

Expertos Invitados

GUIAS DIAGNOSTICAS Y TERAPEUTICAS PARA LA HEPATITIS AUTOINMUNE



Columnista Experto de SIIC
Dr. Albert J. Czaja

Professor of Medicine, Consultant in Gastroenterology & Hepatology. Hepatology, chronic hepatitis, autoimmune hepatitis.

Antecedentes y criterios diagnósticos

La hepatitis autoinmune (HAI) es la inflamación no resuelta del hígado de etiología desconocida.¹⁻³ El diagnóstico puede sospecharse en todos los pacientes con enfermedad hepática aguda o crónica.⁴ Es común el comienzo agudo de la patología (40%),⁵ aunque es posible la presentación fulminante.⁶ Puede recurrir luego del trasplante hepático (recurrencia del 17% o más)⁷ o aparecer *de novo* en individuos sometidos a trasplante por enfermedades hepáticas no autoinmunes (3% a 5% de ocurrencia).⁸ Los criterios diagnósticos fueron elaborados por un panel internacional y se propuso un sistema de puntuación para evaluar la solidez diagnóstica antes y después de la terapia corticoidea.⁹ Los autoanticuerpos convencionales utilizados en la categorización de HAI son: anticuerpos antinucleares (ANA), anticuerpos antimúsculo liso (SMA) y anticuerpos antimicrosoma tipo 1 hepático/renal (anti-LKM1).^{10,11} Los autoanticuerpos auxiliares que mejoran la especificidad diagnóstica o el tratamiento dirigido son los anticuerpos antiendomiso, antihistonas, anti-ADN de doble cadena, antiactina y anticuerpos citoplasmáticos perinucleares antineutrófilos atípicos. Los autoanticuerpos que tienen un creciente valor y significado pronóstico son los anticuerpos antiantígeno hepático soluble del hígado/páncreas, anticromatina y antiantígenos del complejo del poro nuclear.¹⁰⁻¹¹

Tipos

Hay dos tipos de HAI que tienen marcadores serológicos y hallazgos clínicos característicos.¹² La HAI tipo 1 es la más común en todo el mundo y se caracteriza por la presencia de ANA, de SMA o de ambos. El tipo 1 de HAI se asocia con HLA DR3 (*DRB1*0301*) y DR4 (*DRB1*0401*) en personas de raza blanca noreuropeas y norteamericanas;¹³ los pacientes con *DRB1*0301* comienzan con la enfermedad a edad más temprana y presentan alta frecuencia de fracaso terapéutico, recaídas luego de la discontinuación de las drogas y mayor requerimiento de trasplante hepático en comparación con los individuos con otros alelos.¹⁴ La HAI tipo 2 se caracteriza por la presencia de anti-LKM1¹⁵ y *DRB1*0701* se implicó como un factor de susceptibilidad,¹⁶ su autoantígeno es la citocromo monooxigenasa CYP2D6.¹⁷

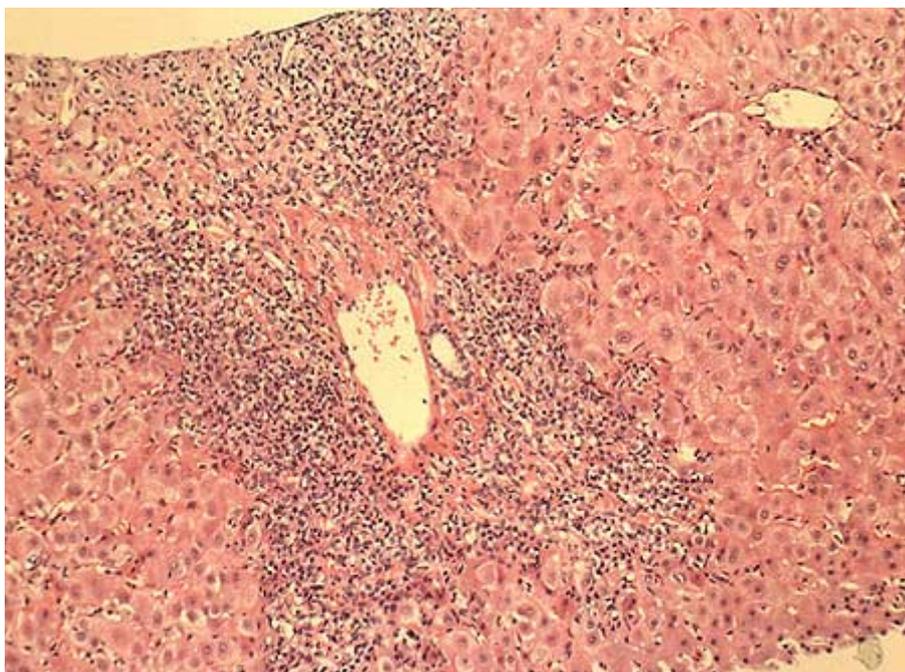


Figura 1: Hepatitis periférica. El tracto portal está expandido por un infiltrado mononuclear; la lámina limitante está desorganizada y el proceso inflamatorio se extiende hacia el acino. Hematoxilina y eosina x 200.

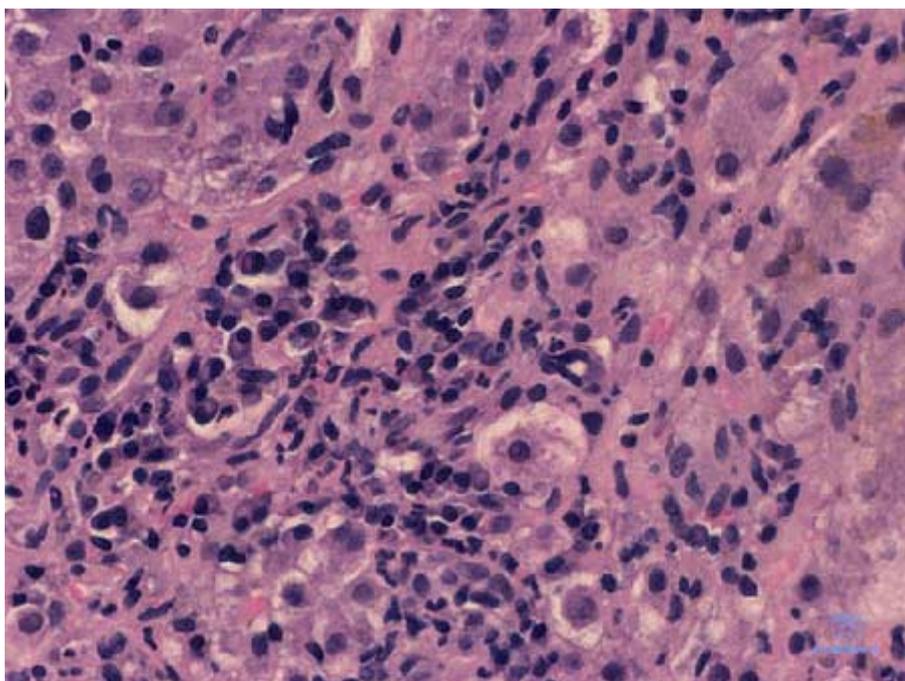


Figura 2: Infiltrado de células plasmáticas. Las células plasmáticas se identifican por sus núcleos excéntricos, esféricos y una media luna citoplasmática perinuclear pálida. Son característicos de la hepatitis autoinmune, pero no son patognomónicos de la enfermedad ni se requieren para su diagnóstico. Hematoxilina y eosina x 400.

Regímenes terapéuticos

La prednisona sola o en combinación con azatioprina es efectiva para todos los tipos de HAI.³⁻⁴ El régimen combinado se asoció con aparición menos frecuente de efectos adversos relacionados con los corticoides en comparación con las altas dosis de prednisona (10% *versus* 44%) y es el tratamiento preferido en los adultos. La terapia se continúa hasta la remisión, el fracaso terapéutico, la respuesta incompleta o la toxicidad de las drogas.^{3,4}

Resultados terapéuticos

La remisión se produce dentro de los 18 meses en 65% de los pacientes tratados y, en el 80%, dentro de los 3 años (duración media del tratamiento, 22 meses).⁴ La mejoría histológica se produce 3 a 8 meses después de la mejoría clínica y de laboratorio. La expectativa de vida a 20 años excede el 80% y es similar a la de las personas normales.¹⁸ Los corticoides disminuyen los puntajes de fibrosis en 53% de los pacientes durante una media de seguimiento que supera los 4

años y reducen la fibrosis o evitan su progresión en 79% de los individuos durante una media de seguimiento que excede los 5 años.¹⁹

El fracaso terapéutico se produce en el 9% de los sujetos⁴ y requiere la institución de terapia con altas dosis de prednisona sola (60 mg/día) o prednisona (30 mg/día) en combinación con azatioprina (150 mg/día). La aparición de encefalopatía hepática, ascitis o hemorragia por várices esofágicas durante la terapia para el fracaso terapéutico constituye una indicación para el trasplante de hígado.

Se requiere terapia corticoidea prolongada (por 3 años o más) en el 13% de los pacientes⁴ para la cual es mejor utilizar bajas dosis de prednisona (< 10 mg/día)²⁰ o azatioprina sola (2 mg/kg/día).²¹ Se presenta toxicidad por drogas en 13% de los individuos⁴ y el tratamiento con el agente tolerado puede mantenerse frecuentemente con la dosis ajustada hasta el control de la actividad de la enfermedad.

Las recaídas se producen en 50% de los pacientes dentro de los 6 meses siguientes a la suspensión de las drogas y justifican el reinicio del tratamiento.²² Las recaídas repetidas luego del cese de los corticoides pueden tratarse con prednisona en bajas dosis (< 10 mg/día)²⁰ o con azatioprina (2 mg/kg/día).²¹

La supervivencia a 5 años del paciente y del injerto luego del trasplante hepático oscila entre 83% y 92% y la supervivencia a 10 años después del trasplante es de 75%.²³ La hepatitis autoinmune recurre en al menos 17%.⁷ Las personas que recibieron trasplante por HAI tuvieron una frecuencia mayor de rechazo agudo y crónico y mayor dificultad para la suspensión de la terapia corticoidea²⁴ comparadas con los pacientes sometidos a trasplante por otras razones.

Indicaciones terapéuticas

Las indicaciones absolutas para la terapia corticoidea reflejan los índices de gravedad de la enfermedad que se asocian con mortalidad temprana.⁴ Los niveles séricos persistentemente elevados de aspartato aminotransferasa (AST) de al menos 10 veces el valor normal o de al menos 5 veces el valor normal en conjunción con niveles séricos de gammaglobulina de al menos el doble del valor normal se relacionaron con una mortalidad a 6 meses del 40% si no se instituyó el tratamiento adecuado.²⁵ La necrosis en puente o la necrosis multiacinar progresa a cirrosis en 82% de los pacientes no tratados y cada patrón se asoció con una mortalidad del 45% a 5 años.²⁶ Los hallazgos de laboratorio o histológicos de este grado requieren terapia corticoidea inmediata. La preexistencia de cirrosis histológica no altera la expectativa de mejoría con el tratamiento. No se establecieron guías terapéuticas por ensayos clínicos controlados para los pacientes con enfermedad menos grave al momento de presentación. Los enfermos no tratados con hepatitis periférica tienen una probabilidad de cirrosis dentro de los 5 años del 17% y una expectativa de vida normal a 5 años.²⁶ Los pacientes con anomalías de laboratorio leves a moderadas no tratados tienen una supervivencia del 90% a 10 años.²⁷ Las indicaciones terapéuticas en la HAI de grado leve deben estar individualizadas y los síntomas, el comportamiento de la enfermedad y el potencial para efectos adversos relacionados con las drogas deben equilibrarse unos contra otros. La ausencia de síntomas, de hepatitis periférica o focal en el examen histológico, de cirrosis inactiva, de citopenia grave u otras patologías comórbidas contraindica la terapia.⁴ Los pacientes con mayor probabilidad de resultados adversos son aquellos con mayor riesgo de intolerancia a las drogas, como los individuos con cirrosis inactiva avanzada, osteopenia posmenopáusica o compresión vertebral, labilidad emocional o psicosis, hipertensión mal controlada y diabetes lábil.

Variantes sindrómicas

Los pacientes con características de HAI y otras enfermedades hepáticas o con hallazgos incompatibles con un diagnóstico definitivo de HAI constituyen las variantes sindrómicas.²⁸ El 13% de los adultos tienen hallazgos concurrentes que sugieren cirrosis biliar primaria (CBP), colangitis esclerosante primaria (PSC) o síndrome colestásico en ausencia de CBP y PSC (colangitis autoinmune). El reconocimiento de estas variantes puede explicar la mala respuesta a los corticoides, especialmente si el nivel sérico de fosfatasa alcalina es dos veces mayor que el límite superior de lo normal.

Limitaciones diagnósticas y terapéuticas

La historia natural de la HAI leve con pocos síntomas o asintomática no está bien descrita y los riesgos y beneficios de la terapia corticoidea en estos pacientes no se han aclarado. El tratamiento de la hepatitis crónica con anticuerpos negativos de causa desconocida no está estandarizado y deben estudiarse las estrategias de recuperación efectivas que utilizan los nuevos agentes

inmunosupresores actualmente disponibles para el fracaso terapéutico, la respuesta incompleta y la toxicidad por drogas. El significado clínico y las consecuencias terapéuticas de la necrosis centrolobular (zona 3), hepatitis panacinar y lesión de los conductos biliares no se han determinado y el espectro histológico de la HAI permanece incierto. Debe determinarse el papel de las pruebas de rutina para la actividad de tiopurina metiltransferasa antes del tratamiento con azatioprina.

Deben examinarse exhaustivamente las terapias de primera línea que se usaron exitosamente en una limitada fracción de niños sin tratamiento²⁹ y adultos con enfermedad leve³⁰ y debe determinarse la farmacocinética de los regímenes terapéuticos convencionales y emergentes para permitir la titulación individual de la dosis para una eficacia y tolerancia óptimas.

Los requerimientos terapéuticos para los pacientes de diferentes razas y predisposición genética deben clarificarse y deben establecerse las definiciones de respuesta al tratamiento, la medición de la eficacia de las drogas y los criterios de valoración de la terapia. Debe definirse el papel de la evaluación histológica en el proceso de toma de decisiones y debe medirse la adecuación de las metas terapéuticas realizables contra los riesgos asociados con la práctica de los objetivos ideales. Deben elaborarse estrategias uniformes para tratar las recaídas luego de la suspensión de las drogas y redefinirse los conceptos de terapia de mantenimiento y tratamiento indefinido para clarificar las indicaciones, índices de respuesta e intervalos de vigilancia.

El tratamiento de la HAI luego del trasplante hepático, incluidas la evolución sin complicaciones, la HAI recurrente y la enfermedad *de novo*, debe detallarse para la elaboración de criterios diagnósticos y requerimientos terapéuticos para cada posible resultado. Deben realizarse algoritmos para el diagnóstico y tratamiento de las variantes sindrómicas e introducirse nuevas drogas y tecnologías sobre la base del conocimiento de los mecanismos patogénicos pertinentes y la disponibilidad de modelos animales reproducibles. Deben explorarse terapias como las vacunas con células T, terapia génica, tolerancia oral, manipulación de citoquinas y bloqueo de péptidos antigénicos.⁵ Las oportunidades para mejorar los tratamientos son vastas mediante la comprensión de las estrategias terapéuticas individualizadas, la selección de pacientes, los mecanismos de monitoreo adecuados y diversos avances tecnológicos que incorporan medicamentos inmunosupresores promisorios y manipulaciones moleculares dirigidas a los mecanismos patogénicos específicos.

El autor no manifiesta conflictos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Czaja AJ. Autoimmune hepatitis: evolving concepts and treatment strategies. *Dig Dis Sci* 1995;40:435-456.
2. Al-Khalidi JA, Czaja AJ. Current concepts in the diagnosis, pathogenesis, and treatment of autoimmune hepatitis. *Mayo Clin Proc* 2001;76:1237-1252.
3. Czaja AJ, Freese DK. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2002;36:479-497.
4. Czaja AJ. Treatment of autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002;22:365-377.
5. Nikias GA, Batts KP, Czaja AJ. The nature and prognostic implications of autoimmune hepatitis with an acute presentation. *J Hepatol* 1994;21:866-871.
6. Porta G, Da Costa Gayotto LC, Alvarez F. Anti-liver-kidney microsome antibody-positive autoimmune hepatitis presenting as fulminant liver failure. *J Ped Gastroenterol Nutrition* 1990;11:138-140.
7. González-Koch A, Czaja AJ, Carpenter HA, et al. Recurrent autoimmune hepatitis after orthotopic liver transplantation. *Liver Transplantation* 2001;4:302-310.
8. Kerkar N, Hadzic N, Davies ET, et al. De-novo autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Lancet* 1998;353:409-413.
9. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, et al. International Autoimmune Hepatitis Group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999;31:929-938.
10. Czaja AJ, Homburger HA. Autoantibodies in liver disease. *Gastroenterology* 2001;120:239-249.
11. Czaja AJ, Norman GL. Antibodies in the diagnosis and treatment of liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2003;37:315-329.
12. Czaja AJ, Manns MP. The validity and importance of subtypes of autoimmune hepatitis: a point of view. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1206-1211.
13. Donaldson PT, Doherty DG, Hayllar KM, et al. Susceptibility to autoimmune chronic active hepatitis: human leukocyte antigens DR4 and A1-B8-DR3 are independent risk factors. *Hepatology* 1991;13:701-706.
14. Czaja AJ, Strettell MDJ, Thomson LJ, et al. Associations between alleles of the major histocompatibility complex and type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1997;25:317-323.
15. Homberg J-C, Abuaf N, Bernard O, et al. Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis. *Hepatology* 1987;7:1333-1339.
16. Bittencourt PL, Goldberg AC, Cancado ELR, et al. Genetic heterogeneity in susceptibility to autoimmune hepatitis types 1 and 2. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1906-1913.
17. Manns MP, Griffin KJ, Sullivan KF, et al. LKM-1 autoantibodies recognize a short linear sequence in P450IID6, a cytochrome P-450 monooxygenase. *J Clin Invest* 1991;88:1370-1378.

18. Roberts SK, Therneau T, Czaja AJ. Prognosis of histological cirrhosis in type 1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1996;110:848-857.
19. Czaja AJ, Carpenter HA. Decreased fibrosis during corticosteroid therapy of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 40:644-650, 2004.
20. Czaja AJ. Low dose corticosteroid therapy after multiple relapses of severe HBsAg-negative chronic active hepatitis. *Hepatology* 1990;11:1044-1049.
21. Johnson PJ, McFarlane IG, Williams R. Azathioprine for long-term maintenance of remission in autoimmune hepatitis. *N Engl J Med* 1995;333:958-963.
22. Czaja AJ, Ammon HV, Summerskill WHJ. Clinical features and prognosis of severe chronic active liver disease (CALD) after corticosteroid-induced remission. *Gastroenterology* 1980;78:518-523.
23. Wiesner RH, Demetris AJ, Belle SH, et al. Acute allograft rejection: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Hepatology* 1998;28:638-645.
24. Hayashi M, Keefe EB, Krams SM, et al. Allograft rejection after liver transplantation for autoimmune liver disease. *Liver Transplantation and Surgery* 1998;4:208-214.
25. Soloway RD, Summerskill WHJ, Baggenstoss AH, et al. Clinical, biochemical, and histological remission of severe chronic active liver disease: a controlled study of treatments and early prognosis. *Gastroenterology* 1972;63:820-833.
26. Schalm SW, Korman MG, Summerskill WHJ, et al. Severe chronic active liver disease. Prognostic significance of initial morphologic patterns. *Am J Dig Dis* 1977;22:973-980.
27. DeGroote J, Fevery J, Lepoutre L. Long-term follow-up of chronic active hepatitis of moderate severity. *Gut* 1978;19:510-513.
28. Czaja AJ. Frequency and nature of the variant syndromes of autoimmune liver disease. *Hepatology* 1998;28:360-365.
29. Alvarez F, Ciocca M, Canero-Velasco C, et al. Short-term cyclosporine induces a remission of autoimmune hepatitis in children. *J Hepatol* 1999;30:222-227.
30. Malekzadeh R, Nasser-Moghaddam S, Kaviani M-J, et al. Cyclosporin-A is a promising alternative to corticosteroids in autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2001;46:1321-1327.

EXPRESION DE p73 EN RELACION CON FACTORES CLINICOS, PATOLOGICOS Y BIOLÓGICOS EN TUMORES COLORRECTALES



Columnista Experto de SIIC
Dr. Xiao-Feng Sun

Associate Prof. Pathology.

Introducción

El gen p73 codifica una proteína que contiene dos polipéptidos distintos: α y β .¹ La proteína comparte más de un 60% de los aminoácidos con la región de unión al ADN de la p53, incluso todos los puntos vulnerables para mutaciones de p53 en tumores. La p73 también tiene 38% de identidad con el dominio de tetramerización de p53 y 29% de identidad con el dominio de transactivación.² La p73 puede inhibir el crecimiento celular e inducir apoptosis, lo cual indica que es un supresor de tumores del tipo de p53. Sin embargo, los estudios mostraron que la pérdida de heterocigotía (*loss of heterozygosity*, LOH) y la mutación de p73 no son eventos genéticos comunes en el desarrollo tumoral.³ Por el contrario, se encontró mayor expresión de p73 en varios tumores en comparación con el correspondiente tejido normal.⁴⁻⁸ La activación de un alelo silencioso o la expresión exagerada de p73 pueden contribuir con el desarrollo neoplásico. Aún no se sabe si la p73 es un gen supresor de tumores; su significado clinicopatológico no ha sido bien estudiado en pacientes con cáncer colorrectal.

En este estudio, evaluamos la expresión de p73 en tumor colorrectal primario, mucosa normal correspondiente y metástasis ganglionares con la finalidad de determinar si la p73 está involucrada en el desarrollo tumoral y si se asocia con los hallazgos clinicopatológicos y biológicos.

Pacientes y métodos

Pacientes

En total se estudiaron en el Departamento de Patología de la Universidad de Linköping, Suecia, 256 enfermos con adenocarcinoma colorrectal diagnosticado entre 1972 y 1996. Los pacientes fueron seguidos hasta el final de 2003; 103 enfermos fallecieron como consecuencia del tumor. A partir de los registros quirúrgicos y anatomopatológicos se conoció el sexo, la edad, la localización de la neoplasia y el estadio Dukes de cada enfermo. La media de edad fue 70 años (intervalo, 34 a 93).

Los tumores localizados a la derecha incluyeron neoplasias en colon ascendente y transversal; los de la izquierda fueron aquellos ubicados en colon descendente, colon sigmoide y recto. El patrón de crecimiento, la diferenciación, la infiltración inflamatoria y la necrosis fueron evaluados por dos investigadores. Mediante inmunohistoquímica se conoció la expresión de ras,⁹ p53,¹⁰ DCC¹¹ y Bax,¹² así como la mutación de MBD4¹³ y RIZ¹⁴ por estudio de secuencia de ADN, previamente realizado en nuestro laboratorio.

Métodos

Inmunotransferencia: El anticuerpo p73 usado es un anticuerpo policlonal de cabra (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, EE.UU.) contra un péptido de la región terminal COOH de la p73 β de origen humano; sin embargo, reacciona contra la p73 α y la p73 β de origen humano. Las proteínas de las líneas celulares de melanoma se separaron mediante electroforesis y luego se transfirieron a la membrana, que fue lavada en solución salina de fosfato con Tween (PBS-Tween) y luego incubada y bloqueada con leche. La membrana se incubó con el primer anticuerpo y, luego del lavado, se incubó con el segundo anticuerpo (DAKO, Carpilenta, CA, EE.UU.). Finalmente, después del lavado, se agregó un reactivo ECL Plus con desarrollo de la membrana por exposición de la película, mostrando sólo una banda de 73 kDa (figura 1).



Figura 1. Expresión de p73 en línea celular de melanoma, por inmunotransferencia. La proteína p73 puede verse a los 73 kD.

Inmunohistoquímica: Las secciones de bloques tisulares embebidos en parafina se desparafinaron con xileno y se rehidrataron. La actividad de la peroxidasa endógena se bloqueó con H₂O₂ al 0.5% en metanol. Con la finalidad de exponer los epitopes enmascarados, las secciones se incubaron con solución citrato (pH 6.0) a 80°C durante 10 minutos y luego se dejaron a temperatura ambiente. Luego de un lavado con PBS-Tween-20, los cortes se trataron con polvo bloqueante (BioGenex, San Ramon, CA, EE.UU.) durante 10 minutos para suprimir la fijación basal inespecífica. Luego del lavado, el primer anticuerpo diluido 1:150 en el diluyente (Dako Co, Glostrup, Dinamarca) se aplicó a 4°C durante toda la noche. Posteriormente, las secciones se incubaron con anti-IgG de cabra producida en asno y marcada con biotina durante 30 minutos, seguido de ABC de cabra (Santa Cruz Biotechnology) por otros 30 minutos. La reacción de peroxidasa se efectuó con el agregado de solución de tetrahidrocloruro de 3,3- diaminobencidina al 0.05% (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.) y H₂O₂ al 0.02% en PBS durante 8 minutos. Luego las secciones fueron teñidas con una segunda tinción de contraste. La mucosa normal análoga, los tumores primarios y las metástasis ganglionares se teñieron en la misma corrida de inmunofijación para evitar sesgo sobre el patrón e intensidad del teñido. En cada corrida con el primer anticuerpo o con PBS se incluyeron secciones que reaccionan con fuerza con el anti-p73, como controles positivos o negativos. En todos los procedimientos de fijación, los controles positivos mostraron una fijación manifiesta mientras que hubo ausencia completa de fijación en los controles negativos.

Las muestras fueron analizadas en forma independiente por dos patólogos que desconocían datos clínicos e histológicos. Con la finalidad de evitar artefactos no se contaron las células en los márgenes de las secciones y las regiones con morfología pobre. Se consideró expresión negativa en el caso de ausencia de células tumorales positivas y equívoca cuando hubo menos de 10% de células tumorales positivas. Los casos positivos –con áreas de inmunorreactividad de más del 10%– se clasificaron como débiles, moderados y fuertes en virtud de la intensidad de fijación.

Pérdida de heterocigotía: Se extrajo el ADN del tejido tumoral; el ADN de muestras correspondientes de mucosa normal fue heterocigota. Los productos de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) se fragmentaron con Sty I (Fermentas, Vilna, Lituania), se controlaron en gel de agarosa al 3% y se compararon con el genotipo de mucosa normal.

Análisis estadístico: Se usó la prueba de χ^2 y el método de McNemar para determinar la significación de la diferencia en frecuencia de p73 entre muestras normales, tumor primario y metástasis, así como la asociación entre la expresión de p73 con otros factores clinicopatológicos. Se empleó el modelo de riesgo proporcional de Cox para estimar la relación entre la expresión de p73 y la supervivencia. Las curvas de descripción de supervivencia se computarizaron según el

método Kaplan-Meier. Las pruebas fueron de dos colas y se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 5\%$.

Resultados y discusión

Analizamos la LOH en 52 tumores primarios y ninguno de ellos mostró LOH. Recientemente, Bengard y col. revisaron varios tipos de tumores, como cáncer colorrectal, gástrico, esofágico, hepatocelular, de mama, de cabeza y cuello, ovárico, renal, del sistema nervioso central, neoplasias hematológicas, melanoma y neuroblastoma y mostraron que la pérdida alélica (0.6% de 1 426 casos) y las mutaciones (20% de 1 049 casos) del gen p73 no son eventos genéticos principales en la carcinogénesis y el desarrollo tumoral. Todo indica que la p73 no funciona como gen supresor de tumores en la carcinogénesis.

En función de las similitudes clinicopatológicas, en el estudio actual, los casos con tinción negativa o equívoca se consideraron negativos, mientras que los casos con fijación débil, moderada o fuerte se agruparon como positivos. La frecuencia de expresión de p73 aumentó desde mucosa normal (19%) a tumores primarios (67%) y a metástasis (95%, Figura 2). Aun en muestras pareadas, la frecuencia e intensidad de expresión de p73 estuvieron aumentadas desde tejido normal a tumor primario y metástasis ($p < 0.05$, figura 3). Estudios previos mostraron que la transcripción de ARN mensajero de p73 está aumentada en tumores en comparación con el tejido adyacente normal, incluso en cánceres colorrectales,⁴ mama,⁵ vejiga,⁶ pulmón⁷ y próstata.⁸ En conjunto, estos resultados indican que la p73 puede estar involucrada en la aparición y agresividad de los cánceres colorrectales. Sin embargo, la activación de alelos silenciosos o la expresión excesiva de p73, podría contribuir más en la carcinogénesis que con la supresión del tumor.

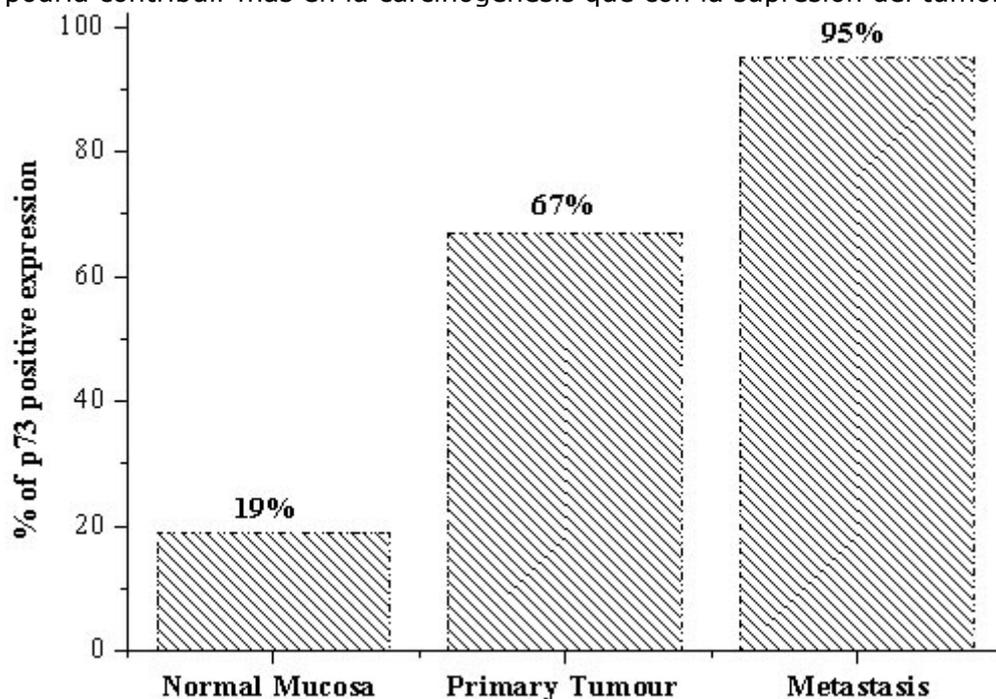


Figura 2. La frecuencia de expresión de p73 aumentó desde mucosa normal a tumor primario y a metástasis en ganglios linfáticos.

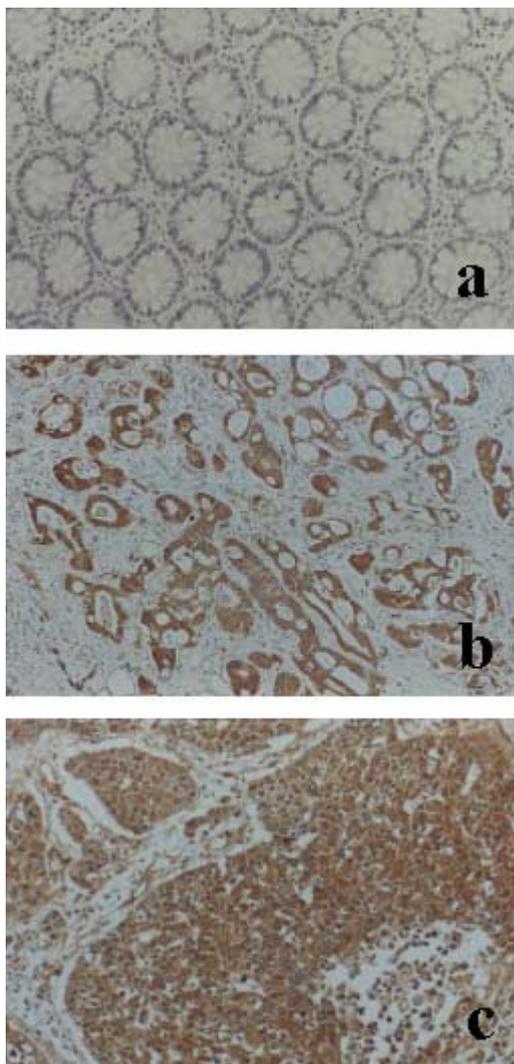


Figura 3. La mucosa normal no expresa la proteína p73 (a), las células del tumor primario correspondiente muestran fuerte expresión (b) y las metástasis correspondientes muestran fijación aun más marcada (c). Las secciones se tiñeron también con hematoxilina.

La asociación de la expresión de p73 con variables clinicopatológicas se presenta en la tabla 1. La expresión de p73 se correlacionó con la edad avanzada de los enfermos ($p = 0.01$). No pudimos encontrar correlación entre la expresión de p73, sexo, localización, estadio Dukes, patrón de crecimiento, diferenciación, infiltración y necrosis ($p \geq 0.05$). Los pacientes con tumores p73 positivos tuvieron pronóstico significativamente más desfavorable respecto de los enfermos con tumores p73 negativos ($p = 0.03$, figura 4). En el análisis de variables múltiples, después del ajuste según parámetros clínicos y patológicos, el significado pronóstico de la expresión de p73 se mantuvo ($p = 0.01$, tabla 2). Liu y col. también encontraron que la mayor expresión de p73, determinada por inmunohistoquímica, se relacionó con sobrevida más corta en pacientes con cáncer colorrectal. Guan y col. revelaron que la expresión de p73 se relacionó con la angiogénesis en carcinomas colorrectales. No encontraron ninguna relación entre la expresión de p73, la diferenciación, el estadio, la localización y el tamaño.^{15,16}

[Tabla 1](#)

[Tabla 2](#)

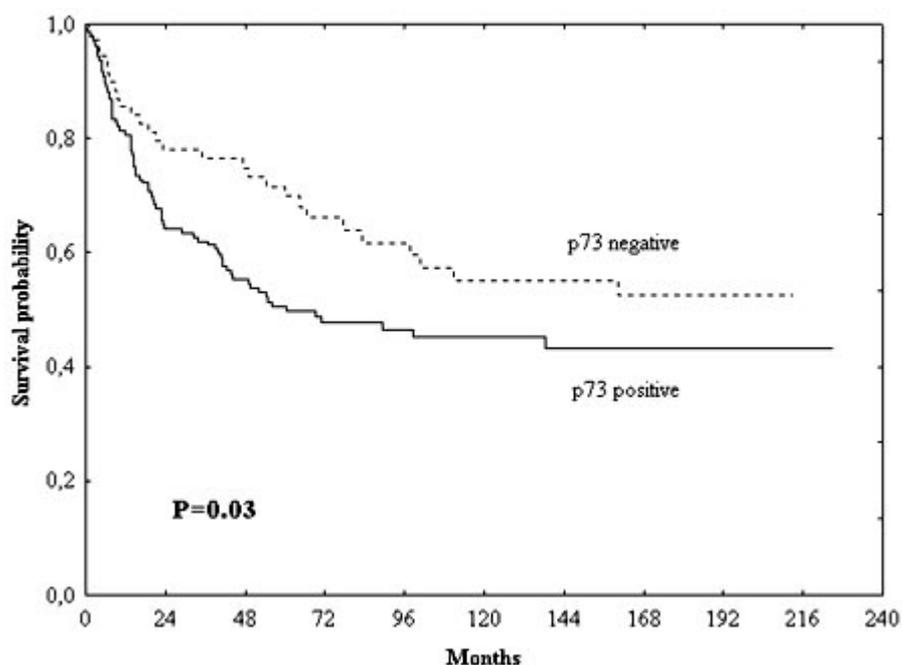


Figura 4. Los pacientes con tumores p73 positivos tuvieron supervivencia más corta que aquellos con tumores p73 negativos. En el estudio actual la expresión de p73 se correlacionó en forma positiva con la expresión de ras ($p = 0.01$). Más aun, en los pacientes con tumores ras positivos, la expresión de p73 predijo en forma positiva peor evolución que la negatividad de p73 ($p = 0.02$). No encontramos correlación entre la expresión de p73 y la expresión de p53, DCC, Bax, mutaciones de MBD4 y RIZ. Recientemente, Petrenko y colaboradores encontraron que la p73 coopera con el ras en la transformación primaria de fibroblastos *in vitro* y en la inducción de fibrosarcomas derivados de MEF *in vivo* en ratones sin timo. Aunque la p73 comparte su estructura y composición funcional con p53, existe una diferencia significativa en el desarrollo de tumores. En conclusión, la expresión de la proteína p73 es mayor durante la evolución de mucosa normal a tumores primarios y metástasis. Más aun, la expresión exagerada de p73 es un factor predictivo de pronóstico desfavorable en pacientes con cáncer colorrectal. Sin embargo, la LOH del gen no fue un factor importante en la aparición tumoral. El autor no manifiesta conflictos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kaghad M, Bonnet H, Yang A et al. Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancer. *Cell* 1997; 90: 809-819.
2. Moll UM, Erster S, Zaika A. p53, p63 and p73--solos, alliances and feuds among family members. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1552: 47-59.
3. Benard J, Douc-Rasy S, Ahomadegbe JC. TP53 family members and human cancers. *Hum Mutat* 2003; 21: 182-191.
4. Sunahara M, Ichimiya S, Nimura Y et al. Mutational analysis of the p73 gene localized at chromosome 1p36.3 in colorectal carcinomas. *Int J Oncol* 1998; 13: 319-323.
5. Zaika AI, Kovalev S, Marchenko ND et al. Overexpression of the wild type p73 gene in breast cancer tissues and cell lines. *Cancer Res* 1999; 59: 3257-3263.
6. Yokomizo A, Mai M, Bostwick DG et al. Mutation and expression analysis of the gene in prostate cancer. *Prostate* 1999; 39: 94-100.
7. Tokuchi Y, Hashimoto T, Kobayashi Y et al. The expression of p73 is increased in lung cancer, independent of p53 gene alteration. *Br J Cancer* 1999; 80: 1623- 1629.
8. Takahashi H, Ichimiya S, Nimura Y et al. Mutation, allelotyping, and transcription analyses of the p73 gene in prostatic carcinoma. *Cancer Res* 58: 2076-2077, 1998.
9. Sun X-F, Ekberg H, Zhang H et al. Overexpression of ras is an independent prognostic factor in colorectal adenocarcinoma. *APMIS* 1998; 106: 657-664.
10. Sun X-F, Carstensen JM, Zhang H et al. Prognostic significance of cytoplasmic p53 oncoprotein in colorectal adenocarcinoma. *Lancet* 1992; 340: 1369-1373.
11. Sun X-F, Rütten S, Zhang H et al. Expression of the deleted in colorectal cancer gene is related to prognosis in DNA diploid and low proliferative colorectal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1745-1750.
12. Jansson A, Sun X-F. Bax expression decreases significantly from primary tumour to metastases in colorectal cancer. *J Clin*

- Oncol 2002; 20: 811-816.
13. Evertsson S, Wallin Å, Arbmán G et al. The significance of microsatellite instability and MBD4 mutation in unselected colorectal cancer. *Anticancer Res* 2003; 23: 3569-2574.
 14. Emterling A, Wallin Å, Arbmán G et al. Clinicopathological significance of MSI and RIZ in patients with unselected colorectal cancer. *Ann Oncol* 2004; 15: 00-00.
 15. Liu L, Cui X, Sakaguchi T, et al. Expression of p73 in colorectal carcinoma: clinicopathological relevance. *J Int Med Res* 2001; 29: 297-303.
 16. Guan M, Peng HX, Yu B et al. p73 Overexpression and angiogenesis in human colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33: 215-220.
 17. Petrenko O, Zaika A, Moll UM. deltaNp73 facilitates cell immortalization and cooperates with oncogenic Ras in cellular transformation in vivo. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 5540-5555.

Trabajos Distinguidos, Gastroenterología , integra el Programa SIIC de Educación Médica
Continuada