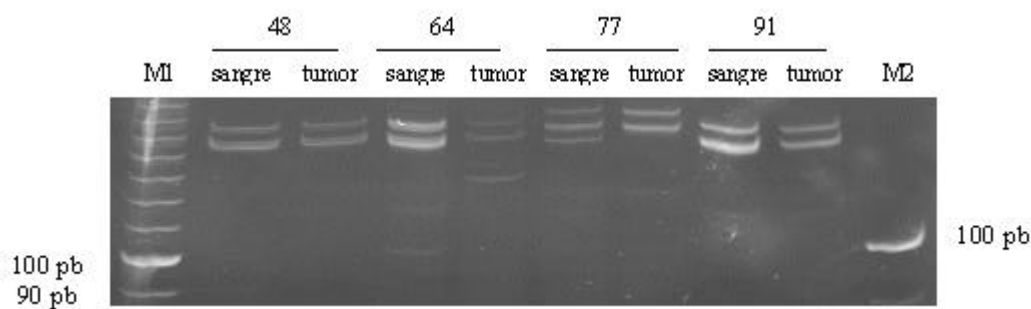


Figura 1. Pérdida de heterocigosidad e inestabilidad de microsatélites a nivel del microsatélite D3S3522 en tumores neuroblásticos. Gel de acrilamida (19:1) al 15% teñido con bromuro de etidio (0,5 µg/ml). La muestra número 64 mostró inestabilidad de microsatélites, mientras que la número 77 presentaba pérdida de heterocigosidad. Se utilizaron dos marcadores de peso molecular: M1 (10bp DNA Ladder, Invitrogen) y M2 (1Kb Plus DNA Ladder, Invitrogen) para determinar el tamaño de las bandas.

Conclusiones

La LOH y/o la MSI en la región cromosómica 3p21 parecen ser un tipo de alteración poco frecuente en los tumores neuroblásticos aunque podrían estar implicadas en la génesis de un pequeño porcentaje de los mismos.

Bibliografía

1. Jaime Mora, William L. Gerald, Jing Qin and Nai-Kong V. Cheung. "Molecular Genetics of Neuroblastoma and the Implications for Clinical Management: A Review of the MSKCC Experience". *The Oncologist* 6: 263-268, 2001.
2. Shimada H, Ambros IM, Dehner LP, Hata J, Joshi VV and Roald B. "Terminology and morphologic criteria of neuroblastic tumors: recommendations by the Internacional Neuroblastoma Pathology Committee". *Cancer* 86(2): 349-363, 1999.
3. Francisco López-Lara Martín, Carmen González San Segundo, Juan Antonio Santos Miranda y Álvaro Sanz Rubiales. "Manual de Oncología Clínica", 1999.
4. Jay L. Grosfeld. "Risk-based Management of Solid Tumors in Children". *The American Journal of Surgery* 180: 322-327, 2000.
5. Frank Westermann and Manfred Schwab. "Genetic parameters of neuroblastomas". *Cancer Letters* 184: 127-147, 2002.
6. N Bown. "Neuroblastoma tumour genetics: clinical and biological aspects". *Journal of Clinical Pathology* 54: 897-910, 2001.
7. Thorner PS and Squire JA. "Molecular genetics in the diagnosis and prognosis of solid pediatric tumors". *Pediatr Dev Pathol* 1: 337-365, 1998.
8. Marsit CJ, Hasegawa M, Hirao T, et al. Loss of heterozygosity of chromosome 3p21 is associated with mutant TP53 and better patient survival in non-small-cell lung cancer. *Cancer Res* 2004; 64:8702-7.
9. Sakamoto N, Terai T, Ajioka Y, et al. Frequent hypermethylation of RASSF1A in early flat-type colorectal tumors. *Oncogene* 2004; 23:8900-7.
10. Pizzi S, Azzoni C, Bassi D, Bottarelli L, Milione M, Bordi C. Genetic alterations in poorly differentiated endocrine carcinomas of the gastrointestinal tract. *Cancer* 2003; 98:1273-82.
11. Xiong W, Zeng ZY, Xia JH, et al. A susceptibility locus at chromosome 3p21 linked to familial nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res* 2004; 64:1972-4.
12. Chen QR, Bilke S, Wei JS, et al. cDNA array-CGH profiling identifies genomic alterations specific to stage and MYCN-amplification in neuroblastoma. *BMC Genomics* 2004; 5:70.
13. Tonini GP, Romani M. Genetic and epigenetic alterations in neuroblastoma. *Cancer Lett* 2003; 197:69-73.