

Expertos Invitados

SARCOMA MIELOIDE: CARACTERÍSTICAS CLINICOPATOLOGICAS Y TRATAMIENTO



Columnista Experto de SIIC
Dr. José Angel Hernández Rivas

Facultativo Especialista en Hematología

La primera descripción de un tumor leucémico extramedular corresponde a Burns,¹ aunque hasta unos años después no se utilizó el término "cloroma",² el cual hacía referencia a la existencia de masas tumorales extramedulares de color verdoso. Este hecho se debe a la presencia en ellas de mieloperoxidasa, una enzima que está presente en algunos tumores extramedulares de estirpe leucémica. En 1967, Rappaport introdujo el término sarcoma granulocítico,³ precisamente para incluir aquellos tumores que no se teñían de verde. Durante los últimos años se ha utilizado la denominación tumores mieloides extramedulares, definidos por Davey y col.,⁴ que pretendía incluir todas las formas de infiltrados leucémicos no medulares y extramedulares. Recientemente, en la nueva clasificación de los tumores hematopoyéticos y de los tejidos linfoides de la Organización Mundial de la Salud⁵ se definen como sarcomas mieloides (SM).

Los SM son masas tumorales de mieloblastos o células mieloides inmaduras que tienen una localización extramedular u ósea. El código asignado para su caracterización en la Clasificación Internacional de las Enfermedades Oncológicas (CIE-O) es el 9930/3. A pesar de que existen centenares de casos descritos, la mayoría constituyen casos clínicos aislados, series pequeñas de pacientes con SM o revisiones de la literatura, con lo que es difícil conocer la incidencia real de esta entidad. Aun así, es posible que en los pacientes con leucemias agudas mieloides (LAM) oscile entre 1.5% a 3 % en la edad adulta^{6,7} y alrededor del 11 % en la edad infantil, como se ha publicado recientemente.⁸ La afectación cutánea es la más frecuente y es mucho más prevalente en las leucemias de estirpe monocítica,⁸ lo que parece conferirles un pronóstico peor. Aun así cabe recordar que, como ejemplo, en series necrópsicas la afección del aparato genital femenino de pacientes con LAM es del 40%⁹ y que la afección prostática en series *post mortem* se sitúa entre el 3 % y el 9 %, ¹⁰ aunque la afección clínicamente significativa es mucho más rara de lo que representan estas cifras.

Los SM pueden manifestarse como un tumor leucémico extramedular en ausencia de antecedentes o diagnóstico simultáneo de LAM, síndrome mielodisplásico (SMD) o síndrome mieloproliferativo crónico (SMPC), que es lo que se conoce como SM primario, acompañar el diagnóstico de LAM o ser la primera manifestación de una recaída de LAM, con afección de la médula ósea, o sin ella, por la leucemia.¹¹ En los SM primarios puede existir un intervalo prolongado de tiempo (en ocasiones, meses o años) entre el diagnóstico del sarcoma granulocítico y el de la LAM. Los sarcomas granulocíticos pueden presentarse como lesión única o como múltiples lesiones y, aunque se han descrito en individuos de diferentes edades, son más frecuentes en la infancia y en adultos jóvenes.

Las manifestaciones clínicas que producen los SM son muy variadas y dependen en gran medida del órgano o del sistema en el que se desarrollan. En este sentido cabe recordar que se han descrito en prácticamente todos los lugares del organismo, como la piel¹² y el hueso,¹³ que son las localizaciones más frecuentes;⁶ en el aparato ginecológico,¹⁴ localización que supone el 15% de los SM primarios y en la que el órgano más frecuentemente afectado es el ovario;¹¹ en la mama;¹⁵ en el cristalino;¹⁶ en diferentes sitios del tubo digestivo;¹⁷⁻²⁰ páncreas;²¹ hígado;²² ganglios

linfáticos;²³ sistema nervioso;^{24,25} riñón;²⁶ pulmón;²⁷ próstata;¹⁰ órbita,²⁸ localización muy frecuente en la edad infantil;⁷ o en el corazón²⁹, entre otros.

La patogénesis de la acumulación extramedular en forma de tumores compuestos por blastos o células mieloides permanece por elucidar, aunque se han invocado como causas posibles la transformación de los monocitos o histiocitos en blastos³⁰ o un fenómeno de *homing* de las células mieloblásticas en determinados tejidos,³¹ en el que la expresión anormal de algunas moléculas de adhesión por los blastos (fundamentalmente CD56) podría favorecer el asentamiento de las celulares tumorales leucémicas en tejidos extramedulares, lo que produciría la formación del SM. El examen macroscópico de los SM muestra la presencia de un tejido de consistencia blanda y color blanquecino o verdoso (de ahí el término cloroma), que se pierde rápidamente con su exposición al aire. Hasta hace poco más de 10 años, la tasa de diagnósticos erróneos era muy alta, sobre todo en el caso de los SM primarios, se acercaba en algunas series al 50%,^{6,32} lo que conllevaba posteriores problemas terapéuticos y pronósticos. Este hecho se debe a que, desde el punto de vista morfológico, el diagnóstico diferencial es amplio y debe realizarse con diversas entidades como: a) linfomas no hodgkinianos, sobre todo de tipo Burkitt y linfomas difusos de célula grande; b) tumores de células redondas pequeñas, los cuales fundamentalmente se observan en niños, como los neuroblastomas, rhabdomyosarcomas, el sarcoma de Ewing o los tumores neuroectodérmicos periféricos; c) diversos cánceres de histología indiferenciada así como histiocitosis o mastocitosis malignas; d) algunos pseudotumores y otras lesiones de naturaleza no maligna,^{5,31} y e) metaplasia mieloide. Las características microscópicas de los SM son las de un infiltrado difuso que puede invadir parcial o totalmente el órgano afectado por una población de células neoplásicas muy variables. El tipo más frecuente de SM es el sarcoma granulocítico, el cual se compone de granulocitos, de sus precursores o de ambos, incluyendo mieloblastos. Al basarse en su grado de maduración se distingue una categoría blástica, otra indiferenciada (compuesta principalmente por mieloblastos y promielocitos) y, por último, una diferenciada (compuesta por las células granulopoyéticas más maduras). Por su parte, los sarcomas monoblásticos son menos comunes.

En la actualidad el diagnóstico se ha simplificado por la generalización de técnicas inmunohistoquímicas,^{32,33} inmunofenotípicas³⁴ y citogenéticas,³⁵ las cuales permitieron que el número de casos diagnosticados erróneamente haya disminuido de manera notable.⁵ Los mieloblastos y los neutrófilos son positivos para la tinción de mieloperoxidasa y éstos últimos también lo son para la naftol cloroacetato esterasa. La lisozima se expresa frecuentemente en las variantes monoblásticas. Por su parte, aunque la expresión de CD45 traduce el origen leucocitario de las células neoplásicas estudiadas, a menudo no es expresado por los SM. El perfil antigénico celular de los SM es similar al de las LAM, al expresar marcadores de línea mieloide en los sarcomas granulocitarios (CD13, CD33, CD117, CD99) o de línea monocitaria en los sarcomas monoblásticos (CD14, CD116, CD11c, CD68). En la mayoría de los casos CD43 es positivo, aunque este hecho no debería interpretarse a favor de un origen T de la neoplasia, sobre todo si CD3 es negativo. Asimismo, se comunicó la positividad en algunos casos de los marcadores CD15 y CD30, mientras que CD56 es frecuentemente expresado por las variantes monoblásticas y mielomonocitarias. Los SM de células megacarioblásticas expresan el factor VIII de la coagulación, CD31 y CD61 y los eritroblásticos glucoforina C y diversas proteínas de grupos sanguíneos.^{5,31-34} Las anomalías citogenéticas más frecuentes son la t(8;21),^{35,36} las alteraciones que afectan el cromosoma 16 [inv (16), t(16;16)] y las traslocaciones en 11q23, las cuales son más frecuentes en la edad infantil, al encontrarse en el 28% de los casos de SM.⁸ La trisomía del cromosoma 8 se ha descrito como la alteración citogenética más frecuente en la serie de Tsimberidou y col.³⁷ Los SM se asocian con pronóstico malo a mediano plazo, a pesar de que el paciente sea joven y de que la mayoría de enfermos, si nos referimos exclusivamente a los SM primarios, presentan un estado general excelente en el momento de su presentación.³⁸ Es posible que los subtipos blásticos impliquen un pronóstico más desfavorable que el de las variantes más diferenciadas de SM, aunque este hecho debe confirmarse. En un análisis retrospectivo, Imrie y col.³⁹ observaron que la supervivencia media de los pacientes con SM primarios que habían recibido quimioterapia era de 22 meses y que la supervivencia global fue significativamente más prolongada que los enfermos que no recibieron tratamiento citostático. A pesar de que en 1997 Byrd y col.⁴⁰ publicaron que los pacientes adultos con presencia de la t(8;21), una alteración citogenética tradicionalmente asociada con buen pronóstico en las LAM presentaban tasas bajas de respuesta y una mala supervivencia, recientemente los autores del Children's Cancer Group comunicaron resultados diferentes en pacientes en edad pediátrica.⁸ En dicho trabajo, además, exponen que los pacientes con SM cutáneos son los que presentan tasas peores de supervivencia libre de enfermedad a los 5

años (26% frente a 46% en los pacientes con SM que no se localizan en la piel). Por otra parte, en el análisis univariado, los enfermos con SM cutáneos presentaban factores asociados con peor pronóstico, como una cifra de leucocitos más alta, menor edad en el momento del diagnóstico, presencia de subtipos M4 o M5 de la clasificación FAB, infiltración meníngea por blastos y anomalías citogenéticas en el cromosoma 11.

El tratamiento de los SM, sean primarios o asociados a diagnóstico de leucemia o de síndrome mielodisplásico/mieloproliferativo, es el de LAM.⁴¹ Falta por analizar si la profilaxis del sistema nervioso central mediante quimioterapia intratecal, una de las razones invocadas de la mejor respuesta obtenida en niños, pueda significar un aumento de las tasas de respuesta y, lo que es más importante, de la supervivencia a largo término. La administración de altas dosis de quimioterapia seguidas de la realización de un trasplante autólogo o alogénico de precursores hematopoyéticos logró la curación de la enfermedad en algunos pacientes,⁴²⁻⁴⁴ aunque, como tuvimos la ocasión de comprobar en dos enfermas con SM del tracto ginecológico¹⁴ dichas estrategias terapéuticas pueden fracasar. Por todo ello, se necesitan investigaciones futuras dirigidas a caracterizar mejor este tipo de neoplasias, al estudio de sus factores pronósticos, a la obtención de esquemas nuevos de quimioterapia y a la aplicación de programas de tratamiento más agresivos encaminados a mejorar la supervivencia.

Los autores no manifiestan conflictos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Burns A. Observations and surgical anatomy. "Head and Neck". London, England, Royce, 1811; 364.
2. King A. A case of chloroma. *Monthly J Med* 1853; 17:97.
3. Rappaport H. Tumors of the hematopoietic system. Atlas of Tumor Pathology, Section III, Fascicle 8. Washington, DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1967; 241-247.
4. Davey FR, Olson S, Kurec AS y col. The immunophenotyping of extramedullary myeloid cell tumors in paraffin-embedded tissue sections. *Am J Surg Pathol* 1988; 12: 699-707.
5. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds). Myeloid Sarcoma. "World Health Organization Classification of Tumours. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues". IARC Press: Lyon, 2001; 104-105.
6. Byrd JC, Edenfield WJ, Shields DJ y col. Extramedullary myeloid cell tumors in acute nonlymphocytic leukemia: a clinical review. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1800- 1816.
7. Muss HB, Maloney WC. Chloroma and other myeloblastic tumors. *Blood* 1973; 42: 721-728.
8. Dusenbery KE, Howells WB, Arthur CD y col. Extramedullary leukemia in children with newly diagnosed acute myeloid leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 760-768.
9. Oliva E, Ferry JA, Young RH y col. Granulocytic sarcoma of the female genital tract: a clinicopathologic study of 11 cases. *Am J Surg Pathol* 1997; 21:1156-1165.
10. Spethmann S, Heuer R, Hopfer H y col. Myeloid sarcoma of the prostate as first clinical manifestation of acute myeloid leukemia. *Lancet Oncol* 2004; 5: 62-63.
11. Reinhardt D, Pekrun A, Lakomek M y col. Primary myelosarcomas are associated with a high rate of relapse: report on 34 children from the acute myeloid leukemia-Berlin-Frankfurt-Münster studies. *Br J Haematol* 2000; 110: 863-866.
12. De Coninck A, De Hou MF, Peters O y col. Aleukemic leukemia cutis. *Dermatologica* 1986; 172: 272-287.
13. Conran MJC, Keohane C, Kearney PJ. Chloroma of the mandible: a problem of diagnosis and management. *Acta Pediatr Scand* 1982; 71: 1041-1043.
14. Hernández JA, Navarro JT, Rozman M y col. Primary myeloid sarcoma of the gynecologic tract: a report of two cases progressing to acute myeloid leukemia. *Leuk Lymph* 2002; 43: 2151-2153.
15. Shea B, Reddy V, Abbitt P y col. Granulocytic sarcoma (chloroma) of the breast: a diagnostic dilemma and review of the literature. *Breast J* 2004; 10: 48-53.
16. Strauchen JA, Gordon RE. Crystalline inclusions in granulocytic sarcoma. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 85-86.
17. Antmen B, Haytac MC, Sasmaz I y col. Granulocytic sarcoma of gingiva: an unusual case with aleukemic presentation. *J Periodontol* 2003; 74: 1514-1519.
18. Ibrarullah M, Sambasivai K, Reddy MK y col. Granulocytic sarcoma of esophagus. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 238.
19. Toubai T, Kondo Y, Ogawa T y col. A case of leukemia of the appendix presenting as acute appendicitis. *Acta Haematol* 2003; 109: 199-201.
20. Xavier SG, Fagundes EM, Hassan R y col. Granulocytic sarcoma of the small intestine with CBF?/MYH11 fusion gene: report of an aleukemic case and review of the literature. *Leuk Res* 2003; 27: 1063-1066.
21. Breccia M, D'Andrea M, Mengarelli A y col. Granulocytic sarcoma of the pancreas successfully treated with intensive chemotherapy and stem cell transplantation. *Eur J Haematol* 2003; 70: 190-192.
22. Alama Zaragoza MA, Robles Iniesta A, Roca Adelantado I y col. Hepatic granulocytic sarcoma: an unusual presentation. An

- Med Interna 2003; 20: 141-144.
23. Kojima M, Nakamura S, Shimizu K y col. Granulocytic sarcoma presenting with lymph node infarction at disease onset. *APMIS* 2003; 111: 1133-1136.
 24. Sood BR, Sharma B, Kumar S y col. Facial palsy as first presentation of acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2003; 74: 200-201.
 25. Buckland ME, Scolyer RA, Donellan MB y col. Spinal chloroma presenting with triplegia in an aleukaemic patient. *Pathology* 2001; 33: 386-389.
 26. Park HJ, Jeong DH, Song HG y col. Myeloid sarcoma of both kidneys, the brain, and multiple bones in a nonleukemic child. *Yonsei Med J* 2003; 44: 740-743.
 27. De Paz R, Canales MA, Hernández-Navarro F. Granulocytic sarcoma (chloroma) of the lung. *Br J Haematol* 2003; 120: 176.
 28. Soker M, Cakmak S, Ayyildiz O y col. Bilateral orbital granulocytic sarcoma as a presenting sign of acute myeloid leukemia. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2003; 40: 358-360.
 29. Makaryus AN, Tung F, Liu W y col. Extensive neoplastic cardiac infiltration in a patient with acute myelogenous leukemia: role of echocardiography. *Echocardiography* 2003; 20: 539-544.
 30. Kaiserling E, Horny HP, Geerts ML y col. Skin involvement in myelogenous leukemia: morphologic and immunophenotypic heterogeneity of skin infiltrates. *Modern Pathology* 1994; 7: 771-779.
 31. Audouin J, Comperat E, Le Tourneau A y col. Myeloid sarcoma: clinical and morphologic criteria useful for diagnosis. *Int J Surg Pathol* 2003; 11: 271-282.
 32. Muller S, Sangster G, Crocker J y col. An immunohistochemical and clinicopathological study of granulocytic sarcoma (chloroma). *Hemat Oncol* 1986; 4: 101-112.
 33. Quintinilla-Martínez L, Zukerberg LR, Ferry JA y col. Extramedullary tumors of lymphoid or myeloid blasts. The role of immunohistology in diagnosis and classification. *Am J Clin Pathol* 1995; 104: 431-443.
 34. Chang CC, Eshoa C, Kampalath B y col. Immunophenotypic profile of myeloid cells in granulocytic sarcoma by immunohistochemistry. Correlation with blast differentiation in bone marrow. *Am J Clin Pathol* 2000; 114: 807-811.
 35. Byrd JC, Weiss RB. Recurrent granulocytic sarcoma. An unusual variation of acute myelogenous leukemia associated with 8;21 chromosomal translocation and blast expression of the neural cell adhesion molecule. *Cancer* 1994; 73: 2107-2112.
 36. Somjee S, Borker A, Gardner R y col. Multiple granulocytic sarcoma in acute myeloblastic leukemia with simultaneous occurrence of t(8;21) and trisomy 8. *Leuk Lymph* 2001; 42: 1139-1144.
 37. Tsimberidou AM, Kantarjian HM, Estey E y col. Outcome in patients with nonleukemic granulocytic sarcoma treated with chemotherapy with or without radiotherapy. *Leukemia* 2003; 17: 1100-1103.
 38. Tuset E, Ribera JM, Vaquero M y col. Sarcoma granulocítico: estudio e cinco casos. *Med Clin (Barc)* 1995; 104: 377-380.
 39. Imrie KR, Kovacs MJ, Selby D y col (1995) Isolated chloroma: the effect of early antileukemic therapy. *Ann Int Med* 1995; 123: 351-353.
 40. Byrd JD, Weiss RB, Arthur DC y col. Extramedullary leukemia adversely affects hematologic complete remission rate and overall survival in patients with t(8;21) (q22;q22): results from Cancer and Leukemia Group B 8461. *J Clin Oncol* 1997; 15: 466-475.
 41. Yamauchi K, Yasuda M. Comparison in treatments of nonleukemic granulocytic sarcoma: report of two cases and a review of 72 cases in the literature. *Cancer* 2002; 94: 1739-1746.
 42. Huter O, Brezinka C, Nachbaur D y col. Successful treatment of primary extramedullary leukemia of the uterus with radical surgery, chemotherapy, autologous bone marrow transplantation and prophylactic local irradiation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 663-664.
 43. Bekassy AN, Hermans J, Gorin NC. Granulocytic sarcoma after allogeneic bone marrow transplantation: a retrospective European multicenter survey. Acute and Chronic Leukemia Working Parties of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 801-808.
 44. Hung GY, Chiou TJ, Hsieh YL y col. Nonmyeloablative allogeneic bone marrow transplantation for orbital granulocytic sarcoma associated with t(8;21) (q22;q22) in acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 67-70.

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



Columnista Experta de SIIC
Dra. 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 transverso; 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 cual 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).

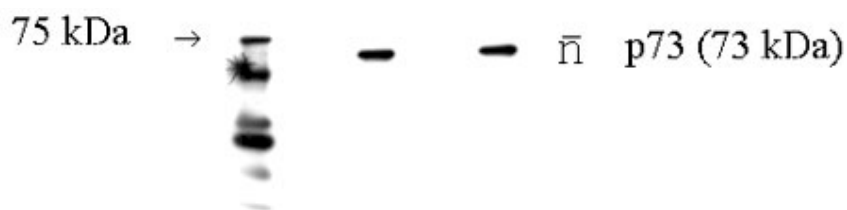


Figura 1. Expresión de p73 en línea celular de melanoma, por inmunotransferencia. La proteína p73 puede verse a los 73 kD.

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.

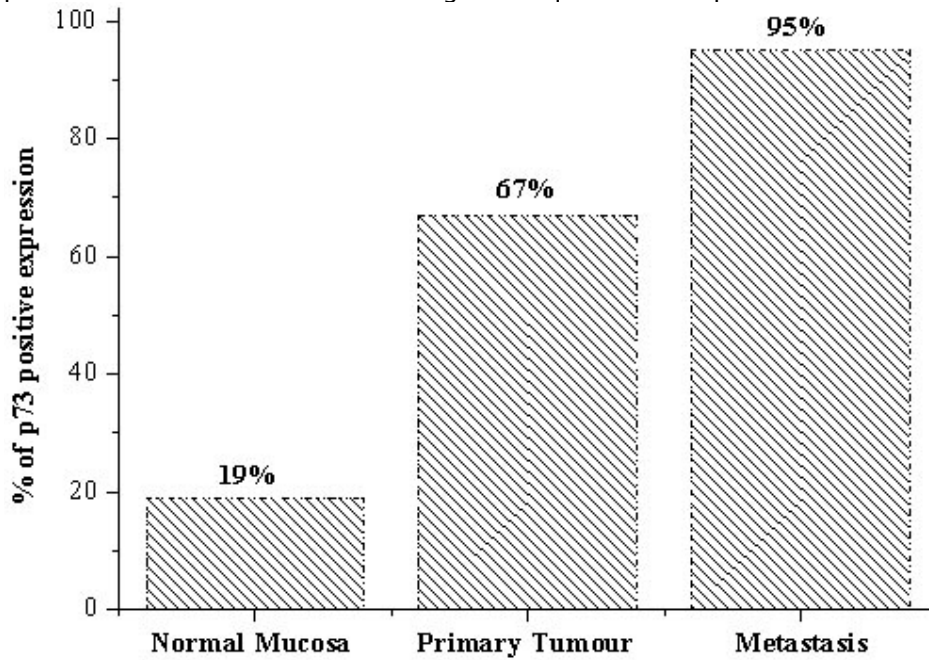


Figura 2. La frecuencia de expresión de p73 aumentó desde mucosa normal a tumor primario y a metástasis en ganglios linfáticos.

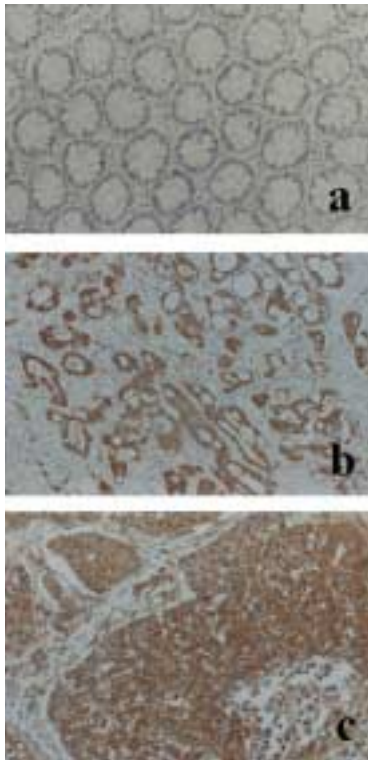
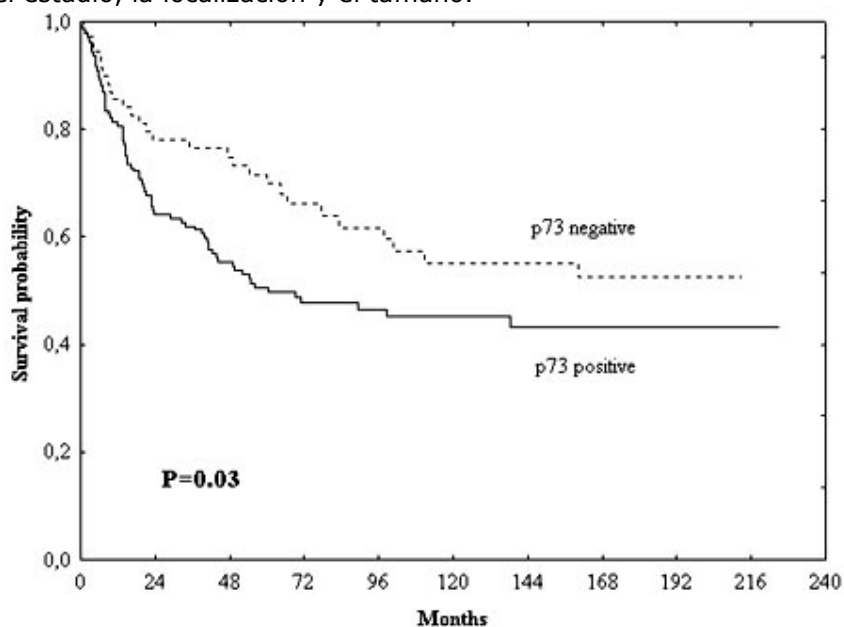


Figura 3. La mucosa normal no expresa la proteína p73 (a), las células del tumor primario correspondiente muestran fuerte expresión (b) y las metástasis correspondientes muestran fijación aun más marcada (c). Las secciones se tiñeron también con hematoxilina.

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, Arbman 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, Arbman 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, Oncología , integra el Programa SIIC-ASARCA de Educación Médica
Continuada