

O-039

**DISECCIÓN MOLECULAR A NIVEL DEL CROMOSOMA 10Q (GENES PTEN Y DMBT1) EN ASTROCITOMAS Y TUMORES NEUROECTODÉRMICOS PRIMITIVOS (PNETS) DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

Sáez-Castresana, X Fan, J Muñoz, MM Inda, J Mercapide, A Rincón, M Navarro, T Tuñón, JM Martínez-Peñuela, JJ Burgos, JM Rivera  
Departamento de Genética, Universidad de Navarra, Pamplona. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de Navarra, Pamplona.  
Departamento de Anatomía Patológica, Hospital de Cruces, Baracaldo.

**INTRODUCCION:** La pérdida de heterocigosidad (LOH) en el cromosoma 10 es la lesión genética más frecuente en glioblastomas (GBMs), presentándose en un 80% de los casos. La mayor parte de los glioblastomas han perdido una copia entera del cromosoma 10, o bien muestran deleciones a nivel de 10q23-24 y 10q25-qter. Dos genes de particular interés de este cromosoma son PTEN en 10q23.3, y DMBT1 en 10q25.3-q26.1.

**MATERIAL Y METODOS:** El DNA sometido a estudio fue extraído de un total de 92 tumores cerebrales: 50 astrocitomas primarios, correspondiendo éstos a 22 glioblastomas (grado IV), 12 astrocitomas anaplásicos (grado III), y 16 astrocitomas de bajo grado (grado II); y 42 PNETs, de los cuales, 11 eran supratentoriales, y 31 infratentoriales (meduloblastomas). La tecnología utilizada fue PCR-SSCP y secuenciación para estudio de mutaciones de PTEN, y PCR diferencial para estudio de deleciones homocigóticas de PTEN y DMBT1.

**RESULTADOS:** - Astrocitomas: Sólo se detectaron alteraciones de PTEN en los GBMs, en concreto 5 mutaciones en un total de 22 GBMs (23%), así como 3 deleciones homocigóticas entre los 22 GBMs (14%). Se detectaron deleciones homocigóticas de DMBT1 en 1 de 14 GBMs (7%), y 2 de 12 astrocitomas de grado II (16%). El estudio de deleciones en DMBT1 se hizo extensible a 20 líneas celulares de tumores del sistema nervioso (9 astrocitomas, 7 meduloblastomas/PNET, 3 neuroblastomas, y un neuroglioma) de las cuales 3 mostraron deleciones de DMBT1: un astro-oligodendroglioma, un neuroglioma y un neuroblastoma. - PNETs: Se detectaron deleciones de PTEN en 6 (19%) meduloblastomas y en ningún PNET supratentorial, así como deleciones de DMBT1 en 2 (6%) meduloblastomas y otros 2 (18%) PNETs supratentoriales.

**CONCLUSIONES:** Astrocitomas: PTEN mostró alteraciones exclusivamente en los GBMs, siendo la alteración más frecuente (23%). DMBT1 mostró deleciones más frecuentemente en astrocitomas grado II. La mutación en PTEN parece ser un evento posterior a la deleción en DMBT1. PNETs: parece que las deleciones de PTEN se asocian más frecuentemente a la génesis de meduloblastomas, mientras que las deleciones de DMBT1 se asocian al desarrollo de PNETs supratentoriales.

O-040

**PRIONOPATÍAS FAMILIARES POR LA MUTACIÓN D178N EN EL GEN PRNP. ESTUDIO NEUROPATOLÓGICO DE CINCO CASOS.**

B. Alarés, JJ. Zarranz \*, A. Digón \*\*, A. Ibáñez, L. Galdós, I. Fdz. Manchola, V. Moreno, I. Guerra, G. Bautista, N. Saracibar \*\* y I. Ferrer \*\*\*

Hospital de Txagorritxu (Vitoria), \*Hospital de Cruces (Baracaldo, Vizcaya), \*\*Hospital Santiago Apóstol (Vitoria), \*\*\*Hospital de Bellvitge (Hospital de Llobregat, Barcelona)

**INTRODUCCION:** En 1993 el Departamento de Sanidad y Consumo del Gobierno Vasco puso en marcha un Registro de Enfermedades por Priones, siguiendo las directrices de la Comunidad Europea. Entre los años 1993 y 2000 se declararon 28 casos, de los cuales 10 fueron familiares, realizándose la autopsia a cinco de ellos en el Hospital de Txagorritxu.

**MATERIAL Y METODOS:** Se ha realizado la autopsia y el estudio neuropatológico de cinco casos (pertenecientes a cuatro familias) todos ellos portadores de la mutación Asp-Asp en el codón 178 del gen PRNP. Los pacientes, en el momento del fallecimiento, presentaban edades comprendidas entre los 44 y 63 años y mostraron sintomatología de comienzo variable: alteraciones psicológicas, incontinencia, ataxia, alteraciones visuales o deterioro cognitivo. La autopsia se limitó al estudio de la cavidad craneal y se realizó siguiendo las Recomendaciones Internacionales para Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. El encéfalo se fijó durante un mes en formol. Se obtuvieron fragmentos representativos de corteza a diferentes niveles, núcleos estriados de la base, núcleos del tálamo, tronco-encéfalo y cerebelo, introduciéndose durante una hora en ácido fórmico antes de su inclusión en parafina. Se utilizó la tinción de hematoxilina-eosina en las secciones de todos los bloques, y en algunos de ellos tinción con PAS, Luxol-Fast Blue e inmunohistoquímica para Proteína Glial Fibrilar Ácida, proteína Tau, Beta A4 amiloide y proteína PrP.

**RESULTADOS:** En cuatro casos los hallazgos neuropatológicos fueron diagnósticos de Insomnio Fatal Familiar: degeneración selectiva de los núcleos talámicos mediales y anteriores, y núcleo olivar inferior, uno de ellos con depósito PrP en la capa molecular del cerebelo. El otro caso mostraba microespongiosis y gliosis en la corteza, núcleos estriados y cerebelo, con depósito PrP en la capa molecular del cerebelo y fue diagnosticado de Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

**CONCLUSIONES:** En la mayoría de los registros, la proporción de casos familiares sobre el total de pacientes con enfermedades por priones oscila entre el 5 y el 15%. Por el contrario en el nuestro (1993-2000) la proporción de los casos familiares es de 10 a 28 (35,7%). En el Registro de Enfermedades por Priones del País Vasco resulta extraordinario, no tanto el incremento global en la detección de enfermedades por priones (1,91/1.000.000), como la alta proporción de casos familiares.

O-041

**ESTUDIO DE ALTERACIONES CROMOSÓMICAS EN CARCINOMAS EPIDERMÓIDES DE LARINGE Y FARINGE MEDIANTE HIBRIDACIÓN IN SITU****FLUORESCENTE (FISH). CORRELACION CON EL PERFIL CINÉTICO POR CITOMETRÍA DE FLUJO Y CON VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS.**

D. Hardisson<sup>1</sup>, A. Salas-Bustamante<sup>2</sup>, M. Alonso-Guervos<sup>2</sup>, N. Sastre<sup>3</sup>, C. Alvarez Marcos<sup>4</sup>, A. Sampedro<sup>2,5</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Universitario La Paz, Madrid, <sup>2</sup>Servicio de Citometría, Universidad de Oviedo, <sup>3</sup>Unidad de Investigación (Sección de Bioestadística), Hospital Universitario La Paz, Madrid, <sup>4</sup>Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Valle del Nalon, Langreo (Asturias), <sup>5</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Central de Asturias, Oviedo.

**OBJETIVOS:** Estudiar las anomalías cromosómicas detectadas por hibridación in situ fluorescente (FISH) de interfase en una serie de carcinomas epidermoides laríngeo-faríngeos y correlacionar estos datos con el perfil cinético de los tumores por citometría de flujo (CF) y con variables clínico-patológicas.

**MATERIAL Y METODOS:** Se estudiaron muestras procedentes de tejido fresco de 50 carcinomas epidermoides de cabeza y cuello, localizados en laringe (n=28) y faringe (orofaringe, n=11; hipofaringe, n=11) mediante FISH con sondas centroméricas para los cromosomas 8, 9, 11 y 17. Los tumores se analizaron por CF para determinar ploidía del ADN, índice de ADN (ADN), fracción de fase S (FFS) e índice de proliferación (IP) tumoral. Se analizó la correlación entre las variables citogenéticas, de CF y clínico-patológicas.

**RESULTADOS:** Predominaron los tumores polisómicos (64,5%) frente a los disómicos. Los casos con monosomía fueron raros (2-8%). En el 20,5% de los tumores se observó ganancia de alguno de los cromosomas estudiados; no existió pérdida cromosómica en ningún caso. En el estudio de CF, el 54% de los tumores fueron ADN-aneuploides y el 26% ADN-diploides. La media del IADN fue de 1,51 y la de la FFS fue de 17,60 en los casos aneuploides y de 9,37 en los diploides (p=0,000). Se observó una diferencia significativa en la media del IP al comparar tumores aneuploides y diploides (p=0,012). En todos los casos, las anomalías numéricas cromosómicas detectadas por FISH fueron más frecuentes en los tumores aneuploides por CF, con correlación entre anomalía citogenética y aneuploidía del ADN tumoral a partir de 3 cromosomas con alteraciones numéricas (p=0,005). No se encontraron diferencias al estudiar las variables citogenéticas respecto a los parámetros clínico-patológicos. En cuanto a la evolución, se demostró que independientemente de la localización, los tumores tenían un riesgo significativamente superior de recidivar y/o metastatizar si presentaban aneuploidía del cromosoma 8 o polisomía del cromosoma 9.

**CONCLUSIONES:** La mayoría de los carcinomas epidermoides de laringe y faringe presentan anomalías cromosómicas que pueden ser detectadas con un panel de cuatro sondas centroméricas mediante FISH de interfase. Se observa una gran concordancia entre el contenido de ADN estimado por CF y la magnitud de la aberración cromosómica. La utilización simultánea de la CF y de la FISH de interfase contribuye a la mejor caracterización del perfil genético-molecular de estos tumores.

O-042

**DETECCIÓN POR PCR DE SECUENCIAS DE M. TUBERCULOSIS COMO AYUDA AL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE GRANULOMAS HALLADOS DE MANERA CASUAL.**

E. de Alava, E. Soría, M.D. Lozano, J. Leiva, R. Ríos, J. Pardo.

Clinica Universitaria de Navarra. Pamplona.

**INTRODUCCION.** La incidencia de tuberculosis (TBC) se ha elevado en nuestro medio en los últimos 5 años. A veces supone un hallazgo microscópico casual. Senescenitan entre 2 y 6 semanas para cultivar micobacterias, y la sensibilidad de la tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) es baja, mientras que existen protocolos para la detección de genomas de micobacterias mediante PCR. El objetivo de este estudio es comprobar la especificidad de la PCR para el diagnóstico de la enfermedad, especialmente a la hora de identificar micobacterias en lesiones granulomatosas halladas de manera casual.

**MATERIAL Y METODOS.** El estudio consta de 56 pacientes. Todos ellos mostraron inflamación granulomatosa con o sin demostración de bacilos ácidoalcoholresistentes.

Se extrajo DNA de material fijado en formol e incluido en parafina o a partir de extensiones citológicas, y se amplificó la secuencia de inserción IS6110, presente en los bacilos del complejo M. tuberculosis, mediante los cebadores adecuados. Los resultados se compararon con los de los cultivos para M. tuberculosis, que se realizaron en 24 casos, y los de la tinción de ZN.

**RESULTADOS.** Se realizó el diagnóstico de TBC en 32 pacientes. En 7 de ellos fue un hallazgo casual en resecciones quirúrgicas, generalmente en linfadenectomías que acompañaban la resección de carcinomas. En los otros 24 casos sin TBC, que incluían 5 casos de sarcoidosis, se encontraron granulomas de manera casual en 6 casos. La PCR para IS6110 mostró amplificación específica en 26 pacientes con TBC (81%); de ellos, 6 casos mostraron bacilos mediante la técnica de ZN y en 4 los cultivos fueron positivos. En 18 pacientes con TBC la PCR fue la única prueba que dio resultados positivos; trece de ellos recibieron tratamiento tuberculostático, en todos los casos con buena respuesta. En los 7 casos en los que TBC fue un hallazgo casual la tinción de ZN fue negativa y la PCR mostró secuencias de M. tuberculosis; 5 de ellos fueron tratados con tuberculostáticos con buena respuesta de la enfermedad. La PCR fue positiva en uno de los 5 casos de sarcoidosis. La sensibilidad de la PCR fue del 92% y su sensibilidad del 81%.

**CONCLUSIONES.** La PCR para la secuencia IS6110 es útil para confirmar la sospecha de TBC especialmente en los casos en que ésta se presenta de modo casual, los cultivos y la tinción de ZN son negativos, y sólo se dispone de material incluido en parafina o de extensiones citológicas.