

# Fusiones del receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos (*FGFR2*) en el colangiocarcinoma intrahepático (CCAi)



## Alteraciones genómicas en los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (*FGFR*)

- Los *FGFR* son una familia de receptores con actividad tirosina cinasa.<sup>1,2</sup> Las vías de señalización del *FGFR* desempeñan un papel central en múltiples procesos celulares, incluida la proliferación, migración y supervivencia celular.<sup>1,2</sup>
- Las alteraciones en los genes *FGFR* han surgido como impulsores de la génesis tumoral en varios tipos de cáncer, como el CCAi, el carcinoma urotelial, las neoplasias mieloides/linfoideas y otras neoplasias malignas.<sup>1,3,4</sup>
- Se han observado amplificaciones, mutaciones y fusiones del *FGFR* en todos los subtipos del *FGFR* (*FGFR1-4*).<sup>5</sup> En el CCAi se han identificado con frecuencia reordenamientos cromosómicos que implican al *FGFR2*, lo que resulta en la creación de proteínas de fusión oncogénicas.<sup>6</sup>
- Las fusiones génicas son un tipo de alteración genómica en la que dos genes independientes o porciones de genes se yuxtaponen, lo que da lugar a un gen híbrido.<sup>7,8</sup>
- El desarrollo de proteínas de fusión con potencial oncogénico puede deberse a acontecimientos de fusión génica que implican una serie de genes de pareja diferentes.<sup>7</sup>

## Alteraciones genómicas del *FGFR*

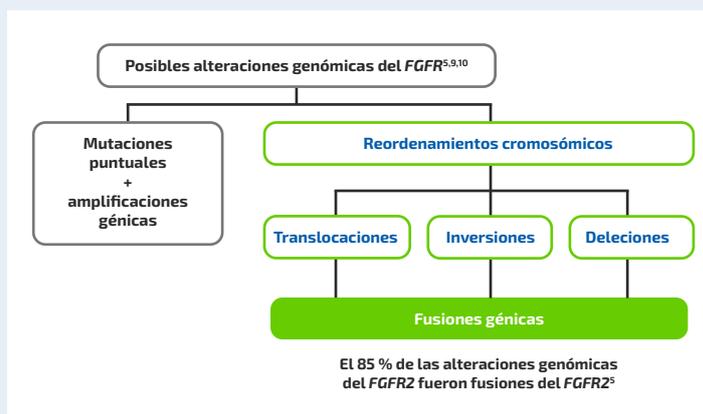


Figura basada en Jain A, et al. 2018,<sup>5</sup> Lowery MA, et al. 2018,<sup>9</sup> y Shibata T, et al. 2018.<sup>10</sup>

## Fusiones de *FGFR2*

- Las fusiones o reordenamientos del *FGFR2* se producen en el 10-16 % de los casos de CCAi.<sup>5,11-13</sup>
- Las fusiones de *FGFR2* dan lugar a la activación independiente de ligandos de vías de señalización posteriores, lo que provoca la génesis tumoral.<sup>11,14,15</sup>
- El perfil molecular tumoral es necesario para identificar las fusiones de *FGFR2*.<sup>5,9</sup> La evaluación de la positividad de la fusión de *FGFR2* debe realizarse con una prueba diagnóstica adecuada.<sup>7</sup>
- Las fusiones de *FGFR2* implican una amplia gama de parejas de fusión.<sup>9</sup> Para identificar a los pacientes con colangiocarcinoma (CCA) con fusión de *FGFR2*, es importante seleccionar un análisis que:

## Vía de señalización del *FGFR2* anómala

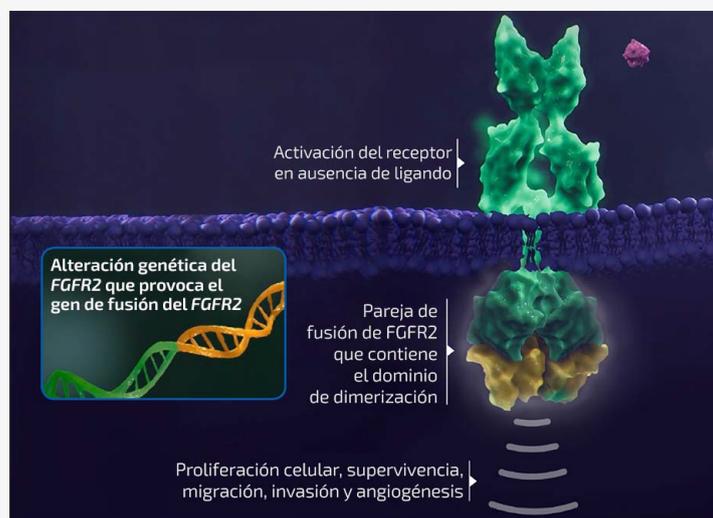


Figura adaptada de Babina IS, Turner NC. 2017,<sup>1</sup> Moeini A, et al. 2015,<sup>14</sup> y Touat M, et al. 2015.<sup>15</sup>

- Detecte específicamente fusiones de *FGFR2* (distintas de las mutaciones puntuales de *FGFR2*).<sup>16,17</sup>
- Detecte fusiones de *FGFR2* con una amplia gama de parejas de fusión.<sup>16,17</sup>
- La diversidad molecular del CCA respalda el uso de análisis de secuenciación de nueva generación (NGS) basados en ADN o ARN como estándar para detectar fusiones o reordenamientos de *FGFR2* conocidas y nuevas.<sup>18</sup>

# Métodos de análisis para la detección de fusiones de *FGFR2*

- Se pueden utilizar varios métodos con especificidad variable para detectar fusiones de *FGFR2*<sup>7</sup>

Inmunohistoquímica (IHQ)

Reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa (RT-PCR)

Hibridación fluorescente *in situ* (FISH)

Secuenciación de nueva generación (NGS)

Menos apropiado<sup>7,19-27</sup>

Más apropiado<sup>7,19-27</sup>

## Ventajas y desafíos de las diferentes metodologías de prueba para la detección de fusiones *FGFR2*

### + Ventajas

### - Retos

#### Inmunohistoquímica (IHQ)<sup>7,17</sup>

- + Proceso económico
- + Puede detectar fusiones cuando los reordenamientos provocan la sobreexpresión de la proteína fusionada
- + Puede proporcionar información sobre fusiones específicas dependiendo de la localización de las proteínas

- Sensibilidad muy baja para identificar fusiones raras
- Muchos enfoques de IHQ utilizan anticuerpos que no pueden distinguir el *FGFR2* natural de las proteínas de fusión
- No se ha demostrado que ningún método de IHQ tenga suficiente sensibilidad y especificidad para detectar fusiones del *FGFR*

#### Reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa (RT-PCR)<sup>17,20,21</sup>

- + Muy sensible
- + El ensayo se puede multiplicar para cubrir un intervalo de mutaciones dentro de una única reacción
- + Se puede realizar fácilmente utilizando muestras clínicas incluidas en parafina y fijadas en formol

- La metodología se limita a fusiones génicas del *FGFR2* con parejas de fusión conocidas
- Requiere conocimiento previo de ambas parejas de fusión; no se pueden detectar nuevas parejas de fusión
- Las sondas del análisis deben diseñarse para cada combinación de fusión específica
- Sensible a la contaminación cruzada asociada al arrastre de productos de PCR

#### Hibridación fluorescente *in situ* (FISH)<sup>7,22-25</sup>

- + Proceso económico
- + Metodología bien establecida y ampliamente disponible en los laboratorios clínicos
- + No requiere células vivas
- + Se puede realizar fácilmente en muestras clínicas fijadas en formol e incluidas en parafina
- + Las sondas de FISH con separación pueden detectar parejas de fusión desconocidas
- + Tiempo de respuesta relativamente rápido

- Método de baja resolución
- Se limita principalmente a la detección de ADN
- Los reordenamientos complejos no suelen ser fácilmente detectables
- Los reordenamientos intracromosómicos, que representan aproximadamente el 50 % de las fusiones de *FGFR2* en el colangiocarcinoma intrahepático, pueden provocar resultados falsos negativos
- Las sondas de FISH con separación no pueden identificar a la pareja de fusión
- Trabajo intensivo y requiere anatomopatólogos experimentados

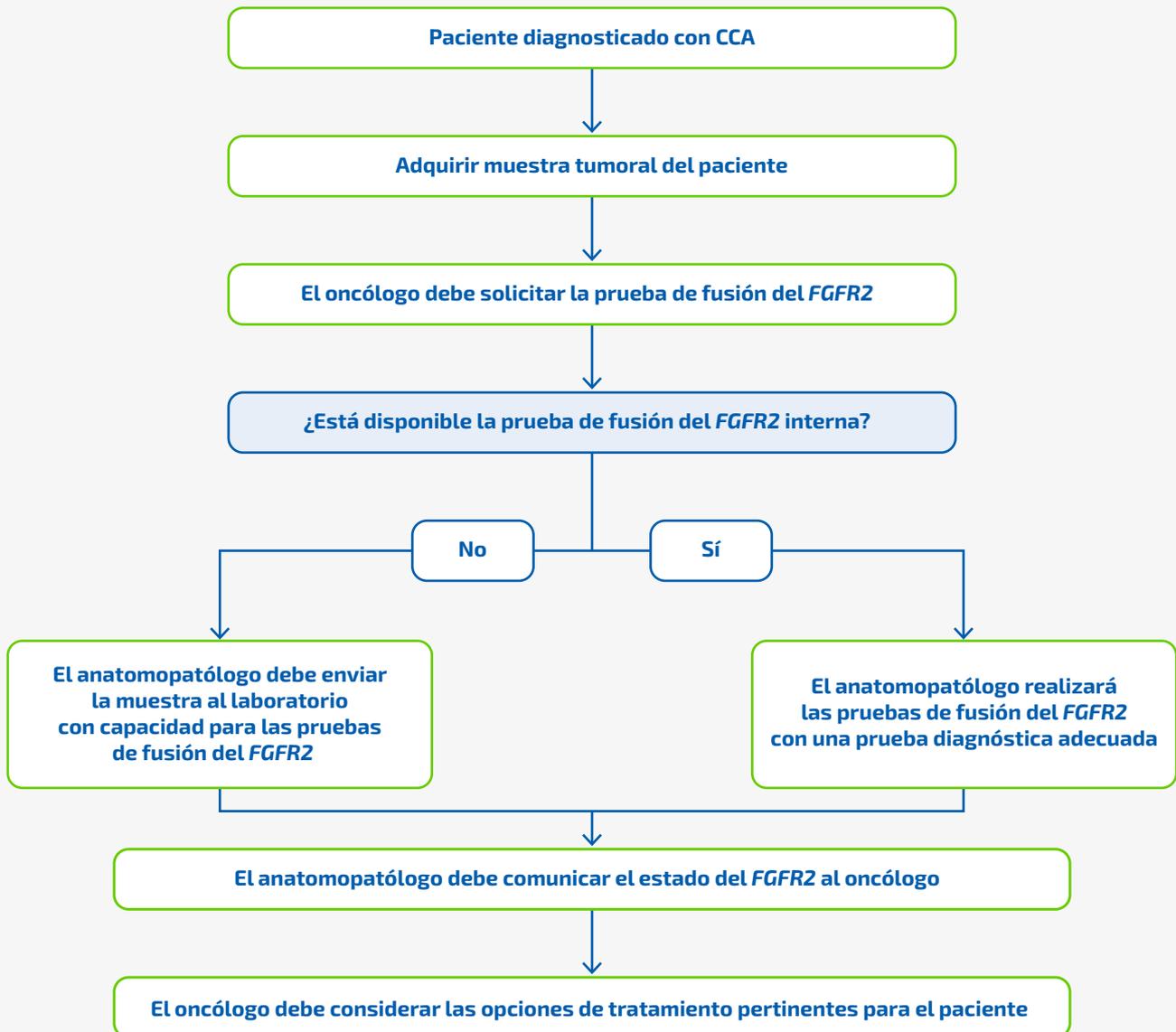
#### Secuenciación de nueva generación (NGS)<sup>7,22,23,26,27</sup>

- + Múltiples dianas analizadas simultáneamente en una sola muestra
- + Alta sensibilidad y especificidad
- + Detecta fusiones tanto conocidas como nuevas, independientemente de los puntos de rotura o de las parejas de fusión (dependiendo del método de preparación de bibliotecas)
- + Hay disponibles kits comerciales que cubren fusiones génicas
- + **Basado en ARN:** Puede distinguir las fusiones génicas transcritas en el mismo marco de lectura frente a las fusiones fuera del marco de lectura y evitar dificultades de secuenciación de regiones intrónicas grandes

- Tiempo de respuesta lento
- No es rentable para los números de muestra pequeños
- Requiere bioinformática y personal formado
- **Basado en ADN:** La detección de fusiones nuevas puede ser limitada, especialmente cuando hay grandes regiones de intrones afectadas
- **Basado en ARN:** La sensibilidad depende de los niveles de expresión del nuevo gen de fusión; el ARN es menos estable que el ADN

La Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) recomienda el uso regular de la NGS para detectar fusiones del *FGFR2* en el CCA avanzado<sup>28</sup>

## Algoritmo propuesto de como se pueden incorporar las pruebas de fusión del *FGFR2* a un estudio diagnóstico



CCA: colangiocarcinoma; *FGFR2*: receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos.



Visite [www.incyte.com/what-we-do/clinical-trials](http://www.incyte.com/what-we-do/clinical-trials) para aprender más sobre los ensayos clínicos patrocinados por Incyte para pacientes con CCA y fusiones o reordenamientos *FGFR2*

## Un enfoque de equipo multidisciplinar (EMD) es crucial para optimizar la atención de los pacientes en el CCAI<sup>29</sup>

- Como parte de este enfoque del EMD, se debe considerar un plan de perfil molecular tumoral al principio de la trayectoria terapéutica de su paciente
- Consideraciones clave para la caracterización molecular:<sup>30</sup>
  - ✓ Determinar qué genes clínicamente pertinentes analizar
  - ✓ Comprender los requisitos de la muestra de prueba (cantidad y calidad)
  - ✓ Comprender las fortalezas y limitaciones de diferentes metodologías de prueba
  - ✓ Comprender los tiempos de obtención
  - ✓ Comprender las implicaciones clínicas de los resultados de las pruebas

## Los programas externos de garantía de calidad son esenciales para garantizar un análisis de biomarcadores clínicos preciso y fiable<sup>31</sup>



Visite [www.iqnpath.org](http://www.iqnpath.org) para obtener más información sobre los sistemas de garantía de calidad externa para las pruebas moleculares en Europa

### REFERENCIAS:

1. Babina IS, Turner NC. *Nat Rev Cancer*. 2017;17:318–32.
2. Turner N, Grose R. *Nat Rev Cancer*. 2010;10:116–29.
3. Pandith AA, et al. *Urol Oncol*. 2013;31:398–406.
4. Gallo LH, et al. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2015;26:425–49.
5. Jain A, et al. *JCO Precis Oncol*. 2018;2:1–12.
6. Fangda L, et al. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020;52:56–67.
7. DeLuca A, et al. *Int J Mol Sci*. 2020;21:6856.
8. Latysheva S, Babu M. *Nucleic Acids Res*. 2016;10:4487–50.
9. Lowery MA, et al. *Clin Cancer Res*. 2018;24:4154–61.
10. Shibata T, et al. *Cancer Sci*. 2018;109:1282–91.
11. Ross JS, et al. *Oncologist*. 2014;19:235–42.
12. Farshidfar F, et al. *Cell Rep*. 2017;18:2780–94.
13. Graham RP, et al. *Hum Pathol*. 2014;45:1630–8.
14. Moeini A, et al. *Clin Cancer Res*. 2015;22:291–300.
15. Touat M, et al. *Clin Cancer Res*. 2015;21:2684–94.
16. Silverman IM, et al. *Cancer Discov*. 2021;11:326–39.
17. Barr FG. *Expert Rev Mol Diagn*. 2016;16:921–3.
18. Abou-Alfa GK, et al. *Lancet Oncol*. 2020;21:671–84.
19. Malka D, et al. *EMJ Oncol*. 2020;8:82–94.
20. Peter M, et al. *Lab Invest*. 2001;91:905–12.
21. Arai Y, et al. *Hepatology*. 2014;59:1427–34.
22. Abel H, et al. *J Mol Diagn*. 2014;16:405–17.
23. Beadling C. *J Mol Diagn*. 2016;18:165–75.
24. Hu L, et al. *Biomark Res*. 2014;2:3.
25. Maruki Y, et al. *J Gastroenterol*. 2020; doi: 10.1007/s00535-020-01735-2.
26. Serrati S, et al. *Onco Targets Ther*. 2016;9:7355–65.
27. Jennings LJ, et al. *J Mol Diagn*. 2017;19:341–65.
28. Mosele F, et al. *Ann Oncol*. 2020;31:1491–505.
29. Patel T. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8:189–200.
30. Damodaran S, et al. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015;e175–82.
31. Dufraing K, et al. *Virchows Arch*. 2021;478:553–65.