



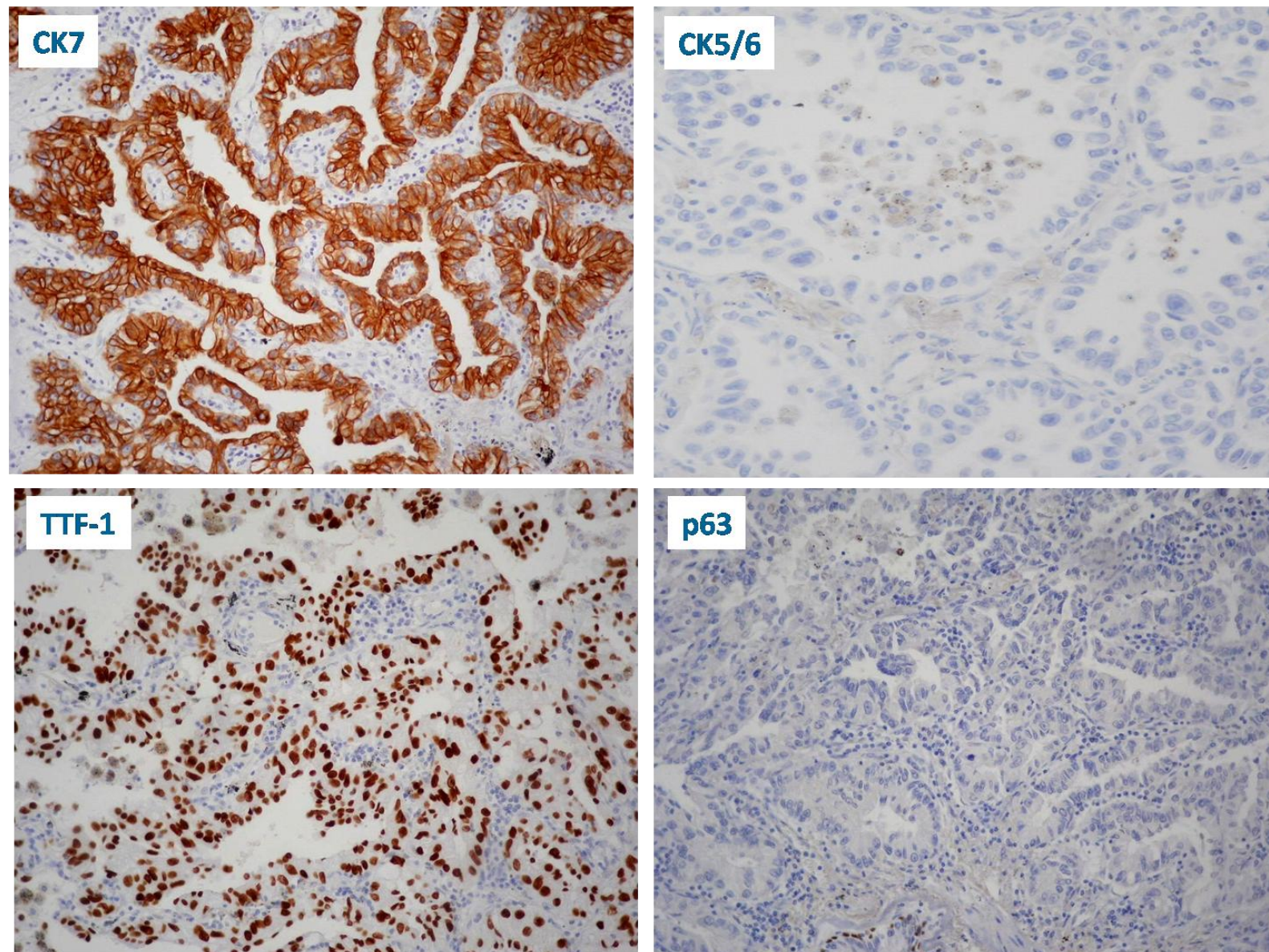
ESTUDI DEL GEN EGFR EN CARCINOMA ESCAMÓS I ADENOCARCINOMA DE PULMÓ

Ruth Román^{1*}, Natalia Rodón^{1*}, Montse Verdú^{1,3*}, Beatriz García-Peláez¹, Mercè Pujol¹ i Xavier Puig^{1,2,3}

¹BIOPAT. Biopatologia Molecular, SL, Grup Assistència; ²Hospital de Barcelona, SCIAS, Grup Assistència; ³Histopat Laboratoris. Barcelona

*(co-autors)

A



B

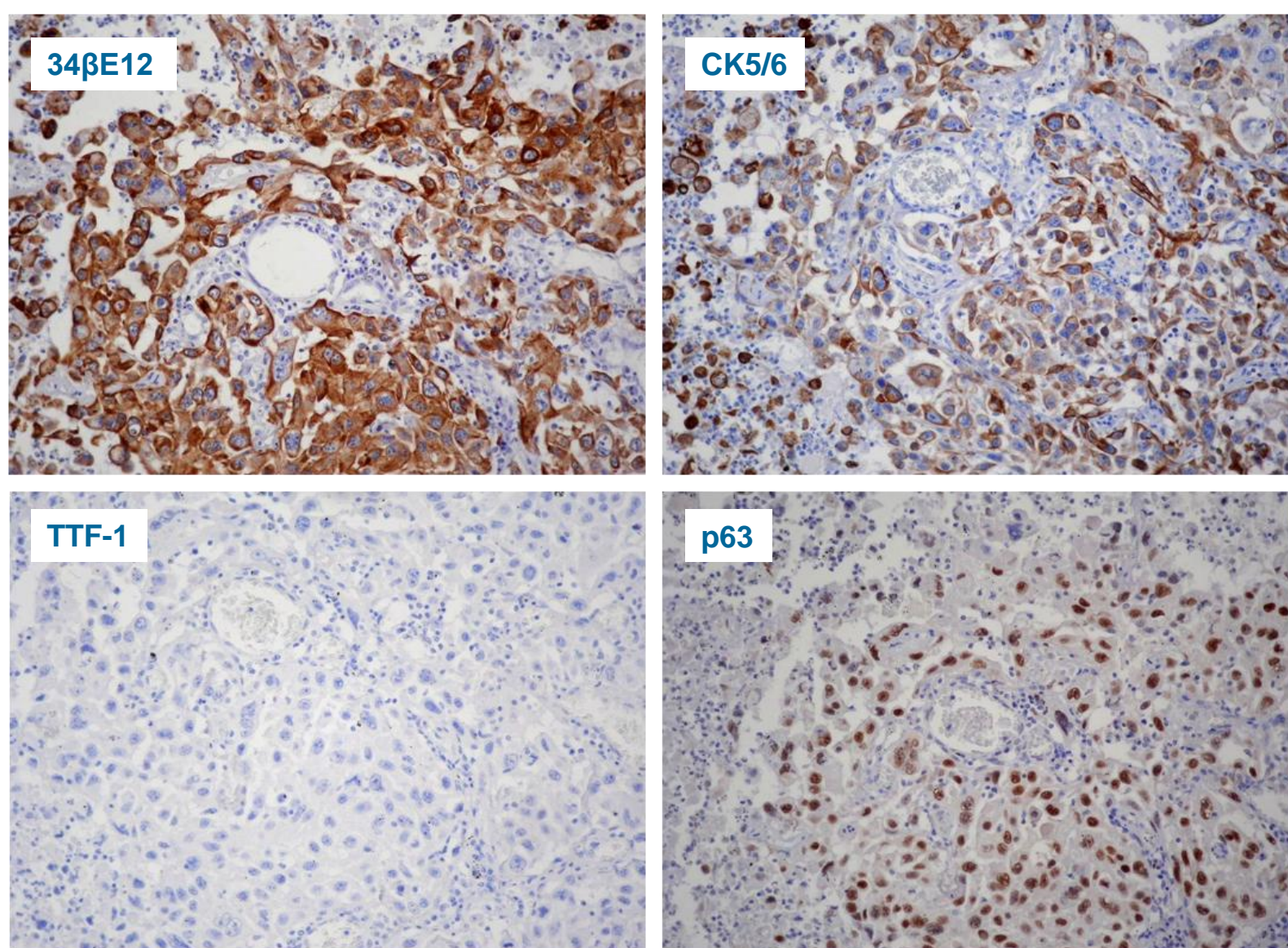


Figura 1: Perfils immunohistoquímics característics d'adenocarcinoma (A) i de carcinoma escamós de pulmó (B) (x200).

INTRODUCCIÓ

Les mutacions en el receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR) i, en menor mesura, l'augment en el nombre de còpies, s'han correlacionat amb resposta a inhibidors del domini tirosina cinasa (TKIs) d'aquest receptor i augment de la supervivència. La majoria d'aquests estudis s'han dut a terme en sèries d'adenocarcinomes, ja que aquest tipus histològic s'associa a la presència d'alteracions en la via de l'EGFR.

L'objectiu d'aquest estudi és la caracterització molecular del gen EGFR per establir la metodologia de treball més adequada.

MATERIAL I MÈTODES

La sèrie consta de 99 carcinomes primaris de pulmó: 47 carcinomes escamosos (CE) i 52 adenocarcinomes (AC). El tipus histològic va ser establert per dos patòlegs i confirmat per immunohistoquímica (CK7, CK20, TTF1, p63, CK5/6 i 34βE12) (figura 1).

La presència de mutacions d'EGFR es va determinar mitjançant seqüenciació per Sanger dels exons 19, 20 i 21. El nombre de còpies d'EGFR es va avaluar utilitzant hibridació *in situ* fluorescent (FISH) amb la sonda *Vysis LSI EGFR SpectrumOrange/CEP7 SpectrumGreen*. Es varen considerar FISH (+) aquells tumors que presentaven alta polisomia (≥ 4 còpies d'EGFR en $\geq 40\%$ dels nuclis tumorals) o amplificació (quocient gen/cromosoma ≥ 2 o ≥ 15 còpies en $\geq 10\%$ dels nuclis tumorals) (figura 2).

L'estat mutacional del gen EGFR en la sèrie d'AC es va estudiar addicionalment, en els casos negatius per Sanger, amb PCR a temps real utilitzant el kit comercial *Therascreen EGFR PCR* (Qiagen). La sensibilitat real de la seqüenciació per Sanger i la de la PCR a temps real es va establir utilitzant dilucions al 20%, 10%, 5% i 1% de ADN de línies cel·lulars en parafina *EGFR* ($\Delta E746-A750/+$) i *EGFR* (+/+) (Horizon Diagnostics).

RESULTATS

No es va detectar cap mutació d'EGFR en la sèrie de CE. No obstant, un alt percentatge de casos (55%), no significativament diferent al trobat en la sèrie de AC, presentava un alt nombre de còpies d'aquest gen (taula 1).

En la sèrie d'AC es varen detectar 7 casos (13.5%) amb mutació d'EGFR mitjançant seqüenciació. L'ús de la PCR a temps real va incrementar el nombre a 11 casos (21.2%). D'aquests 11 casos, 9 (81.8%) també varen resultar positius per FISH, 2 amb amplificació i 7 amb alta polisomia.

El subtipus d'AC lepidic infiltrant no mucinos (nmBAC) va ser el més prevalent dins del grup d'AC amb mutacions d'EGFR, estant present en 8 dels 11 casos (72.7%) (taula 2).

La sensibilitat de la seqüenciació per Sanger es va establir en un 10% de còpies d'EGFR mutat, mentre que la PCR a temps real permet la detecció de fins a un 1% de còpies mutades del gen (figura 3).

CONCLUSIONS

- Els nostres resultats confirmen l'absència de mutacions d'EGFR en carcinomes escamosos de pulmó.
- L'alt nombre de casos amb un augment de còpies d'EGFR i la seva possible correlació amb resposta a TKIs requeriria més estudis. No obstant, la FISH podria ser una metodologia adequada per l'estudi de l'estat del gen EGFR en CE.
- El valor afegit de les tècniques d'alta sensibilitat en la sèrie d'AC, especialment en casos amb patró lepidic no mucinos, justifica la seva incorporació tot i el seu major cost.

REFERÈNCIES

- Verdu *et al.* Abstract a Modern Pathology 2006; 19 (suppl. 3): 142.
- Travis WD *et al.* Journal of Thoracic Oncology, 2011; 6: 244-485.
- Ladanyi M *et al.* Mod Pathol. 2008 May;21 Suppl 2:S16-22.

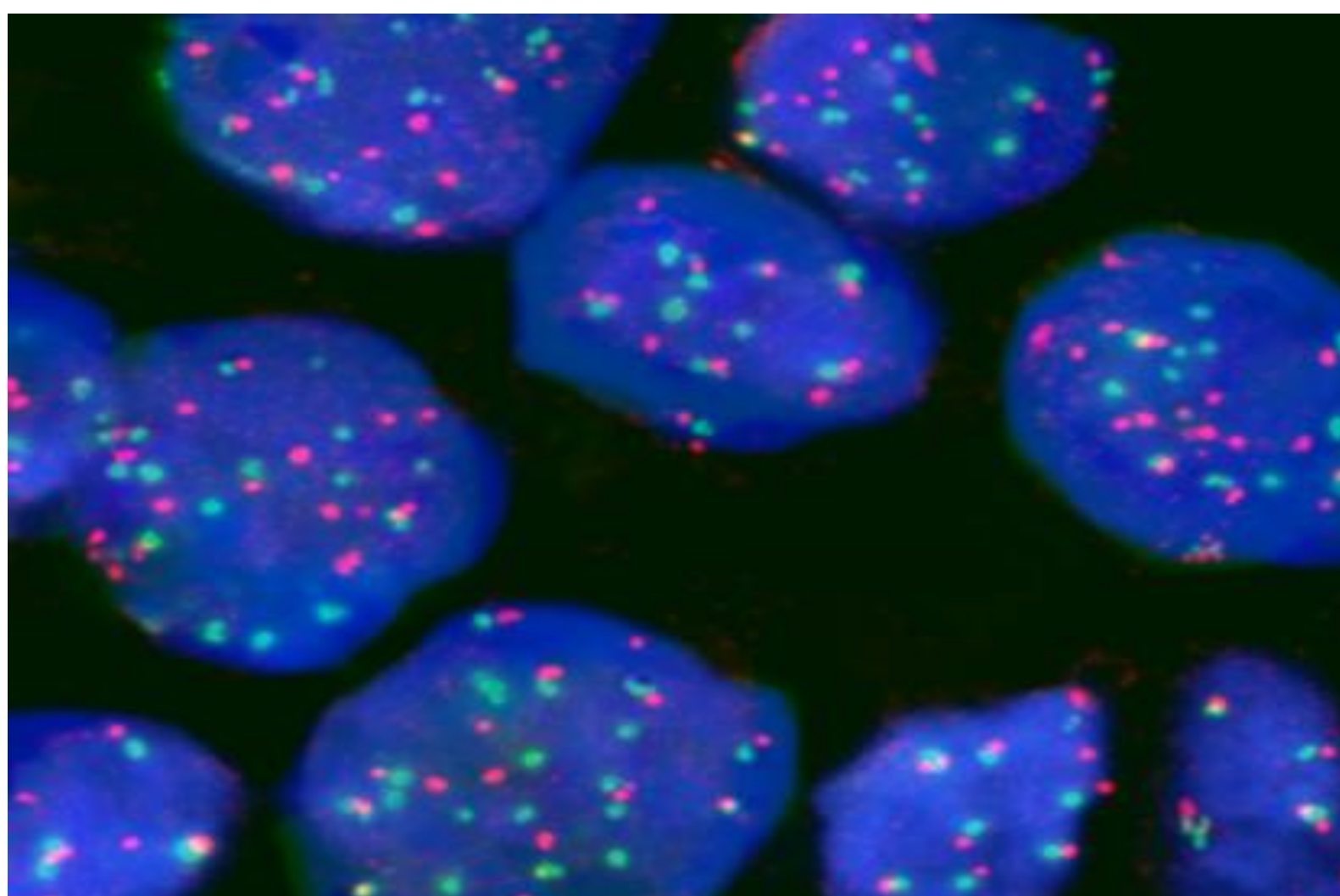
	CE (n=47)	AC (n=52)	P valor
FISH EGFR			
(+)	26	36	0.08
(-)	21	16	
Mutacions EGFR			
No mutat	47	45	0.01
Mutat	0	7	

Taula 1: Anàlisi univariànt correlacionant la presència d'alteracions del gen EGFR i el tipus histològic. P valors <0.05 es varen considerar estadísticament significatius.

Patrons histològics d'AC (n=52)	Mutació EGFR		FISH EGFR (+)
	Sanger	Therascreen	
nmBAC (n=15)	4	4	12
Mucinos BAC (n=1)	-	-	1
Acinar (n=9)	-	-	7
Papil·lar (n=1)	-	-	-
Sòlid (n=13)	1	-	8
Mixte (n=8)	1	-	4
No Especificat (n=5)	1	-	4

Taula 2. Mutacions i alteracions del nombre de còpies del gen EGFR (FISH) en els diferents patrons histològics d'adenocarcinoma.

A



B

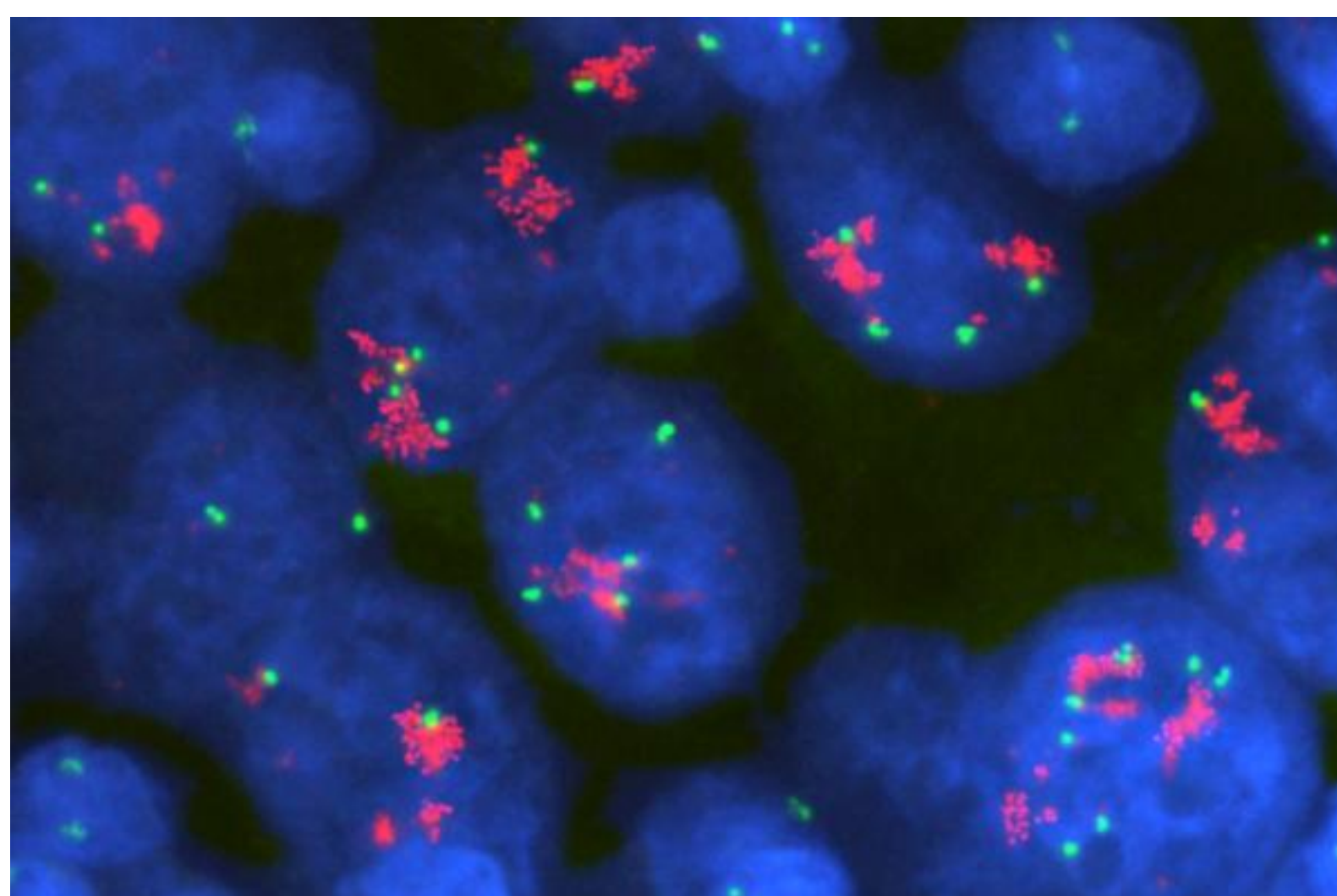
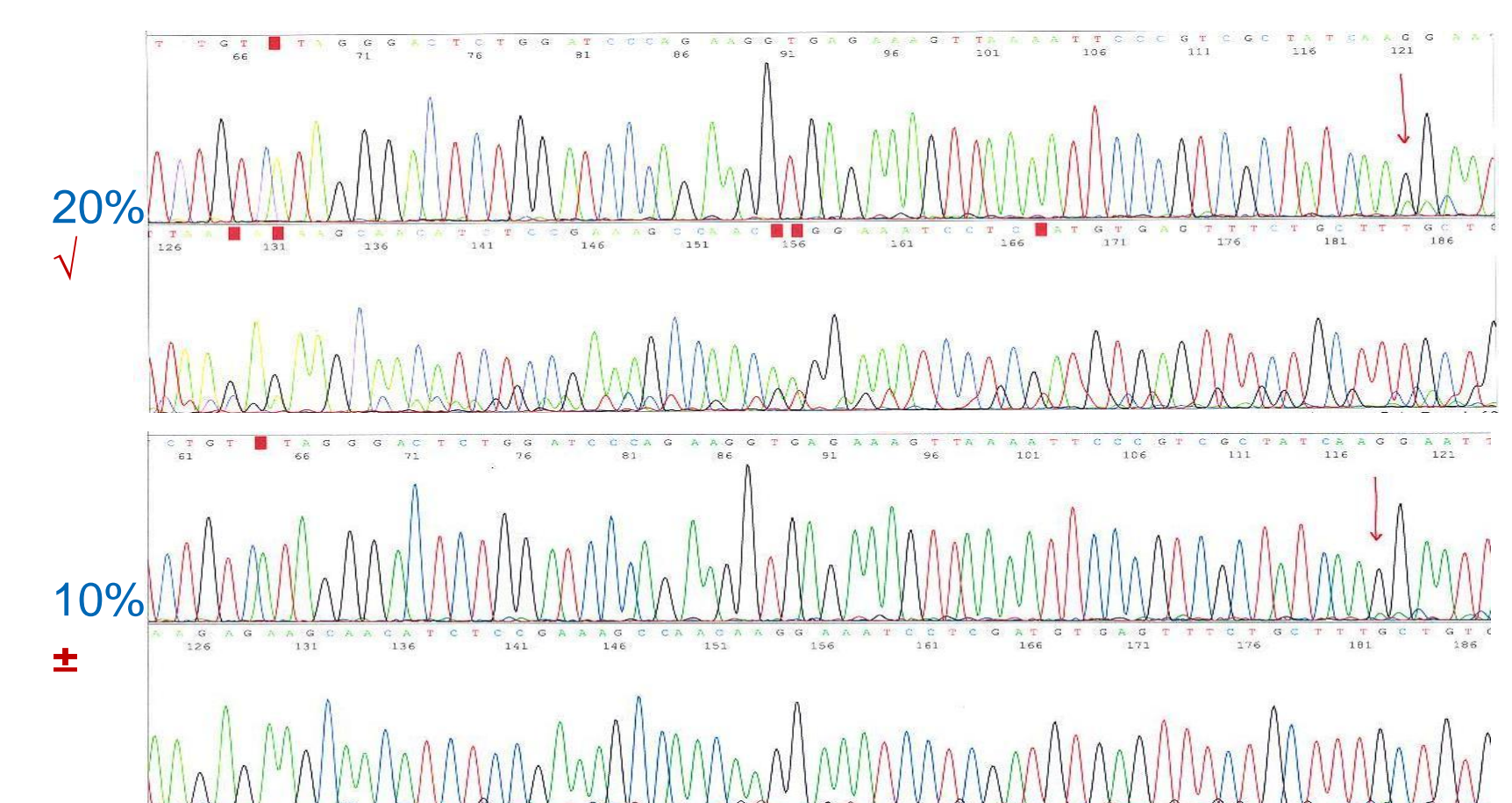


Figura 2 : Exemples de mostres amb un alt nombre de còpies d'EGFR avaluats amb FISH. A: Alta polisomia i B: Amplificació (x1000).

A



B

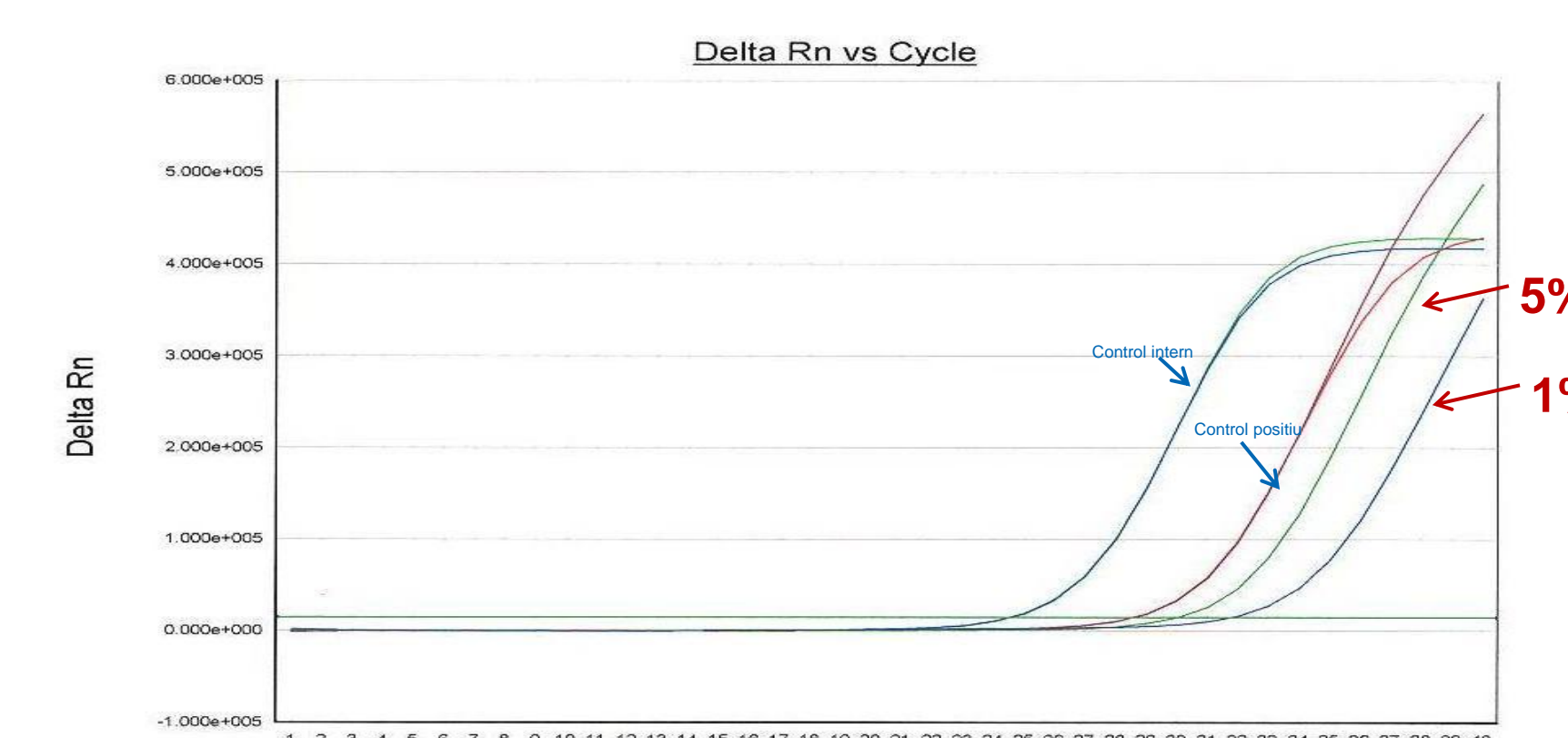


Figura 3. Detecció amb seqüenciació Sanger (A) i PCR a temps real (*Therascreen*) (B) de dilucions al 20%, 10%, 5% i 1% de ADN de línies cel·lulars en parafina *EGFR* ($\Delta E746-A750/+$) i *EGFR* (+/+).