

ARTÍCULO ORIGINAL

Hibridación *in situ* fluorescente (FISH) en el Instituto Nacional de Cancerología (INC) de Colombia. Experiencia de 5 años

Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) in the National Institute of Cancerology (INC) of Colombia. 5 years experience

Tatiana Roncancio-Velandia^{a*}, Rafael Parra-Medina^b, Juan Carlos Mejía^c, Gonzalo Guevara-Pardo^b,

a. Laboratorio de Genética y Oncología Molecular, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D. C., Colombia

b. Instituto de investigación, Departamento de Patología, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá D. C., Colombia

c. Departamento de Patología, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D. C., Colombia

*Autor de correspondencia: Tatiana Roncancio Velandia Correo electrónico: troncancio@cancer.gov.co

Recibido el 25 de julio de 2018; aceptado el 12 de noviembre de 2018

Disponible en Internet el 13 de febrero de 2019

PALABRAS CLAVE

FISH;
Hibridación;
Linfomas;
Leucemia;
Sarcomas;
HER2

Resumen

Introducción: La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) es una herramienta fundamental en oncopatología para confirmar el diagnóstico de algunas patologías, al igual que determinar el pronóstico y el tratamiento.

Objetivo: Describir la experiencia del Instituto Nacional de Cancerología de Colombia (INC) con la técnica de FISH en las diferentes neoplasias hematológicas y tumores sólidos para conocer el comportamiento molecular de nuestra población.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo de todos los resultados de FISH que se han realizado en tumores hematológicos y tumores sólidos en el laboratorio de Genética y Oncología Molecular del INC, entre 2012 y 2016.

Resultados: En total se realizaron 1.713 pruebas de FISH, 1.010 (59%) fueron desarrolladas en neoplasias de origen hematolinfóide y 703 (41%) en tumores sólidos, de estos 428 (61%) correspondieron para HER2 de cáncer de seno. En tumores de tejidos blandos fueron evaluadas las sondas MDM2/CDK4, EWSR1, SS18, FUS, CHOP observando positividad en el 10%, el 43%, el 44%, el 20% y el 63%, respectivamente. En cáncer de pulmón se observó positividad en el 12%. Además se realizó estudios para la detección de melanoma y para la detección la codeleción del 1p/19q en gliomas.

Discusión: En el INC de Colombia se confirmó la utilidad de la técnica de FISH como complemento en el diagnóstico, el pronóstico y el factor predictivo en el manejo de pacientes con cáncer. Observamos que la prevalencia de algunas pruebas varían de la reportadas en la literatura médica (C-MYC para linfomas, ALK para cáncer de pulmón).

Abstract

Introduction: Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) is a fundamental tool in oncopathology to confirm the diagnosis of some pathologies, as well as to determine the prognosis and treatment.

<https://doi.org/10.35509/01239015.73>

0123-9015/©2019 Publicado por Instituto Nacional de Cancerología

KEYWORDS

FISH;
Hybridization;
Lymphomas;
Leukemia;
Sarcomas;
HER2

Objective: To describe the experience of the FISH in the National Institute of Cancerology of Colombia (INC) in different hematological malignancies and solid tumors to know the molecular behavior of our population.

Materials and methods: A retrospective descriptive study was conducted of all the FISH results that have been carried out in the Genetics and Molecular Oncology laboratory of the INC between 2012 and 2016 in hematological tumors and solid tumors.

Results: A total of 1713 FISH tests were performed, 1010 (59%) were developed in neoplasms of hematomolymphoid origin and 703 (41%) in solid tumors, of these 428 (61%) corresponded to breast cancer (HER2). In soft tissue tumors, MDM2 / CDK4, EWSR1, SS18, FUS, CHOP probes were evaluated, observing positivity in 10%, 43%, 44%, 20% and 63%, respectively. In lung cancer, it has observed positivity in 12%. In addition, studies have been carried out to detect melanoma and to detect the 1p / 19q deletions in gliomas.

Discussion: The INC of Colombia confirms the usefulness of the FISH technique as a complement in the diagnosis, prognosis and predictive factor in the management of patients with cancer. We observed that the prevalence of some tests varies from that reported in the medical literature (C-MYC for lymphomas, ALK for lung cancer).

Introducción

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH, por sus siglas en inglés *Fluorescence in situ hybridization*) es una técnica de citogenética molecular desarrollada aproximadamente hace 40 años^{1,2}. Esta herramienta molecular detecta anomalías cromosómicas, tanto numéricas como estructurales en locus específicos de protooncogenes o genes supresores de tumores. La FISH utiliza fragmentos de ADN incorporados con nucleótidos acoplados a fluoróforos (sondas) para examinar la presencia o la ausencia de secuencias complementarias^{3,4}. Existen diferentes tipos de sondas: las sondas centroméricas son útiles para la detección de alteraciones numéricas y como control de referencia de sondas locus específico y las sondas locus específico se usan para la detección de translocaciones, deleciones o amplificaciones. Estas pueden ser sondas de fusión o sondas *Break apart*^{3,4}.

La FISH tiene una alta sensibilidad y especificidad para detectar secuencias de ADN o ARN en comparación con la citogenética convencional; esto ha convertido esta técnica como una herramienta fundamental para confirmar el diagnóstico de algunas patologías, al igual que determinar el pronóstico y el tratamiento de algunas neoplasias hematológicas y no hematológicas^{3,5}.

El objetivo del presente estudio es describir la experiencia del Instituto Nacional de Cancerología de Colombia (INC) con la técnica de FISH en las diferentes neoplasias hematológicas y los tumores sólidos para conocer el comportamiento molecular en población colombiana.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo de todos los resultados de FISH que se han realizado en el Laboratorio de Genética y Oncología Molecular del INC entre 2012 y 2016. Se han utilizado 39 sondas para cada patología y cabe destacar que una misma sonda se puede utilizar en diferentes patologías. Todas las pruebas fueron estandarizadas y validadas según las indicaciones del fabricante, se calcularon los valores de *cut-off*

normal para cada tipo de prueba. Para el análisis en muestras de médula ósea y sangre periférica se observaron un mínimo de 200 núcleos que no estuvieran sobrepuestos y con señales claras y para tejidos embebidos en parafina se seleccionó la zona tumoral por parte del patólogo. Se seleccionaron filtros específicos para las longitudes de onda generadas por cada sonda en un microscopio AX70 de Olympus adaptado con lámpara ultravioleta, las imágenes fueron capturadas y digitalizadas con el programa FISHview de Applied Spectral Imaging. La interpretación fue realizada por dos expertos: un experto en citogenética molecular FISH con 12 años de experiencia y un médico genetista con más de 30 años de experiencia. Los resultados fueron descritos según las guías del Sistema Internacional de Nomenclatura para Citogenética Humana (ISNC, por su sigla en inglés)⁶. Para el análisis del estudio, los resultados fueron divididos en neoplasias hematológicas y tumores sólidos.

Resultados

En total se realizaron 1.713 pruebas de FISH, 1.010 (59%) fueron desarrolladas en neoplasias de origen hematolinfóide (tabla 1 y 2) y 703 (41%) en tumores sólidos, de estos 428 (61%) correspondieron para HER2 de cáncer de seno.

Neoplasias hematológicas

La entidad hematológica donde se realizó el mayor número de pruebas fue el mieloma múltiple (MM). En total fueron ejecutadas 198 pruebas (30%), principalmente para la detección de pérdida p53 (del(17p)) (n:56) y t(4;14) (n:50) observando positividad en tres pacientes para cada prueba. El IGH fue positivo en el 50%, seguido de del(13q) en el 15% (tabla 1).

Se realizaron: 158 pruebas en leucemia linfoblástica aguda (LLA) (24,7%); 105 pruebas en leucemia mieloide aguda (LMA) (16,4%); 96 pruebas en síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPC); 57 pruebas en leucemia mieloide crónica (LMC) (14%), y 65 pruebas en leucemia linfocítica crónica (LLC) (10%).

En una menor proporción se ha desarrollado en síndrome mielodisplásico (SMD) (3%). La prueba con mayor porcentaje de positividad en leucemias fue t(9;22) (72%) en LMC seguido de t(15;17) (44%) en LMA (*tabla 1*).

En linfomas más de la mitad de las pruebas (60%, n:223) correspondieron para diagnóstico y pronóstico de linfoma B difuso de célula grande (LBDCG). Se reconoció positividad en: el 24% casos para BCL2, el 23% positivos para c-MYC, el 12,5% positivos para BCL6, el 8% de positividad de BCL-2/c-MYC y el 5% presentaron positividad para BCL2/BCL6 (*fig. 1*). No se reconocieron casos con positividad para BCL-6//c-MYC, ni triple hit (BCL-2/BCL-6//c-MYC) (*tabla 2*). Además se observó positividad para t(8;14) en el 31% de 48 linfomas de Burkitt y positividad de t(11;14) en el 61% de 46 linfomas de células del manto. En una menor frecuencia se reconoció positividad de t(14;18) en el 18% de linfomas foliculares y 15% de los linfomas tipo MALT mostro positividad para t(11;18).

Tumores sólidos

Cáncer de seno (HER2)

Se realizaron de 428 pruebas para detectar HER2 en cáncer de seno: 126 pruebas fueron positivas (29,4%), 281 pruebas

fueron negativas (65,7%), 3 pruebas fueron equívocas (0,7%) y en 18 casos (4,2%) se reconoció material no óptimo y muestras que no hibridaron. Un total de 59 casos fueron polisómicos (13,8%), de los cuales: 26 casos fueron polisómicos positivos (6,07%) y 33 casos fueron polisómicos negativos (7,7%) (*fig. 2*).

Hasta 2013 se efectuaron 197 pruebas, de las cuales: 55 fueron positivas y 142 negativas. Después de la reclasificación AC2013⁷, se han realizado 231 pruebas: 71 fueron positivas, 138 negativas y 3 equívocos (*tabla 3*).

Tumores de tejidos blandos

Se efectuaron 111 pruebas para sarcomas de hueso y tejidos blandos. En estos tumores se utilizaron sondas para la detección de MDM2/CDK4, EWSR1, SS18, FUS, CHOP y se observó positividad en el 10%, el 43%, el 44%, el 20% y el 63% respectivamente (*tabla 3*) (*fig. 3*).

Cáncer de pulmón (ALK)

De las 58 pruebas realizadas para la detección de ALK con el KIT Vysis® ALK Break Apart FISH Probe (aprobado por la FDA): 7 casos fueron positivos (12%), 4 casos mostraron patrón clásico,

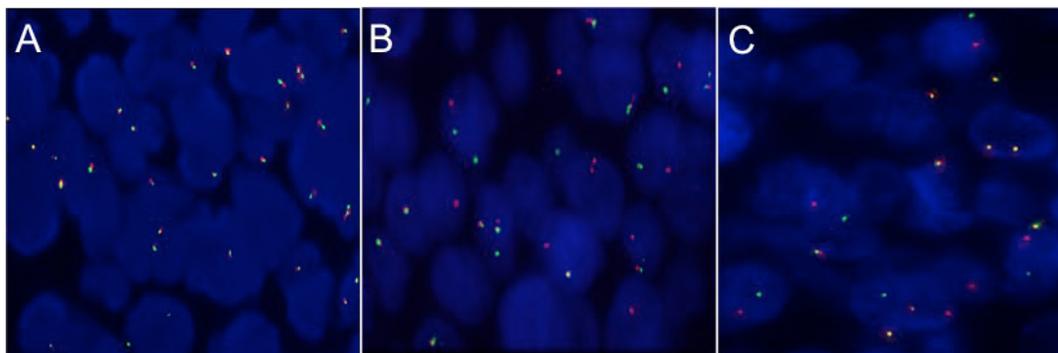


Figura 1. LBDCG positivo doble hit con las sondas Break Apart (Vysis-Abbott) BCL6 (3q27), BCL2 (18q21), CMYC (8q24). A. FISH BCL6 negativo. Los núcleos muestran dos señales de fusión (amarilla) normal. B. FISH BCL2 positivo. Los núcleos muestran una señal de fusión, una verde y una roja independientes correspondientes a rearrreglos de gen. C. FISH C-MYC positivo. Los núcleos muestran una señal de fusión, una verde y una roja independientes correspondientes a rearrreglos de gen. Las imágenes fueron capturadas y digitalizadas con el programa FISHview de Applied Spectral Imaging.

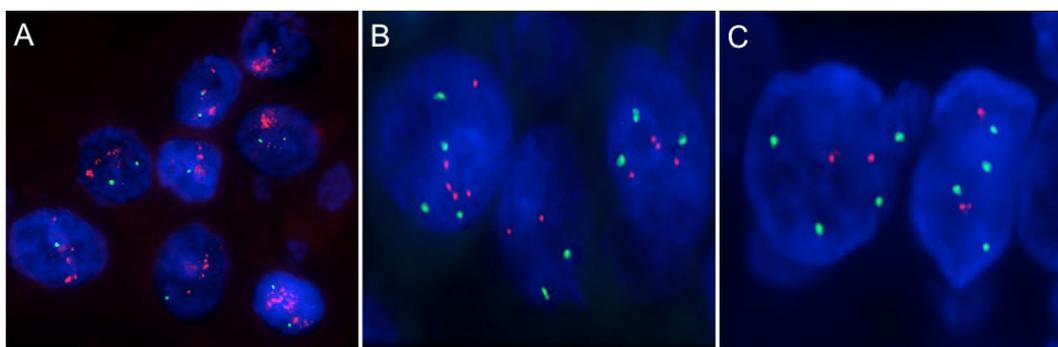


Figura 2. FISH HER2 para cáncer de seno con sondas específicas para el locus HER2 en la región 17q11.2-12 (señal roja) y la región centromérica CEP17 (señal verde) (Kit pathvysion-Vysis-Abbott) Aprobado por la FDA. A. HER2 positivo. Amplificación del gen HER2 con un radio mayor a 2.0. B. HER-2 polisómico equívoco. Con ganancia del CEP17 con un número de copias entre 3-4 C. FISH 17. Con la sonda LSI (17p13.1). Los núcleos muestran 2 señales rojas (17p13.1) y 4 señales verdes (CEP17), descartando una verdadera polisomía. Las imágenes fueron capturadas y digitalizadas con el programa FISHview de Applied Spectral Imaging.

2 patrón atípico y un caso fue polisómico positivo. De los 51 casos negativos, 5 casos mostraron polisomía (9,8%) (tabla 3) (fig. 4).

Melanoma

Con el KIT MELANOMA FISH Abbott Molecular que comprende un panel de 4 sondas (RREB1 (6p25), MYB (6q23), CCND1 (11q13)).

Se analizaron 14 casos, encontrando criterios de positividad en 2 casos (los criterios fueron basados en los criterios y puntos de corte de análisis establecidos por la Universidad de California en UCSF / Universidad San Francisco de Northwestern (Chicago, Illinois) propuestos por Gerami et al⁸. Todos los casos tuvieron una adecuada correlación histopatológica. Se observaron 3 casos con tendencia a la tetraploidía, uno de ellos con células grandes en una paciente de 9 años⁹ (tabla 3) (fig. 5).

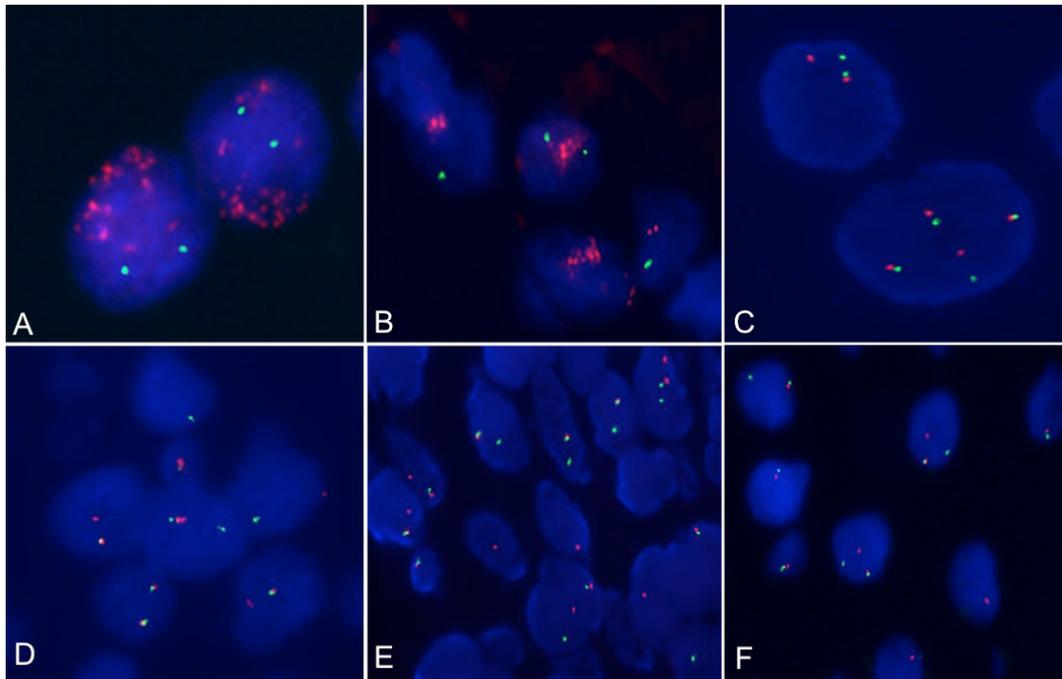


Figura 3. A y B. Liposarcoma bien diferenciado FISH MDM2 (12q15) y CDK4 (12q13) positivos. Los núcleos muestran amplificación con un radio mayor a 2.0. C. MDM2 polisómico se observan 4 señales del MDM2 (12q15) y control CEP12. D. Sarcoma de Ewing. FISH EWSR1 (22q12) positivo con sonda dual color fusion Break Apart (Abbott Molecular). E. Sarcoma Sinovial. FISH SS18(18q11.2) positivo con sonda dual color fusion Break Apart (Abbott Molecular). F. Liposarcoma mixoide de células redondas. CHOP (DDIT3) en la región 12q13 positivo sonda dual color fusion Break Apart (Abbott Molecular). Las imágenes fueron capturadas y digitalizadas con el programa FISHview de Applied Spectral Imaging.

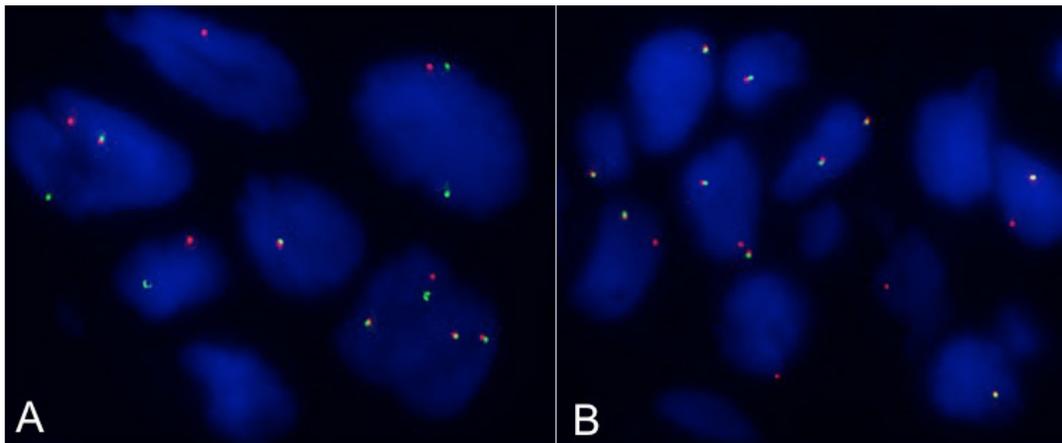


Figura 4. Carcinoma de pulmón de célula no pequeña. FISH LSI ALK dual color, break-apart (Abbott Molecular) A. ALK positivo patrón clásico. Se observa una señal de fusión (native ALK), una verde y una roja independientes en más del 15% de las células tumorales, correspondientes a rearrreglos de gen. B. ALK positivo patrón atípico. Se observa una señal de fusión (native ALK) y una señal roja. Las imágenes fueron capturadas y digitalizadas con el programa FISHview de Applied Spectral Imaging.

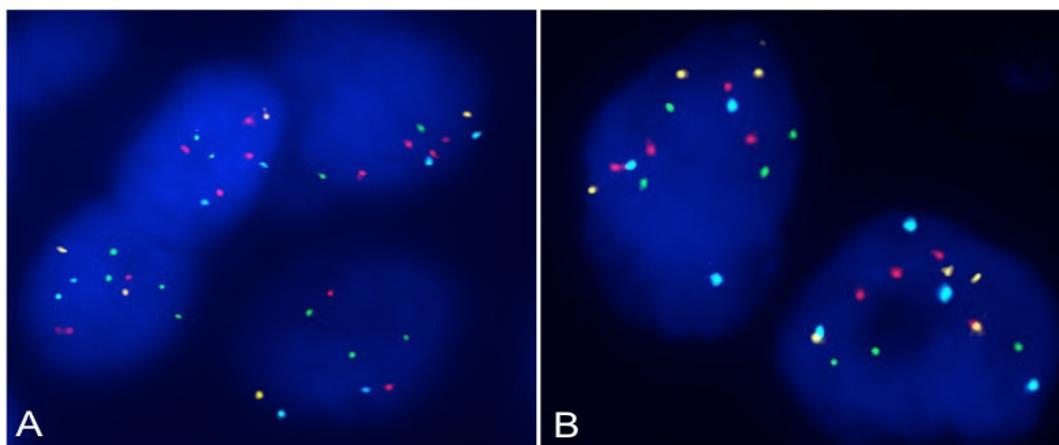


Figura 5. KIT MELANOMA FISH Abbott Molecular. Gen RREB1 6p25 (señal roja), gen MYB 6q23 (señal amarilla), gen CCND1 11q13 (señal verde), control CEN6 (señal aguamarina). **A.** Melanoma Maligno, FISH positivo, los núcleos muestran aumento en el número de señales de las sondas RREB1, CCND1 y disminución en el número de señales de la sonda MYB, indicando desequilibrio cromosómico clonal con relación al control de centrómero del cromosoma 6. **B.** Melanoma Spitzoide FISH tetraploide, se muestran 4 señales de las sondas RREB1, CCND1 MYB incluyendo la sonda control CEP6. Las imágenes fueron capturadas y digitalizadas con el programa FISHview de Applied Spectral Imaging.

Tabla 1. FISH en neoplasias hematolinfoides

Neoplasias hematolinfoides	Total (640)	Sondas (positivo/total)																		
		p53 (del(17p))	t(4;14)	t(14;16)	del(13q)	IGH	t(11;14)	t(12;21)	t(9;22)	MLL (11q23)	t(15;17)	t(8;21)	inv(16)	RARa	CEP8	FIP1L1	Trisomia 12	ATM 11q22	del (5q)	del (7q)
Mieloma múltiple	198	3/56	3/50	0/31	2/26	9/18	2/17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leucemia linfoblástica aguda	158	-	-	-	-	-	-	6/82	5/69	2/7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leucemia mieloide aguda	105	-	-	-	-	-	-	-	2/13	3/9	23/44	8/26	0/8	1/1	-	-	-	-	-	-
Síndrome mieloproliferativos crónicos	96 (57 LMC)	-	-	-	-	-	-	-	40/55*	-	-	-	-	-	1 / 2 *	1 / 39	-	-	-	-
Leucemia linfocítica crónica	65	4/23	-	-	-	-	2/20	-	-	0/2	-	-	-	-	-	-	3/10	2/9	-	-
Síndrome mielodisplásico	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3/13	1/5

Abreviación: LMC: Leucemia mieloide crónica. * Pruebas realizadas en LMC

Tabla 2. FISH en linfomas

Linfomas	Total (370)	Sondas (positivo/total)										
		BCL2	BCL6	C-MYC	BCL2/BCL6	BCL2/C-MYC	BCL6/C-MYC	BCL2/BCL6/C-MYC	t (8;14)	t (11;14)	t(14;18)	t(11;18)
LBDCG	223	20/82	7/56	18/80	3/56	7/80	0/56	0/56	-	0/5	-	-
Linfoma de Burkitt	49	-	-	-	-	-	-	-	15/48	0/1	-	-
Linfoma del manto	44	-	-	-	-	-	-	-	-	27/44*	-	-
Linfoma plasmablastico	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2/2	-	-
Linfoma folicular	31	-	-	-	-	-	-	-	-	0/3	5/28	-
MALT	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2/13
Otros (linfoma marginal nodal, marginal esplénico, linfoblástico de células T)	8	-	-	-	-	-	-	-	-	0/8	-	-

Dos casos con morfología blastoide fueron positivos . Abreviación: LBDCG: Linfoma B difuso de célula grande.

Tabla 3. FISH en tumores sólidos (cáncer de seno, tumores de tejidos blandos, cáncer de pulmón, melanoma y otros tumores)

Sondas utilizadas	Total (703)	Positivo	Negativo	Equívocos	Polisómicos	Polisómicos positivos	Polisómicos negativos	Material no óptimo/ no hibridación
Cáncer de seno								
HER-2	428	126	281	3				18
Hasta el año 2013	197	55	142					10
Después del año 2013	231	71	139	3	59	26	33	8
Tumores de tejidos blandos								
MDM2	29	3¶	18		6			2
CDK4	29	3¶	18		6			2
EWSR1	30	13	11		5			1
SS18	16	7	7		2			
FUS	5	1	4					
CHOP	8	5	1		1			1
Cáncer de pulmón								
ALK	58	7 §	51 £			1	5	
Melanoma								
Kit melanoma	14	2	9		3			
Otros marcadores								
RB1	48	7	41					
N-MYC	36	5	31					
1p19q	2	2	0					

¶ Dos casos fueron positivos para MDM2/CDK4. § 4 casos para el patrón clásico, 2 para el patrón atípico 1 para polisómicos positivos. £ 5 casos polisómicos negativos.

Otros tumores

Además de las sondas para los tumores que se han mostrado anteriormente, también se han realizado en otros tumores. Por ejemplo, se observó positividad en el 15% de los retinoblastoma para RB1 y el 14% de los neuroblastoma mostraron positividad para N-MYC. Además 2/2 casos con características morfológicas de oligodendrogliomas mostraron codelección del 1p/19q (tabla 3).

Discusión

En la actualidad se dispone de un gran número de sondas comerciales para la detección de alteraciones citogenéticas relevantes y frecuentes en hematología y oncología. Nuestro laboratorio cuenta con paneles específicos principalmente para cada tipo de neoplasias hematológicas y tumores sólidos, que se han asociado con mal pronóstico considerando

las recomendaciones de las guías internacionales en oncohematología.

En hematopatología el MM fue la patología donde se realizó el mayor número de pruebas. Esta entidad se caracteriza por múltiples anormalidades citogenéticas que ocurren a lo largo del curso de la enfermedad, desde estadios premalignos de gammapatía monoclonal de significado indeterminado hasta MM latente y MM en estadios finales.

Las principales anomalías citogenéticas son trisomías y translocaciones asociadas al gen de la cadena pesada de la inmunoglobulina (IgH). Las trisomías son caracterizadas por una copia extra de uno o más cromosomas (3, 5, 7, 9, 11, 15, 17) y las translocaciones incluyen diferentes subtipos, donde los más comunes son t(11;14), t(4;14), t(6;14), t(14;16) y t(14;20). En cada una de estas translocaciones, un oncogén de un cromosoma asociado se transloca a la región IgH en el cromosoma 14q32; estos genes son: ciclina D1 (11q13), ciclina D3 (6p21) FGFR y MMSET (4p16.3), c-MAF (16q23) y MAF-B (20q11)¹⁰.

La detección de anormalidades citogenéticas en MM tiene importancia en el pronóstico y en la estratificación del riesgo,

y este último ha sido clasificado en estándar, intermedio y alto, basado en la *Mayo stratification for myeloma and risk-adapted therapy classification* (mSMART)^{11,12}. Dentro de las alteraciones de riesgo estándar está: t(11;14) y t(6;14), intermedia t(4;14) y ganancia de 1q21, y de las de alto riesgo son Del(17p) (p53), t(14;16), t(14;20) y Del(1p). La positividad de IgH se ha reportado en el 30% de pacientes con MM, seguido de t(11;14) en el 15%, t(4;14) en el 6%, y t(14;16) en el 4%¹⁰.

En nuestra población reconocimos positividad en el 50%, el 2%, el 6%, el 0%, respectivamente. Adicionalmente observamos positividad de del(13q) en el 15%, esta otra alteraciones se ha asociado con peor pronóstico¹³.

En leucemia se han estudiado diferentes anomalías citogenéticas, en nuestra población la LLA es la entidad con mayor número de pruebas (n: 158). La translocación más frecuente es t(9;22) en adultos y t(12;21) en niños respectivamente. Se encontró positividad de t(9;22) y t(12;21) en el 7% (tabla 1) y la presencia de t(9;22) se ha asociado con peor pronóstico⁵.

En LMA las translocaciones más frecuentes son: t(8;21) (q22;q22), t(15;17) (q22;q12) e inv(16) (p13.1q22) o t(16;16) (p13.1q22)¹⁴. En nuestra población encontramos positividad de t(15;17) (q22;q12) en el 44%, t(8;21) (q22;q22) en el 31%, y ningún caso positivo para inv (16) (p13.1q22).

Se han observado que alteraciones en t(8;21) (q22;q22) / RUNX1-RUNX1T1; t(15;17) (q22;q12) / PML-RARa; inv(16) (p13.1q22) o t(16;16) (p13.1;q22) / CBFβ-MYH1 y la mutación en ambos genes CEBPA y NPM1 se han asocian con un buen resultado clínico, mientras que t(1;22) (p13;q13) / RBM15 - MKL1; inv(3) (q21q26.2) o t(3;3) (q21;q26.2) RPN1-EVI1; t(6;9) (p23;q34) / DEK-NUP214, reordenación del gen MLL, los cariotipos complejos y las mutaciones, tanto en KIT como en FLT3, se asocian con un pronóstico menos favorable^{5,14,15}.

En neoplasias crónicas como LMC y LLC se han desarrollado 57 y 65 pruebas respectivamente. La t(9;22) ha sido la prueba con mayor positividad en el 72% en los pacientes con LMC. La positividad de esta alteración es fundamental para el diagnóstico de la LMC y su seguimiento se realiza con RT-PCR para los genes ABL-BCR¹⁶. En LLC las anomalías cromosómicas recurrentes más comunes son la trisomía 12, del(13q), del(11q), del(17p) y del(6q)¹⁶.

La información del FISH es fundamental para la respuesta al tratamiento, puesto que pacientes que han recibido fludarabina, ciclofosfamida y rituximab (FCR) tienen una mejor respuesta al tratamiento cuando presentan alteraciones del cromosoma del(11q) y trisomía 12, mientras que los pacientes con del(17p) no se benefician del tratamiento FCR^{17,18}.

Por otro lado, en el SMD se ha reconocido que alteraciones en -5/del(5)(q31), -7/del(7)(q31)- se asocian con el pronóstico internacional prognostic scoring system (IPSS-R) y la WHO prognostic scoring system (WPSS) y a la respuesta a la quimioterapia¹⁹⁻²¹. Estas alteraciones citogenéticas asociado a +8, del(20)(q2), -17/del(17) (p3.1), y -Y, se ha encontrado en la mitad de los pacientes³, en nuestra población se reconoció en el 23% y el 20% de -5/del(5)(q31) y -7/del(7)(q31), respectivamente.

La FISH en linfomas se ha convertido en una herramienta fundamental para el diagnóstico y el pronóstico para los LBDCG. Rearreglos en BCL6 corresponden a la anomalía citogenética más frecuente en los LBDCG, reportada en aproximadamente el 30% y el 40% de los casos²².

En el presente estudio encontramos una positividad menor en el 12,5% y este valor puede ser probablemente por el tamaño de muestra (tabla 2). El BCL2 puede reconocerse positivo del 20 al 30% de los casos²³, al igual que este estudio (24%), mientras que el c-MYC entre el 5% y 14%²⁴⁻²⁶, interesantemente encontramos

positividad en el 23%, esto puede ser por el tamaño de muestra, sin embargo consideramos que es interesante conocer la verdadera prevalencia en nuestra población.

La presencia de alteraciones en c-MYC/BCL2 y/o BCL6 se le ha atribuido la definición de doble hit y la presencia de rearrreglo de los tres genes de triple hit²⁷. Este grupo de tumores son más agresivos y se han asociado con mal pronóstico, principalmente los triple hit^{28,29}. La translocación de c-MYC asociado con BCL2 o BCL6 puede encontrarse en el 5% de los LBDCG²⁸. De estos, la combinación más frecuente es el c-MYC/BCL2 en el 80% de los casos, mientras que el 20% son positivos para c-MYC/BCL6³⁰. En este estudio se reconoció positividad de BCL-2/c-MYC en el 8%.

Por otro lado, desde que en 2013 la ASCO/CAP (*American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists*) modificó el punto de corte para reportar los resultados de HER2, con el objetivo de minimizar los falsos negativos⁷. Nosotros evaluamos los resultados de HER2 obtenidos antes de la modificación ASCO/CAP 2007³¹, y después del 2013⁷. Observamos que hubo un ligero incremento en los casos positivos (28% vs. 31%) como reportan algunos estudios³¹.

En 2014 los casos polisómicos equívocos fueron más frecuentes y ese mismo año algunos estudios establecieron una aparente "polisomía" relacionada con ganancias pericentroméricas focales en lugar de polisomía verdadera³². Con respecto a estas publicaciones y siguiendo las recomendaciones de ASCO/CAP 2013, se empezó a utilizar la sonda 17p13 (p53) como prueba alternativa para reclasificar aquellos casos polisómicos equívocos. En 10 casos polisómicos equívocos de 231 casos (4,3%) se realizó FISH 17p13 (p53) donde se encontraron: HER2 positivos 5 (50%), HER2 negativos 4 (40%) y un caso (10%) permaneció equívocos. Cabe destacar que el HER2 ha sido uno de los pioneros en la oncología personalizada del cáncer de seno y además de ser útil para la clasificación molecular y con esta conocer su pronóstico³³, también es fundamental para el tratamiento con trastuzumab; este tratamiento ha mostrado resultados sobresalientes como remisión completa del tumor a lo largo del tiempo, incluso en tumores avanzados^{34,35}.

Con respecto a los tumores de tejidos sólidos cabe señalar que las características moleculares de estos son muy útiles para su clasificación diagnóstica³⁶. Fusiones del gen EWS-FLI1 se detectan en aproximadamente más del 90% de los tumores de Ewing³⁶⁻³⁸. Además, un gen análogo a EWS, FUS, está implicado con CHOP (DDIT3) en fusiones génicas en el 90% de los casos de liposarcoma mixoide/de células redondas (FUS-CHOP), la t(X;18) que origina una fusión entre el gen SS18 (SYT) en el cromosoma 18, con el gen SSX asociada a sarcoma sinovial. Diferentes estudios han demostrado que la amplificación de la región 12q13-15 (la cual incluye los genes MDM2 y CDK4) evaluada por FISH está presente en algunos tipos de sarcomas incluyendo liposarcomas³⁶.

Desde 2011 la FDA aprobó el crizotinib para el tratamiento de pacientes con carcinoma de pulmón de célula no pequeña que fueran positivos para FISH ALK con la sonda Vysis³⁹. En nuestra experiencia hemos observado una mayor positividad (12%) con relación a lo previamente reportado por estudios previos de 4,5% a 10,5%⁴⁰⁻⁴². Con respecto a los patrones de FISH ALK positivo, fueron similares a los publicados principalmente mostrando un patrón clásico y en menor proporción el patrón atípico⁴⁰⁻⁴². Adicionalmente se evidenció un 9,8% de casos polisómicos negativos.

Los recientes avances en la comprensión de la patogénesis molecular de proliferaciones melanocíticas han revelado diferencias anomalías genéticas entre los nevus benignos y el melanoma. La FISH se ha convertido en una ayuda complementaria valiosa para el diagnóstico de melanoma por su alta especificidad. Esta prueba consta de un panel de 4 sondas

(fragmentos de ADN pequeños) originalmente establecido por Gerami et al., en el cual incluye un análisis de los genes RREB1 (6p25), MYB(6q23), CCND1 (11q13) y centrómero del cromosoma 6⁸.

En el INC de Colombia la FISH se ha convertido en una herramienta fundamental como complemento en el diagnóstico, el tratamiento y el pronóstico de los pacientes con cáncer. Nuestro laboratorio cuenta con una variedad de sondas (algunas únicas en el país) y la alta sensibilidad y especificidad de la técnica de FISH permite identificar un gran número de reordenamientos cromosómicos en regiones que contengan genes implicados en el desarrollo de neoplasias hematológicas y que no se detectaban con la citogenética convencional.

En la actualidad están disponibles numerosas sondas comerciales para detectar alteraciones cromosómicas recurrentes y que permiten también evaluar cambios en el número de copias de genes específicos en tumores sólidos, lo que mejora la sensibilidad del diagnóstico clínico.

Finalmente, se destaca que la prevalencia de alteraciones evaluadas en el FISH son similares a las reportadas en la literatura. Sin embargo, cabe resaltar que el C-MYC en LBDCG y ALK en cáncer de pulmón es mayor a la reportada en la literatura científica, por lo que es necesario realizar estudios con mayor tamaño de muestra para conocer la prevalencia en la población colombiana debido a que estas pruebas son fundamentales para el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento de estas neoplasias.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Los autores le expresan su agradecimiento a la Dra. Marcela Botero por sus aportes en esta investigación.

Bibliografía

- John HA, Birnstiel ML, Jones KW. RNA-DNA hybrids at the cytological level. *Nature*. 1969;223(5206):582-7.
- Pardue ML, Gall JG. Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1969;64(2):600-4.
- Cui C, Shu W, Li P. Fluorescence In situ Hybridization: Cell-Based Genetic Diagnostic and Research Applications. *Front cell Dev Biol*. 2016;4:89.
- Kearney L, Shipley J. Fluorescence in situ hybridization for cancer-related studies. *Methods Mol Biol*. 2012;878:149-74.
- Hu L, Ru K, Zhang L, Huang Y, Zhu X, Liu H, et al. Fluorescence in situ hybridization (FISH): an increasingly demanded tool for biomarker research and personalized medicine. *Biomark Res*. 2014;2(1):3.
- McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M. ISCN: an international system for human cytogenomic nomenclature (2016). 2016.
- Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013;31(31):3997-4013.
- Gerami P, Wass A, Mafee M, Fang Y, Pulitzer MP, Busam KJ. Fluorescence in situ hybridization for distinguishing nevoid melanomas from mitotically active nevi. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(12):1783-8.
- Parra-Medina R, Rocancio T, Morales SD. Spitzoid Melanoma with Touton-Like, osteoclast-Like and Foreign Body Giant Cells in a 15-Year-old Girl. *Int J Case Rep Short Rev*. 2017;3(4):67-70.
- Rajan AM, Rajkumar SV. Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice. *Blood Cancer J*. Nature Publishing Group; 2015;5(10):1-7.
- Kumar SK, Mikhael JR, Buadi FK, Dingli D, Dispenzieri A, Fonseca R, et al. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines. *Mayo Clin Proc*. 2009;84(12):1095-110.
- Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2012 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2012;87(1):78-88.
- Fonseca R, Barlogie B, Bataille R, Bastard C, Bergsagel PL, Chesi M, et al. Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: a workshop report. *Cancer Res*. 2004;64(4):1546-58.
- Costa D, Vidal A, Carrió A, Muñoz C, Arias A, Gómez C, et al. Refining the diagnosis and prognostic categorization of acute myeloid leukemia patients with an integrated use of cytogenetic and molecular studies. *Acta Haematol*. 2013;129(2):65-71.
- Smith ML, Hills RK, Grimwade D. Independent prognostic variables in acute myeloid leukaemia. *Blood Rev*. 2011;25(1):39-51.
- Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. *Am J Hematol*. 2018;93(3):442-59.
- Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, Fink AM, Busch R, Mayer J, et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet (London, England)*. 2010;376(9747):1164-74.
- Rodríguez-Vicente AE, Díaz MG, Hernández-Rivas JM. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogeneous disease. *Cancer Genet*. 2013;206(3):49-62.
- Kawankar N, Jijina F, Ghosh K, Vundinti BR. Cytogenetic and comparative genomic hybridization study of Indian myelodysplastic syndromes. *Cancer Epidemiol*. 2011;35(4):e1-5.
- Ademà V, Hernández JM, Abáigar M, Lumbreras E, Such E, Calull A, et al. Application of FISH 7q in MDS patients without monosomy 7 or 7q deletion by conventional G-banding cytogenetics: does -7/7q- detection by FISH have prognostic value? *Leuk Res*. 2013;37(4):416-21.
- Voso MT, Fenu S, Latagliata R, Buccisano F, Piciocchi A, Aloe-Spiriti MA, et al. Revised International Prognostic Scoring System (IPSS) predicts survival and leukemic evolution of myelodysplastic syndromes significantly better than IPSS and WHO Prognostic Scoring System: validation by the Gruppo Romano Mielodisplasie Italian Regional. *J Clin Oncol*. 2013;31(21):2671-7.
- Basso K, Dalla-Favera R. Roles of BCL6 in normal and transformed germinal center B cells. *Immunol Rev*. 2012;247(1):172-83.
- Jacobson JO, Wilkes BM, Kwiatkowski DJ, Medeiros LJ, Aisenberg AC, Harris NL. bcl-2 rearrangements in de novo diffuse large cell lymphoma. Association with distinctive clinical features. *Cancer*. 1993;72(1):231-6.
- Zhou K, Xu D, Cao Y, Wang J, Yang Y, Huang M. C-MYC aberrations as prognostic factors in diffuse large B-cell

- lymphoma: a meta-analysis of epidemiological studies. *PLoS One*. 2014;9(4):e95020.
25. Klapper W, Stoecklein H, Zeynalova S, Ott G, Kosari F, Rosenwald A, et al. Structural aberrations affecting the MYC locus indicate a poor prognosis independent of clinical risk factors in diffuse large B-cell lymphomas treated within randomized trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Leukemia*. 2008;22(12):2226-9.
 26. Ott G, Rosenwald A, Campo E. Understanding MYC-driven aggressive B-cell lymphomas: pathogenesis and classification. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr*. 2013;2013:575-83.
 27. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.
 28. Huang W, Medeiros LJ, Lin P, Wang W, Tang G, Khoury J, et al. MYC/BCL2/BCL6 triple hit lymphoma: a study of 40 patients with a comparison to MYC/BCL2 and MYC/BCL6 double hit lymphomas. *Mod Pathol*. 2018;31(9):1470-8.
 29. Wang W, Hu S, Lu X, Young KH, Medeiros LJ. Triple-hit B-cell Lymphoma With MYC, BCL2, and BCL6 Translocations/Rearrangements: Clinicopathologic Features of 11 Cases. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(8):1132-9.
 30. Sesques P, Johnson NA. Approach to the diagnosis and treatment of high-grade B-cell lymphomas with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements. *Blood*. 2017;129(3):280-8.
 31. Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(1):118-45.
 32. Muller KE, Marotti JD, Memoli VA, Wells WA, Tafe LJ. Impact of the 2013 ASCO/CAP HER2 Guideline Updates at an Academic Medical Center That Performs Primary HER2 FISH Testing: Increase in Equivocal Results and Utility of Reflex Immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol*. 2015;144(2):247-52.
 33. Guiu S, Michiels S, André F, Cortes J, Denkert C, Di Leo A, et al. Molecular subclasses of breast cancer: how do we define them? The IMPAKT 2012 Working Group Statement. *Ann Oncol*. 2012;23(12):2997-3006.
 34. Zardavas D, Fouad TM, Piccart M. Optimal adjuvant treatment for patients with HER2-positive breast cancer in 2015. *Breast*. 2015;24 Suppl 2:S143-8.
 35. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Lluch A, Tjulandin S, Zambetti M, et al. Neoadjuvant and adjuvant trastuzumab in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (NOAH): follow-up of a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet Oncol*. 2014;15(6):640-7.
 36. Hameed M. Molecular diagnosis of soft tissue neoplasia: clinical applications and recent advances. *Expert Rev Mol Diagn*. 2014;14(8):961-77.
 37. Delattre O, Zucman J, Melot T, Garau XS, Zucker JM, Lenoir GM, et al. The Ewing family of tumors--a subgroup of small-round-cell tumors defined by specific chimeric transcripts. *N Engl J Med*. 1994;331(5):294-9.
 38. Toquica A, Rueda X, Cervera S, Reina A, Pozzobon C, Morales SD, et al. Ewing's sarcoma metastatic to skin: a case report and review of the literature. *Int J Dermatol*. 2018;57(11):1365-8.
 39. Riely GJ, Chaft JE, Ladanyi M, Kris MG. Incorporation of crizotinib into the NCCN guidelines. *J Natl Compr Canc Netw*. 2011;9(12):1328-30.
 40. Conde E, Angulo B, Izquierdo E, Muñoz L, Suárez-Gauthier A, Plaza C, et al. The ALK translocation in advanced non-small-cell lung carcinomas: preapproval testing experience at a single cancer centre. *Histopathology*. 2013;62(4):609-16.
 41. Pekar-Zlotin M, Hirsch FR, Soussan-Gutman L, Ilouze M, Dvir A, Boyle T, et al. Fluorescence in situ hybridization, immunohistochemistry, and next-generation sequencing for detection of EML4-ALK rearrangement in lung cancer. *Oncologist*. 2015;20(3):316-22.
 42. Cabillic F, Gros A, Dugay F, Begueret H, Mesturoux L, Chiforeanu DC, et al. Parallel FISH and immunohistochemical studies of ALK status in 3244 non-small-cell lung cancers reveal major discordances. *J Thorac Oncol*. 2014;9(3):295-306.