O-017

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA DETERMINACIÓN DE Her-2/neu POR INMUNOHISTOQUÍMICA E HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE (FISH) EN EL CARCINOMA DE MAMA.

E. Tejerina, D. Hardisson, I. Esteban, F.J. Álvarez Ferreira, A. Suárez.
Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Universitario La Paz, Madrid.

INTRODUCCION: El estudio de Her-2/neu tiene valor pronóstico y terapéutico en el cáncer de mama ya que en la actualidad esta proteína se utiliza como diana en el tratamiento con anticuerpos monoclonales (Trastuzumab) en casos de enfermedad metastásica. La determinación del estado de Her-2/neu es importante para discriminar el grupo de pacientes susceptible de recibir esta terapia. OBJETIVO: Comparar la eficacia de la inmunohistoquímica (IHQ) y la hibridación in situ fluorescente (FISH) en la detección de las alteraciones de Her-2/neu en el carcinoma de mama.

MATERIAL Y METODOS : Se estudió la expresión de Her-2/neu en 262 carcinomas primarios de mama mediante IHQ (HercepTestTM, Dako) y FISH (INFORMTM, Oncor). En los casos valorados como 3+ por IHQ se consideró que existía sobreexpresión de Her-2/neu y no se realizó confirmación por FISH. En los casos valorados como 0 se consideró que no había sobreexpresión de Her-2/neu y tampoco se realizo estudio por FISH. Los casos valorados como 1+ (negativo) y 2+ (débilmente positivo) se consideraron no concluyentes y fueron analizados por FISH.

RESULTADOS: El 18,70% de los tumores (49 casos) fueron positivos para Her-2/neu por IHQ y/o FISH. De los casos positivos, el 73,47% (36 tumores) fueron valorados como 3+ por IHQ. El 80% de los 15 casos valorados como 2+ presentó amplificación de Her-2/neu por FISH, mientras que 3 casos (20%) fueron negativos. Tres de los 47 tumores (6,38%) valorados como negativos (1+) por IHQ demostraron amplificación de Her-2/neu por FISH. Se observó positividad para Her-2/neu en el 49% de los carcinomas ductales G3, en el 26,5% de los G2 y en el 4% de los G1. Sólo un caso de los 18 carcinomas lobulillares de nuestra serie (5,5%) demostró sobreexpresión de Her-2/neu (3+ por IHQ). El 50% de los carcinomas con diferenciación apocrina (5 de 10 casos) y el 37,5% de los tumores con patrón de infiltración micropapilar (3 de 8 casos) presentaron sobreexpresión/amplificación de Her-2/neu.

CONCLUSIONES: La valoración de la expresión de Her-2/neu por IHQ fue correcta en la mayoría de los casos por lo que este método debe considerarse válido como primera aproximación a la determinación de Her-2/neu. Los tumores 2+ representan un grupo heterogéneo de valoración no concluyente por IHQ. El uso combinado de IHQ y FISH es aconsejable para optimizar la valoración del Her-2/neu en el cáncer de mama.

O-018

ANALISIS CITOGENETICO DE CARCINOMAS DE MAMA INCLUIDOS EN PARAFINA. ASOCIACION ENTRE ALTERACIONES CROMOSOMICAS Y ALGUNOS MARCADORES PRONOSTICOS CONOCIDOS. ESTUDIO DE 70 CASOS

I.Zudaire*, M.D.Odero*, M.C.Caballero**, C.Valentí**, J.M.Martínez-Peñuela**, M.J.Calasanz*
*Departamento de Genética, Universidad de Navarra, Pamplona, Navarra y **Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de Navarra,
Pamplona, Navarra

Planteamiento del trabajo: El objetivo de este estudio ha sido la caracterización de las alteraciones cromosómicas presentes en una serie de 70 carcinomas de mama de tipo ductal invasivo. Con el fin de identificar nuevos marcadores genéticos con un posible valor pronóstico se ha estudiado la asociación entre los marcadores citogenéticos y la supervivencia e incidencia de recidivas de las pacientes, así como la asociación con determinados factores anatomopatológicos.

MATERIAL Y METODOS : La técnica utilizada para el análisis ha sido la Hibridación Genómica Comparada (CGH), complementada con la Hibridación in situ con Fluorescencia (FISH) para el estudio de distintos genes localizados en 17q12-q21 (ERBB-2, Topoisomerasa IIalfa, Ligasa III, etc). Se utilizó como material el tejido incluido en parafina; el DNA obtenido a partir de bloques de parafina es habitualmente de muy mala calidad. Fue necesario modificar el protocolo tradicional de estas técnicas para adecuarlo a la calidad del material.

RESULTADOS: Se obtuvieron resultados en 57 de las 70 muestras seleccionadas (81,4%). Las ganancias detectadas con mayor frecuencia afectaron a 8q, 17q, 1q, 20q, 11q y 6q y las pérdidas más frecuentes fueron en 16q, Xp y Xq, 13q, 11q y 8. A pesar de trabajar con material parafinado, los resultados obtenidos fueron muy similares a los publicados en series previas sobre material congelado. Las pérdidas en 16q fueron más frecuentes en tumores sin infiltración ganglionar, positivos para la expresión de receptores de estrógenos y que manifestaban sobreexpresión de Bcl-2. Las ganancias en 1q y 11q13 se asociaron a una mayor incidencia de recidivas de las pacientes. Son de gran interés clínico las asociaciones descritas entre las ganancias en 17q y 20q y una mayor incidencia de recidivas en pacientes sin infiltración ganglionar. Se estudió mediante FISH la amplificación del oncogen ERBB-2. Esta técnica citogenética confirmó los resultados obtenidos mediante IHQ en los niveles 0/3 y 3/3 de sobreexpresión de la proteína. Además el 75% de los tumores con niveles 1/3 y 2/3 de sobreexpresión no mostraron amplificación del oncogen.

CONCLUSIONES: Aunque son necesarios estudios en series mayores, los resultados obtenidos confirman la conveniencia de considerar la determinación citogenética de las alteraciones presentes en el tumor como un posible factor pronóstico que colabore en el conocimiento de la evolución clínica del tumor.

O-019

VALORACION INMUNOHISTOQUIMICA DEL ErbB-2: ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD INTEROBSERVADORES Y CORRELACION CON LA TECNICA DE HIBRIDACION IN SITU CON FLUORESCENCIA(FISH)

E.Zozaya*, I.Zudaire**, M.C.Caballero*, I.Amat*, C.Valentí***, R.Vera****, J.M.Martínez-Peñuela*
Servicios de Anatomía Patológica del Hospital de Navarra (Pamplona-Navarra)* y Hospital "Nuestra Señora la Antigua"
(Zumárraga-Guipúzcoa)*** . Departamento de Genética de la Universidad de Navarra(Pamplona-Navarra)**. Servicio de Oncología
del Hospital de Navarra (Pamplona-Navarra)****

Planteamiento Entre los últimos avances en tratamiento del carcinoma de mama se encuentran los anticuerpos monoclonales anti ErbB-2 (Herceptin), indicados en pacientes con amplificación de este gen y muy especialmente con enfermedad metastásica. El método habitual para valorar la amplificación de ErbB-2 en nuestros laboratorios es la inmunohistoquímica, sistema condicionado por la interpretación del patólogo que lo realiza. Por este motivo se tiende actualmente a determinar la amplificación de ErbB-2 mediante pruebas de biología molecular, como la FISH. Nuestro propósito es valorar la variabilidad entre distintos observadores a la hora de estudiar la inmunohistoquímica para ErbB-2 y comprobar si existe correlación con la técnica de FISH, a la que consideramos como “gold standard”

MATERIAL Y METODOS Se estudian bloques de parafina de 75 casos de carcinoma de mama, intervenidos en el Hospital de Navarra entre 1984 y 1995. En cada caso se realiza inmunohistoquímica para ErbB-2 (anticuerpo Novocastra NCL-CB11), con controles positivo y negativo, y un corte sin teñir para realizar FISH. La inmunohistoquímica es valorada por cinco observadores distintos, de forma independiente, y el FISH es evaluado por dos observadores diferentes a los anteriores. Las diferencias encontradas en los resultados inmunohistoquímicos entre los cinco observadores fueron evaluadas mediante el coeficiente de correlación Tau-b de Kendall. El estudio de concordancia entre la técnica de inmunohistoquímica y la FISH se llevó a cabo mediante el test de MacNemar.

RESULTADOS Considerando los 69 casos analizados hasta el momento, la concordancia entre los cinco observadores en el análisis inmunohistoquímico ha resultado muy significativa ($p<0,01$). Los coeficientes de correlación de Tau-b Kendall oscilaron entre 0,48 y 0,73. 14 de las muestras han sido analizadas mediante FISH. No se detectaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre las dos técnicas cuando se consideró negativos los casos con sobreexpresión 1/3. Considerando como positivos los casos 1/3, las diferencias entre las dos técnicas fueron significativas.

CONCLUSIONES Dado el carácter semicuantitativo del análisis inmunohistoquímico de la sobreexpresión de ErbB-2, resulta de gran importancia la utilización de una técnica cuantitativa de referencia como la FISH. Los resultados preliminares presentados muestran que es necesario confirmar mediante FISH los resultados IHQ en los casos de sobreexpresión dudosa de ErbB-2(1/3).

O-020

RELACION ENTRE PERDIDA DE HETEROCIGOSIDAD EN EL CROMOSOMA 18q21 (DCC) Y EL TAMAÑO TUMORAL EN EL CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE DE MAMA.

MD Lozano, I Sola, E. Soria, G. Toledo, FJ Pardo
.Departamento de Anatomía Patológica. Clínica Universitaria. Pamplona. Navarra.

INTRODUCCION: La pérdida de heterocigosidad (LOH) se ha establecido como un marcador de gen supresor tumoral a nivel de numerosos locus y en un amplio número de tumores. El gen DCC (18q21) aparece preferentemente deleccionado en tumores colorrectales, aunque se ha relacionado con otros tumores. El objetivo de este trabajo es estudiar la relación entre DCC y carcinoma de mama. Para ello hemos estudiado la incidencia de LOH en una serie de carcinoma ductal infiltrante de mama y su relación con otros datos clínico patológicos.

MATERIAL Y METODOS : Hemos analizado 60 pares de muestras correspondientes a tejido normal y tejido tumoral (carcinoma ductal infiltrante de mama) a nivel de cinco diferentes microsatélites localizados todos ellos en el cromosoma 18q21 (DCC). Hemos realizado PCR seguida de una electroforesis en un gel de polacrilamida/urea y posterior detección con métodos de quimioluminiscencia. Todos los casos fueron cuantificados mediante un análisis densitométrico. El porcentaje de LOH se analizó y se comparó con otros factores tales como tamaño tumoral, estadio tumoral, metástasis linfáticas y resultados de estudio inmunohistoquímico con estrógenos, progesterona, ki-67 y Cerb-B2.

RESULTADOS: 36 de 59 casos informativos (61%) mostraron LOH para al menos 1 de los 5 marcadores de microsatélites estudiados, 19 de ellos con LOH para más de uno de los locus estudiados (32.2%). Los tumores que mostraban LOH fueron significativamente de mayor tamaño (media = 2,51 cm) que tumores sin LOH (media = 1,94 cm) ($p<0.001$). Aunque sin diferencias estadísticamente significativas 65% de los tumores con LOH tenían invasión de linfáticos versus 35% de los tumores con invasión linfática y sin LOH.

CONCLUSIONES: En nuestra serie hay una alta frecuencia de LOH a nivel del DCC comparada con las series publicadas hasta ahora. LOH a nivel del gen DCC se relaciona con el tamaño del tumor. Existe además una tendencia hacia una relación entre invasión de vasos linfáticos y LOH, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Estos datos pueden indicar que el gen DCC está implicado de alguna forma en la patogénesis y/o progesión de estos tumores.