

FISH su cellule cervicali

# Un nuovo test prognostico per la prevenzione del tumore al collo dell'utero

di G. Cecchini\* e A. Verri\*\*

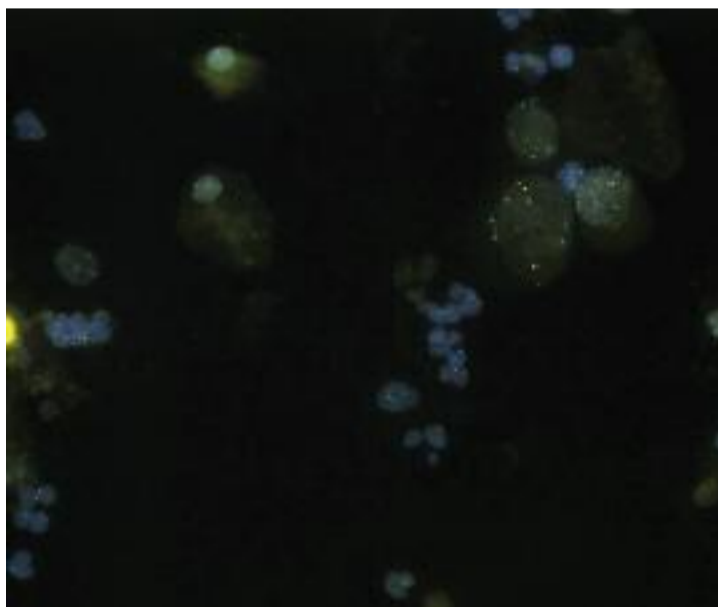
Centro Diagnostico Italiano di Milano  
 Unità di Ginecologia (\*)  
 Sezione di Genetica (\*\*)

È ormai noto che nella maggior parte delle cellule tumorali sono presenti anomalie cromosomiche specifiche. In particolare, nelle cellule cervicali in evoluzione neoplastica, l'attività della proteina telomerasi, coinvolta nel mantenimento dell'integrità del patrimonio ereditario, è aumentata rispetto alle cellule normali garantendone, in un certo senso, l'immortalità; in effetti, in queste cellule, il tratto di DNA che codifica per la telomerasi, situato sul cromosoma 3, in posizione 3q26, invece di esser presente in singola copia, come avviene nelle cellule normali, si presenta in più copie (cosiddetto gain o guadagno). Numerosi lavori scientifici e la casistica raccolta dal Centro Diagnostico Italiano di Milano, hanno dimostrato che il guadagno della regione 3q26, correlato all'integrazione di HPV nel DNA umano, procede di pari passo con la gravità della displasia ed è pertanto un valido biomarker per prognosticare l'evoluzione della lesione cervicale; a dimostrazione di questo, un gain di 3q26 è presente nel 100% circa dei carcinomi, nell'80% delle atipie di alto grado (H-SIL) e nel 20% delle atipie di basso grado (L-SIL e ASCUS).

La determinazione del numero di copie di 3q26 è possibile applicando la Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) ai nuclei delle cellule cervicali prelevate in fase liquida: con questa tecnica, in pratica, specifiche sonde fluorescenti si legano (ibridazione) al locus 3q26 e vengono successivamente lette al microscopio a fluorescenza.

Nel laboratorio analisi del Centro Diagnostico Italiano di Milano, diretto dal Dottor Grazioli, la FISH delle cellule cervicali è eseguita (anche in regime di convenzionamento

■ Grazie a un modernissimo sistema automatico di acquisizione ed elaborazione delle immagini ottenute in microscopia a fluorescenza (Ikoniscope) è possibile analizzare i risultati della FISH su oltre ottocento cellule atipiche in circa quattro ore, laddove per analizzare manualmente lo stesso numero di cellule un microscopista impiegherebbe giorni

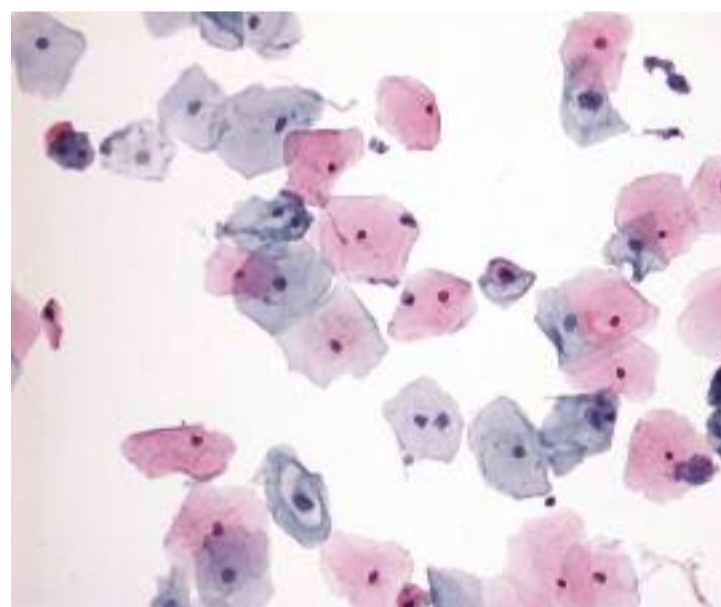


**FIGURA 1** Cellule in trasformazione, caratterizzate da dimensioni aumentate del nucleo, da un numero di segnali fluorescenti giallo-oro indicanti la regione 3q26, superiore a due, tipico di una cellula normale



Ssn) utilizzando un modernissimo sistema automatico di acquisizione ed elaborazione delle immagini ottenute in microscopia a fluorescenza (Ikoniscope). La grande innovazione di Iko-

niscope consiste nella possibilità di analizzare i risultati della FISH su un numero estremamente elevato di cellule atipiche, oltre 800 in circa quattro ore. Per avere un'idea della potenza di questo strumen-



**FIGURA 2** Colorazione di Papanicolaou di cellule cervicali su strato sottile (paptest): lesioni intraepiteliali squamose di basso grado (LSIL) in paziente positiva per Hpv 16

to basti pensare che per analizzare manualmente lo stesso numero di cellule un microscopista impiegherebbe giorni. Ogni singola cellula, selezionata come atipica sulla base della morfologia nucleare, viene fotografata su nove diversi piani focali e tutte le immagini, di cui è possibile aumentare la risoluzione e studiare il dettaglio, vengono catalogate in un archivio digitale in modo da facilitare e velocizzare il lavoro del citogenetista che può concentrarsi sull'interpretazione del risultato del test. L'utilizzo di Ikoniscope, rendendo possibile l'analisi di un elevatissimo numero di cellule, permette finalmente di valutare l'amplificazione della regione 3q26 con estrema sensibilità. L'amplificazione viene considerata significativa quando, analizzando un campione, vengono rilevate almeno 2 cellule

Per saperne di più

1. Seppo A et al. Gain of 3q26: A genetic marker in low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2009 Apr 24
2. Heselmeyer-Haddad K, Sommerfeld K, White NM, Chaudhri N, Morrison LE, Palanisamy N, Wang ZY, Auer G, Steinberg W, Ried T. Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer. *Am J Pathol.* 2005 Apr; 166(4):1229-38
3. Caraway NP, Khanna A, Dawlett M, Guo M, Guo N, Lin E, Katz RL. Gain of the 3q26 region in cervicovaginal liquid-based pap preparations is associated with squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol* 2008 Jul;110(1):37-42

Per ulteriori informazioni

Dott.ssa Annalisa Verri  
 (Citogenetista) - tel. 02.48317348  
 Dott. Giancarlo Cecchini  
 (Ginecologo) - tel 02.48317631