

LA DETERMINACIÓN DE P53 EN TUMOR VESICAL PRIMARIO INFILTRANTE COMO FACTOR PRONÓSTICO DE SUBESTADIAJE.

Mireia Musquera Felip, Juan Palou Redorta, Pietro Moscatiello, Jorge Huguet Pérez, Oscar Rodríguez Faba, M^a José Ribal Caparrós, Ferrán Algaba Arrea¹ y Humberto Villavicencio Mavrich.

Unidad de Urología Oncológica. Servicio de Anatomía Patológica¹. Fundació Puigvert. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.

Resumen.- OBJETIVO: Determinar si la expresión de p53 en pacientes con carcinoma vesical infiltrante tiene valor pronóstico en el estadiaje clínico y supervivencia del tumor.

MÉTODOS: El análisis inmunohistoquímico de p53 se realizó en 34 pacientes (33 hombres y 1 mujer) tratados con cistectomía por carcinoma vesical infiltrante con seguimiento medio de 16 meses.

RESULTADOS: Se detectó sobreexpresión de p53 en 18 pacientes (64%). En el grupo con positividad p53 se encontraron 2 pacientes con estadio T1G3, 18 pacientes T2, 1 paciente T3 y 2 pacientes T4. En el grupo con negatividad inmunohistoquímica se encontró una mejor correspondencia entre el estadiaje de la RTU y de la cistectomía encontrándose empeoramiento del estadio en solo 3 pacientes. Tras el seguimiento los pacientes p53

positivos presentaron peor evolución al tener peor estadio, aunque no significativa estadísticamente ($p = 0,24$). En los pacientes que pasaron a protocolo de conservación vesical ($n=6$), los p53 negativos experimentaron una remisión completa de la enfermedad.

CONCLUSIONES: Observamos una diferencia significativa de infraestadiaje/evolución local más agresiva en pacientes p53 positivos y no mayor mortalidad en este grupo. La expresión de p53 no contraindica la entrada de un paciente en protocolo de conservación vesical aunque serán necesarios estudios más amplios para confirmar estos resultados.

Palabras clave: P53. Carcinoma vesical. Conservación vesical.

Summary.- OBJECTIVES: To determine if p53 expression in patients with infiltrative bladder cancer is a prognostic factor on clinical staging and cancer specific survival.

METHODS: Immunohistochemical analysis of p53 in 34 patients (33 males and 1 female) undergoing radical cystectomy for infiltrative bladder cancer, with a mean follow-up of 16 months.

RESULTS: p53 overexpression was detected in 18 patients (64%). In the p53 positive group two patients were stage T1G3, 18 patients T2, 1 patient T3, and 2 patients T4. In the negative group a better correspondence between TUR and cystectomy stage was found, with stage worsening only in 3 patients. On follow-up, p53 positive patients showed worse outcomes due to their worse stages, although no statistical differences were found ($p = 0.24$). In the group of patients following a bladder sparing protocol ($n = 6$), p53 negative patients had complete remission of the disease.

Correspondencia

Juan Palou Redorta
Jefe de la Unidad de Urología Oncológica.
Profesor Asociado de la Universidad
Autónoma de Barcelona.
Fundació Puigvert
Cartagena, 340
08025 Barcelona. (España)
jpalou@fundacio-puigvert.es
Trabajo recibido: 2 de agosto 2005

CONCLUSIONS: We see significant differences on understaging/more aggressive local outcome in p53 positive patients, with no greater mortality in this group. P53 expression does not contraindicate the inclusion of a patient in a bladder sparing protocol, although larger studies would be necessary to confirm these results.

Keywords: P53. Bladder cancer. Bladder sparing.

INTRODUCCIÓN

El tumor vesical infiltrante es una enfermedad de mal pronóstico, a pesar de los múltiples tratamientos disponibles en la actualidad. Se están estudiando una serie de marcadores moleculares, con el objetivo de identificar nuevos factores pronóstico de esta neoplasia, para poder ofrecer un mejor tratamiento en cada caso. El p53 es un gen supresor de tumor que codifica una proteína, la p53, reguladora de expresión génica. La p53 desarrolla un papel central en la regulación del ciclo celular parando la célula en fase G1 del ciclo, permitiendo la reparación del ADN cuando es posible o conduciendo a la célula a la apoptosis si el daño es irreparable (1).

La cirugía sola o asociada a quimioterapia parecen ser los únicos tratamientos curativos para este tipo de enfermedad. A pesar de esto, muchos pacientes desarrollan metástasis y mueren por cáncer.

La sobreexpresión de la p53 es mayor en tumores más indiferenciados y es un factor pronóstico negativo e independiente en el progreso de la patología neoplásica urotelial (2).

Hemos analizado retrospectivamente la evolución de los pacientes con diagnóstico de tumor vesical infiltrante primario tratados mediante cistectomía y/o protocolo de conservación vesical con quimioterapia, para evaluar si la sobreexpresión de la p53 puede tener un valor pronóstico en el estadiaje clínico y en la supervivencia de este tumor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Entre mayo de 2000 y julio de 2004 hemos diagnosticado en nuestro centro a un total de 34 pacientes afectados de tumor vesical infiltrante inicial. 33 fueron varones y una mujer, con una edad media de 65 años y un seguimiento medio de 16 meses.

Incluimos en nuestra revisión los pacientes con diagnóstico inicial de tumor vesical infiltrante sin antecedentes previos de neoplasia vesical superficial. Tratados mediante cirugía radical 28 casos, con o sin quimioterapia adyuvante, o incluidos en protocolo de conservación vesical en 6 casos. La indicación de cirugía fue en aquellos casos con patología local sin signos de diseminación. En el protocolo de conservación vesical fueron incluidos los pacientes con estadio patológico T2, resección endoscópica completa de tumor sólido único, de tamaño inferior a 4 cm, sin alteración del tramo urinario superior y negatividad o una única muestra con carcinoma in situ (CIS) en la biopsia múltiple normatizada (BMN). El protocolo de conservación vesical realizado fue tres ciclos de quimioterapia con Carboplatino y Vinblastina. Se realizó control mediante nueva resección endoscópica de la cicatriz y BMN, a las tres semanas de la quimioterapia.

En todos los pacientes se revisó la historia clínica centrándonos en los siguientes parámetros: edad al diagnóstico, sexo, anatomía patológica y análisis inmunohistoquímico de la p53 con el anticuerpo DO7, sobre los fragmentos de la resección trasuretral (RTU) del tumor inicial precistectomía, preparados en parafina, anatomía patológica de la pieza de cistectomía, quimioterapia en los casos en que se realizó e indicación de la misma, evolución clínica. Analizando la mortalidad cáncer-específica.

En la anatomía patológica se ha evaluado el tipo histológico, grado, estadio, invasión capilar y linfática, CIS asociado (con inclusión de biopsia de uretra prostática) y en la cistectomía la afectación de ganglios pelvianos.

El estadiaje de los tumores se realizó mediante la clasificación del TNM de 1997 y el grado según la Organización Mundial de Salud. En la RTU el 85% fueron T2, 3% T3, el 6% T4 y el 6% T1 extenso. El 88% tumores de alto grado G3, el 9% G2 y el resto 3% indiferenciado. En el 33,3% asociados a CIS. La sobreexpresión de p53 fue en el 67% de los casos. (Tabla I)

En la evolución clínica se evaluó la aparición de recidiva pélvica, uretral, vesical en el caso de realización de protocolo de conservación vesical, aparición de metástasis y la sobrevida.

Análisis inmunohistoquímico de la p53

La p53 es una proteína que en condiciones normales tiene una vida media muy corta. Cuando se produce alguna alteración genética en el gen se sintetiza una proteína anómala, que tiene una mayor vida

media(24-48 horas), permitiéndose la determinación de la proteína mediante anticuerpos monoclonales. Existe una gran heterogeneidad en el punto de corte para considerar la positividad de la p53, se trata de un valor arbitrario que depende del antígeno utilizado, de la muestra a estudiar (bloque de parafina o congelado) y de la subjetividad del anatomopatólogo que realiza la inmunohistoquímica. En la mayoría de estudios se establece la positividad entre el 0-40% de las células, siendo el punto de corte más utilizado el 20%. En nuestro centro consideramos la positividad en el 50%, con el fin de ser más precisos, ya que también se detecta la p53 natural (no alterada). En el estudio de Esrig y cols. se clasifican los niveles de positividad en cuatro estadios eligiendo como positivo aquellos valores por encima de 10% (3).

La proteína p53 presenta muchos sitios antígenicos, por lo que se han utilizado diferentes anticuerpos para su detección mediante inmunohistoquímica. El anticuerpo monoclonal 1801(Pab) es uno de los más utilizados, otros anticuerpos son el D01 y el D07 (4).

Para el estudio de variables cualitativas se ha utilizado el test de chi cuadrado.

RESULTADOS

De los 34 pacientes diagnosticados de tumor inicial infiltrante en la RTU, el 67%(23 pacientes) presentaron positividad de p53, con una edad media de 65 años(rango 47-79).

Un total de 28 pacientes fueron sometidos a cistectomía radical, de los cuales 27 fueron varones y una mujer.

De los 28 pacientes sometidos a la cirugía radical, la sobreexpresión de la p53 se objetivó en 18 pacientes (64%).

En la RTU pre-cistectomía la positividad o negatividad de la p53 no se asoció a un estadio y/o grado tumoral. La totalidad de las RTU con p53 negativo fueron estadio T2.

En el grupo con positividad inmunohistoquímica se encontraron 18 pacientes en estadio T2, 2 con T1G3, 1 con T3 y 2 en estadio T4. El 83 % presentaban patología T1-T2 en la RTU. Una diferencia importante entre los dos grupos de pacientes fue la existencia de CIS asociado en diez casos (45%) de

TABLA I. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES	TOTAL	P53 +	P53 -
Nº DE PACIENTES	34	23	11
Hombre / mujer	33/1	22/1	11/0
Edad media	65	64	69
ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LA RTU INICIAL			
T1 (extenso)	2	2	
T2	29	13 (+5p)	10 (+1p)
T3a-b	1	1	
T4	2	2	
GRADO			
2	3	1	2
3	30	17 (+5p)	7 (+1p)
Indiferenciado	1	1	0
Anaplasico	0	0	0
Cis asociado	12	10	2
Afectación vasc./linf		3/1	1/0

los positivos a p53, comparado con solo dos casos (20%) en el otro grupo. Por lo que respecta a la afectación microvascular y linfática del tumor, no se encontró una diferencia significativa entre los dos grupos y tampoco una influencia en la evolución de la patología.

El tiempo de espera medio para la realización de la cistectomía fue de 1,7 meses en los pacientes con p53+ y de 3,1 meses para los pacientes con inmunohistoquímica negativa.

De los 28 pacientes sometidos a cistectomía, el estadiaje patológico cambió en los casos con po-

sitividad a p53 en la muestra de la RTU previa. Se objetivó un empeoramiento del estadio patológico del tumor sin una importante modificación del grado. Los 15 pacientes (83%) en estadio patológico T1-T2 pasaron, post cistectomía, a 4 (22%) siendo los 14 restantes (78%) estadios T3 y T4 ($p= 0.033$). (Tabla II)

En el grupo con negatividad inmunohistoquímica se encontró una mejor correspondencia entre el estadiaje de la RTU y de la cistectomía. En este último grupo solo en tres pacientes se observó un empeoramiento del estadio, en uno de ellos T4. Por lo que respecta a la afectación ganglionar, vascular y linfática

TABLA II. RELACIÓN DEL ESTADIO, GRADO Y EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD CON LA DETERMINACIÓN DE P53 EN PACIENTES SOMETIDOS A CISTECTOMÍA RADICAL.

	TOTAL	P53 +	P53 -
TEMPO ESPERA MEDIA (MESES)		1,7	3,1
ANATOMÍA PATOLÓGICA CISTECTOMÍA	28	18	10
T0	3	0	3
T2	7	4	4
T3	9	7	2
T4	8	7	1
Grado			
0	5	2	3
1	0	0	0
2	3	2	1
3	15	10	5
Indiferenciado	3	2	1
Anaplásico	2	2	0
Cis asociado	9	6	3
Ganglios N1/N2	4/6	2/4	2/2
Afectación vasc./linf.	2/4	1/2	1/2
Quimio adyuvante		9	3
Seguimiento			
Mediana	16 meses (11-39)		
Libre de enfermedad	15	9	6
Progresión	10	9	1
Muertos por tumor	8	7	1
Muertos otras causas	1	0	1
Perdidos	2	0	2

no se encuentra una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos. Un total de 12 pacientes recibieron quimioterapia adyuvante, 9 con p53 positivo y 3 inmunohistoquímicamente negativos.

Tras el seguimiento, observamos que los pacientes con p53 positivo presentan una peor evolución al tener un peor estadio respecto al grupo con negatividad inmunohistoquímica, aunque no significativamente estadísticamente ($p=0.24$).

El protocolo de conservación vesical se aplicó en 6 casos, en 5 la p53 era inmunohistoquímicamente positiva y sólo en 1 caso resultó negativa. Después de la quimioterapia, en la RTU de control, el grupo de los pacientes con positividad para p53 presentó 2 pacientes libre de enfermedad, 2 pacientes que presentaron recidiva de patología superficial (CIS) tratados con BCG y en la actualidad están libres de enfermedad y un paciente murió por metástasis óseas. En el caso del paciente con p53 negativo se observó una remisión completa de la enfermedad.

DISCUSIÓN

En nuestra serie de piezas de cistectomía, la sobreexpresión de la p53 se ha hallado en el 64% de los casos, que en series publicadas oscila entre 34 y 83,3% (5), esta gran diferencia se debe a la técnica aplicada, según el tejido, anticuerpo usado y el propio observador. En la mayoría de los estudios se habla de una correspondencia entre la sobreexpresión de la p53 con un estadio y grado tumoral más elevado, sin embargo se necesitarían otros estudios para confirmar la discrepancia entre los análisis multivariantes, secundaria, con toda probabilidad, a los diferentes estudios efectuados (4,6). En la RTU no encontramos una importante diferencia entre los dos grupos de pacientes por lo que respeta al estadio y

grado tumoral, pero si observamos una mayor incidencia de CIS (45%). Esta observación puede avalar la idea de que la alteración de la p53 se produce en estadios iniciales del desarrollo tumoral y como consecuencia de un peor pronóstico.

De los 34 pacientes diagnosticados de tumor vesical infiltrante inicial en la RTU con indicación de tratamiento radical, en 28 casos se realizó cistectomía y en 6 casos protocolo de conservación vesical.

En la pieza de cistectomía, la anatomía patológica demostró un claro empeoramiento del estadio tumoral en el grupo de pacientes con sobreexpresión de la p53. En la RTU el 83% de los pacientes presentaban un estadio T1-T2, mientras que en la pieza de cistectomía el 78% fueron pT3 y pT4. En el grupo de pacientes sin sobreexpresión de la p53 la distribución de los estadios tumorales fue bastante similar en la RTU y la pieza de cistectomía. La evolución, en caso de positividad inmunohistoquímica de la p53, a pesar del tiempo de espera menor entre la RTU y el tratamiento radical, es más agresiva y está asociada a un aumento de la mortalidad (Tabla IV).

De los 3 pacientes p53 negativo que necesitaron quimioterapia adyuvante, uno murió por causas ajenas al tumor vesical, los otros dos (uno N1 y otro N2) están libres de enfermedad a 16 meses de seguimiento. En el caso de los 8 pacientes inmunohistoquímicamente positivos que requirieron quimioterapia adyuvante, en dos de los 4 con N2 y en 2 de los 4 con N1, desarrollaron metástasis muriendo por esta causa.

Existe controversia sobre el papel de p53 en la quimiorresistencia de los tumores vesicales. Se observó una menor respuesta a la quimioterapia adyuvante en los pacientes con sobreexpresión de la

TABLA III. RELACIÓN DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD CON LA DETERMINACIÓN DE P53 EN PACIENTES TRATADOS MEDIANTE CONSERVACIÓN VESICAL.

	TOTAL	P53 +	P53 -
	6	5	1
Libre de enfermedad	3	2	1
Recidiva de tumor superficial	2	2	0
Progresión	1	1	0
Muertos (por tumor)	0	0	0

proteína p53 en un grupo reducido de pacientes sin poder llegar a una conclusión definitiva (7). Algunos autores observaron una influencia de la p53 en la supervivencia con o sin quimioterapia adyuvante (6).

El peor estadio anatómo-patológico, de los pacientes con p53 positivo, se reflejó en el seguimiento con una progresión tumoral en 9 (~50%), con mortalidad por tumor en 6. Dos de los pacientes que presentaron metástasis tenían en la pieza de cistectomía N2 y positividad a p53. La presencia de afectación de los ganglios mostró peor evolución sólo

en el caso de sobreexpresión de la p53, presentando una mayor agresividad de los tumores, al contrario del trabajo de Fleshner que demostró que no había ninguna asociación entre la p53 y la evolución de los tumores con ganglios positivos (8). Nakanishi y Popov, han observado una influencia negativa de la p53 sobre la supervivencia (tabla 4) (9, 10). En nuestro estudio hemos observado un peor pronóstico en los pacientes con p53 positivos dependiente del más alto estadio en la pieza de cistectomía. De los 10 pacientes P53 negativo, solo 1 murió por progresión neoplásica.

TABLA IV. SERIES DE CARCINOMA UROTELIAL INVASIVO CON ESTUDIO DE LA P53.

REFERENCIAS	NÚMERO	CARACTERÍSTICAS	NIVEL DE	CONCLUSIÓN
Esig. y cols (3).	PACIENTES 243 total 49 (T2-T3a)	TUMORALES T1-T3a	CORTE P53 >10%	En pacientes p53 + vs. p53- Incremento de recurrencia pT2 56% vs. 12% (p = 0.007) pT3a 80% vs. 11% (p = 0.011) y reducción de supervivencia pT2 30% vs. 79% (p = 0.023) pT3a 22% vs. 64% (p = 0.2)
Herr y cols (12).	60	T2-T3	>20%	Supervivencia a 10 años en p53+ vs p53- (p = 0.004) T2 47% vs 100% T3 60% vs 67%
Moch y cols (13).	179	Ta-T4	>10%	En pacientes con p53+ vs p53- aumento de progresión (aparición de metástasis) 77% vs 50%
Lipponen y cols (14).	212	Ta-T4	>20%	Peor evolución de los pacientes con expresión de p53%
Jahnsen y Karlsson (15).	173 total 154 (T2-T4)	T1-T4	>20%	Ninguna diferencia pronóstica entre los dos grupos. (p = 0.13)
Fleshner y cols (8).	59 total	Positividad linfonodal después de la cistectomía	>20%	Ninguna asociación entre la expresión de p53 y pronóstico (p = 0.07)
Sarkis y cols (16)	90 total	T2-T4 tratados con quimioterapia	>20%	La expresión de p53+ vs p53- está asociado a una disminución de la supervivencia

De los 6 pacientes tratados mediante protocolo de conservación vesical 5 resultaron inmunohistoquímicamente positivos. Dos presentaron recidiva superficial (CIS) tratados mediante resección transuretral y 6 instilaciones de BCG, y están libres de enfermedad. El CIS es más frecuente en los casos tratados con protocolo de conservación vesical y se obtienen buenos resultados con tratamiento endovesical con BCG (11).

Herr et al observó como más del 50% de los pacientes con T2-T3 a la RTU, tratados con quimioterapia neoadyuvante con intento de conservar la vejiga, presentaban progresión neoplásica y aparición de metástasis (12), por lo que se aconseja utilizar la p53 como factor pronóstico para decidir o no una conservación vesical. Podría tratarse también según los criterios clínico-patológicos de selección estrictos de estos pacientes, ya que los resultados obtenidos en nuestra serie son satisfactorios, a pesar de ser la mayoría p53 positivos.

CONCLUSIONES

Se trata de un estudio retrospectivo con tumor primario vesical infiltrante en que observamos una diferencia significativa de infraestadio / evolución local más agresiva en los pacientes con p53 positivos y no mayor mortalidad en este grupo. La expresión de p53, no contraindica, aunque con una muestra escasa, la entrada de un paciente en un protocolo de conservación vesical.

BIBLIOGRAFÍA y LECTURAS RECOMENDADAS (*lectura de interés y **lectura fundamental)

- **1. ALCARAZ ASENSIO, A.; RIBAL CAPARRÓS, M.J.; VILLAVICENCIO MAVRICH, H.: "Aplicabilidad de la biología molecular en la Urología". Pág. 123-29. Ed. AZ Madrid, 2004.
2. HARRY, W.; HERR.; DEAN, F. y cols.: "Can p53 help select patients with invasive bladder cancer for bladder preservation?". *J. Urol.*, 161: 20, 1999.
- *3. ESRIG, D.; ELMAJIAN, D.; GROSHEN, S. y cols.: "Accumulation of nuclear p53 and tumour progression in bladder cancer". *N. Engl. J. Med.*, volume 331: 1259, 1994.
- **4. SCHMITZ-DRAGER, B. J.; GOEBEL, P. J.; EBERT, T. y cols.: "P53 immunohistochemistry as

- a prognostic marker in bladder cancer: playground for urology scientists?". *Eur. Urol.*, 38: 691, 2000.
5. KUCZYK, M.A.; SERTH, J.; HERVATIN, C. y cols.: "Detection of P53 tumour suppressor gene protein in bladder tumours and prostate cancer: possible clinical implications". *World J. Urol.*, 12: 345, 1994.
6. HEMAL, A.K.; KHAITAN, A.; DINDA, A.K. y cols.: "Prognostic significance of p53 nuclear overexpression in patients of muscle invasive urinary bladder carcinoma treated with cystectomy". *Urol. Int.*, 70: 42, 2003.
7. JANKEVICIUS, F.; GOEBELL, P.; KUSHIMA, M. y cols.: "p21 and p53 immunostaining and survival following systemic chemotherapy for urothelial cancer". *Urol. Int.*, 69: 174, 2002.
8. FLESHNER, N.; KAPUSTA, L.; EZER, D. y cols.: "p53 nuclear accumulation is not associated with decreased disease-free survival in patients with node positive transitional cell carcinoma of the bladder". *J. Urol.*, 164: 1777, 2000.
9. POPOV, Z.; HOZNEK, A.; COLOMBELL, M. y cols.: "The prognostic value of P53 nuclear overexpression and MIB-I as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder". *Cancer*, 80: 1472, 1997.
10. NAKANISHI, K.; KAWAI, T.; TORIKATA, C.: "Immunohistochemical evaluation of P53 oncoprotein in transitional cell carcinoma of the upper urinary tract". *Hum. Pat.*, 27: 1336, 1996.
- *11. PIERAS, E.; PALOU, J.; SALVADOR, J. y cols.: "Management and prognosis of transitional cell carcinoma superficial recurrence in muscle-invasive bladder cancer after bladder preservation". *Eur. Urol.*, 44: 222, 2003.
12. HERR, H.W.; BAJORIN, D.F.; SCHER, H.I. y cols.: "Can p53 help select patients with invasive bladder cancer for bladder preservation?". *J. Urol.*, 161: 20, 1999.
13. MOCH, H.; SAUTER, G.; MOORE, D. y cols.: "P53 and erbB-2 protein overexpression are associated with early invasion and metastasis in bladder cancer". *Virchows Arch. A. Pathol. Ant. Histopathol.* 423: 329, 1993.
14. LIPPONEN, P.K.: "Over-expression of p53 nuclear oncoprotein in transitional-cell bladder cancer and its prognostic value". *Int. J. Cancer*, 53: 365, 1993.
15. JAHNSON, S.; KARLSSON, M.G.: "Predictive value of p53 and pRb immunostaining in locally advanced bladder cancer treated with cystectomy". *J. Urol.*, 160: 1291, 1998.
- *16. SARKIS, A.; BAJORIN, D.F.; REUTER, V.E. y cols.: "Nuclear overexpression of P53 protein in transitional cell bladder cancer: a marker for disease progression". *J. Clin. Oncol.*, 13: 1384, 1995.