

ARTÍCULO ORIGINAL

Asociación de p53, BCL-2 y virus del papiloma humano con cáncer de pene

Fernández Carreño A.J.,¹ Lamm Wiechers L.,² Andrade Platas D.,¹
Morales Montor G.,³ Parraguirre S.,⁴ Calderón Ferro F.⁵

RESUMEN

Antecedentes: Se diagnostican 297 casos al año de cáncer de pene que representan 0.6 pacientes por cada 100 000 habitantes. La gran mayoría son de células escamosas, que se presentan con mayor frecuencia en el glande (48%); el gen supresor de tumores p53 está involucrado en la apoptosis celular y sus mutaciones están asociadas con una correlación con la infección del virus del papiloma humano.

Objetivo: Identificar la relación entre el virus del papiloma humano, mutación del gen p53 y BCL-2 con cáncer de pene.

Material y métodos: Estudio transversal, analítico. Se incluyeron pacientes de los últimos 15 años. Se analizó edad, estadio patológico, inmunohistoquímica para p53, BCL-2 y virus del papiloma humano. El análisis estadístico se realizó con estadística descriptiva, curvas de Kaplan-Meier y χ^2 .

Resultados: Se estudiaron 20 pacientes; a la inmunohistoquímica p53, 13 fueron positivos (65%), y virus del papiloma humano, dos positivos (10%);

SUMMARY

Background: Every year there are 297 cases of penile cancer that represent 0.6 patients per 100,000 inhabitants. The great majority are of the squamous cell type presenting more frequently in the gland (48%); the tumor suppressor gene p53 is involved in cellular apoptosis and its mutations are associated with a correlation with an infection of human papilloma virus.

Objective: To identify the relationship between human papilloma virus, p53 and BCL-2 mutations in the prognosis of penile cancer.

Material and methods: We realize a sectional cross study; there were included patients from the last 15 years. Age, pathologic stage and immunohistochemistry for p53, BCL-2 and human papilloma virus were analyzed. The statistics analysis was made with descriptive statistics, Kaplan-Meier charts and χ^2 .

Results: 20 patients were studied; to p53 immunohistochemistry there were 13 positive (65%), and for human papilloma virus two positives (10%), one of them also for p53; the overall survival rate was of 44.8 months, while for the p53 positives was of 34.4 months.

¹ Residente de tercer año de Urología, Hospital General "Dr. Manuel Gea González". ² Residente de cuarto año de Urología, Hospital General "Dr. Manuel Gea González". ³ Adscrito al servicio de Urología, Hospital General "Dr. Manuel Gea González". ⁴ Jefe de Servicio de Patología, Hospital General

"Dr. Manuel Gea González". ⁵ Jefe de Servicio de Urología, Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

Correspondencia: Servicio de Urología, Hospital General "Dr. Manuel Gea González". Calzada de Tlalpan 4800. Teléfono y fax: 5665-7681.

uno lo fue también para p53; la sobrevida global fue de 44.8 meses, mientras que para los p53 positivos fue de 34.4 meses.

Conclusiones: No existió asociación entre el virus del papiloma humano, p53 y BCL-2 con el cáncer de pene.

Palabras clave: Gen p53, BCL-2, cáncer de pene.

Conclusions: There were no relation between human papilloma virus, p53 and BCL-2 with penile cancer.

Key words: P53, BCL-2, penile cancer.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de pene es una patología maligna poco frecuente, con una incidencia de 0.6 casos por cada 100 000 habitantes. En Europa, la incidencia es de 0.1 por cada 100 000 habitantes y en Estados Unidos, de 0.7 por cada 100 000. En algunas áreas de Asia, África y América del Sur, la incidencia es bastante mayor, ya que afecta a 19 personas por cada 100 000 habitantes;¹ en estos países, el cáncer de pene representa de 10 a 20% de los cánceres en el hombre. La estirpe histológica más frecuente es el de células escamosas y el tumor primario está localizado en el glande en 48% de los casos, prepucio en 21%, en ambos en 9%, en el surco balano-prepuclal en 6% y en el cuerpo del pene en menos de 2%.^{2,3} La presencia de ganglios palpables es detectada al momento del diagnóstico en 58% de los pacientes, de éstos, 45% tienen metástasis ganglionares, mientras que el resto de los pacientes tienen patología inflamatoria secundaria a una infección del tumor primario.⁴

La diseminación metastásica se realiza de una manera predecible, ya que la diseminación linfática inguinal ocurre primero, seguida por metástasis pélvicas y finalmente metástasis a distancia; en consecuencia, es extremadamente raro observar pacientes con ganglios pélvicos positivos o metástasis a distancia sin involucro linfático inguinal. Aproximadamente 20% de los pacientes con ganglios no palpables albergan micrometástasis ganglionares.⁵ La fimosis y la inflamación crónica asociados con hábitos higiénicos pobres están estrechamente relacionados con este tumor, mientras que la circuncisión neonatal otorga protección contra la enfermedad.⁶

Existe fuerte evidencia de que el virus del papiloma humano, tipos 16 y 18, están asociados con cáncer de pene en aproximadamente la mitad de los casos.⁷ Asimismo, existen marcadores moleculares bajo investigación como factores pronóstico, pero su empleo clínico es muy limitado. Los resultados más prometedores se han reportado con la sobreexpresión de p53.⁸ El mecanismo mediante el cual el p53 decide realizar o no la apoptosis no está bien comprendido del todo, pero el daño en el DNA dispara su activación.

La apoptosis inducida por p53 está mediada por activación transcripcional de genes que inician la cascada apoptótica y la inhibición de genes que bloquean esa cascada. La apoptosis inducida por p53 es mediada por los grupos proapoptóicos y antiapoptóicos de BCL-2, por lo que las mutaciones del gen p53 y la desregulación de las vías apoptóticas de BCL-2 tienen una relevancia directa en la etiología del cáncer.⁹⁻¹¹

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal analítico. Se incluyeron pacientes de los últimos 15 años con diagnóstico y tratamiento para cáncer de pene. Se analizaron edad, tamaño tumoral, estadio patológico, inmunohistoquímica para p53, BCL-2 y virus del papiloma humano, recurrencia y progresión. La inmunohistoquímica se llevó a cabo por el mismo técnico e interpretada por el mismo patólogo; se revisaron las laminillas de cada paciente y la más representativa fue seleccionada; se desparafinaron

Cuadro 1. Relación de pacientes con p53 positivo/negativo y características de ganglios

	Adenopatía unilateral	Adenopatía bilateral	2-4	> 4	Tamaño	Linfadenectomía	Ganglios positivos
p53 (+)	15.3%	38.4%	38.4%	15.3%	0.9 cms	38.4%	15.3%
p53 (-)	14.2%	57.1%	57.1%	14.2%	0.4 cms	14.2%	0

los cortes a no más de 60°C; se removió el resto de parafina en xilol. Posteriormente se hidrató pasando los cortes por etanol absoluto, etanol de 96°, agua corriente y agua destilada. Se inhibió la peroxidasa endógena durante 10 minutos y se enjuagó con agua destilada; se efectuó la recuperación antigénica en “baño María” en pH de 9 por 20 minutos y en pH de 6 durante 10 minutos en microondas y se enfrió a temperatura ambiente; se enjuagó con agua destilada y se incubó con PBS por 10 minutos; se colocó anticuerpo primario anti-human BCL-2 oncoprotein DAKO 1:50, antihuman p53 protein DAKO 1:50, y anti-bovine papillomavirus DAKO 1:200 según el caso y se incubó en cámara húmeda dentro de un refrigerador a 4°C durante toda la noche; se detuvo la reacción con agua corriente y se contrastó con hematoxilina de Harris por 5 segundos; se aclaró en xilol y se montaron los cortes en resina sintética. Se realizó la medición de áreas focales de la siguiente manera: de 5 a 10 células a 40x (+), de 10 a 20 células a 40x (++) , 20 células o más a 40x (+++). La medición del análisis estadístico se realizó utilizando el producto límite o estimador de Kaplan Meier y de χ^2 .

RESULTADOS

Se estudiaron 25 casos, de los cuales 23 fueron carcinomas epidermoides; un melanoma y un sarcoma fueron excluidos; tres pacientes más fueron eliminados por no disponer del material histológico. Ningún paciente había sido circuncidado. De los 20 pacientes seleccionados, la edad promedio fue de 50 años, con un rango de 25 a 90; el tiempo

de evolución desde el inicio de la lesión a la consulta fue de 11.3 meses, con un rango de 2 a 36; 14 pacientes (70%) presentaron lesiones ulcerosas, 5 (25%) con lesiones verrugosas y un carcinoma *in situ* (5%); 10 pacientes (50%) presentaron lesión en el glande, 2 (10%) en el prepucio, 6 (30%) en el prepucio y en el glande y 2 (10%) sólo en la vaina. Se realizaron fálectomías parciales a 17 pacientes (85%), sólo circuncisión a 2 (10%) y fálectomía total a 1 (5%); el estadio clínico fue carcinoma *in situ* en 2 (10%), T1 en 3 (15%), T2 en 10 (50%), T3 en 5 (25%) y ningún T4. Al momento del diagnóstico presentaron adenopatía unilateral en 3 (15%), bilateral en 8 (40%) y sin adenopatía en 9 (45%); 8 pacientes (40%) presentaron ganglios de 2 a 4 centímetros de diámetro y 3 (15%) de más de 4 centímetros. Se practicó linfadenectomía pélvica bilateral a 6 (30%) de los cuales resultaron positivos 2 pacientes (10%).

De los positivos a p53, 2 presentaron adenopatía unilateral (15.3%) y 5 bilateral (38.4%), de los cuales 5 (38.4%) fueron de entre 2 y 4 centímetros de diámetro y 2 (15.3%) mayores de 4. El tamaño promedio de los ganglios fue de 0.9 centímetros; se realizó linfadenectomía bilateral en 5 (38.4%) de los cuales resultaron positivos 2 (15.3%). De los negativos a p53, 1 presentó adenopatía unilateral (14.2%) y 4 bilateral (57.1%), de los cuales 4 (57.1%) fueron de entre 2 y 4 centímetros de diámetro y 1 (14.2%) mayores de 4; el tamaño promedio de los ganglios fue de 0.4 centímetros, se realizó linfadenectomía bilateral en 1 (14.2%) la cual fue negativa (**Cuadro 1**).

Cuadro 2. Relación de pacientes por estadio de cáncer de pene, expresión de p53 y sobrevida.

	Núm. de casos	Evolución*	p53 positivo	Sobrevida* §
T <i>in situ</i>	2	13.5	1	47.6
T1	4	10	2	44
T2	8	11	4	24.6
T3	6	10.3	6	21
T4	0	0	0	0

* meses; §Kaplan Meier: $p=0.17$

Respecto a la inmunohistoquímica para p53, 13 fueron positivos (64%), BCL-2 ninguno y para el virus de papiloma humano 2 positivos (10%). La sobrevida en el grupo negativo a p53 fue de 44.8 meses, mientras en el grupo positivo fue de 34.4, con un valor estadístico de $p=0.17$ (**Cuadro 2**). El análisis para ver la asociación de virus del papiloma humano, mutación del gen p53 y BCL-2 con cáncer de pene, mediante Chi 2 no fue estadísticamente significativa. Lo anterior se traduce en que si un paciente resulta positivo para p53, es más probable que presente adenopatía inguinal al momento del diagnóstico y que estos ganglios sean más grandes. Asimismo, es más probable que sean sometidos a una linfadenectomía pélvica bilateral y que estos ganglios sean positivos, y lo más importante, que tengan una expectativa de vida menor al grupo negativo a p53.

DISCUSIÓN

Además de los factores de riesgo ya identificados y aceptados para su uso clínico, como las malas prácticas higiénicas y la infección por *Mycobacterium smegmatis*, la presencia de alteraciones en el oncogen p53 son factores negativos para la sobrevida del paciente, ya que esta empeora el pronóstico de manera importante. No se demostró asociación entre la presencia del virus del papiloma humano y el cáncer de pene en este grupo, al contrario de lo descrito en la literatura internacional, en donde se identifica una alta relación de casos de cáncer de pene con la presencia de infección por el mismo.¹¹⁻¹⁴ Por otra parte, en nuestra serie el porcentaje de

pacientes que expresan mutaciones en el oncogen p53 es mayor que el descrito en otras series, mientras que la asociación entre este y la infección por virus del papiloma humano es mucho menor.^{15,16}

Los mejores factores pronósticos relacionados con la sobrevida siguen siendo la presencia de ganglios linfáticos positivos, el número y el sitio de ganglios positivos y el involucro extracapsular ganglionar,¹⁷⁻²⁰ mientras que los factores predictivos para la presencia de metástasis ganglionares son la localización, el tamaño del tumor, el grado, la invasión a los cuerpos cavernosos y la asociación existente entre estos factores.^{21,22}

CONCLUSIÓN

Aunque el p53 se encontró en un porcentaje elevado, no existió asociación significativa entre el virus del papiloma humano, el p53 y el BCL-2 con el cáncer de pene, por lo que consideramos que no es un marcador pronóstico independiente para la agresividad y la sobrevida. Si bien en la mayoría de estudios sobre este tema se asocia la presencia de infección por virus del papiloma humano y con la presencia de mutaciones de p53 con el cáncer de pene,¹⁶ los resultados globales deben de ser validados de manera prospectiva antes de que sean incorporados a la práctica clínica. El valor estadístico asignado a la sobrevida de los pacientes en nuestro grupo ($p=0.17$) no resulta ser significativo, por lo que es necesario ampliar el universo de pacientes tanto positivos como negativos a p53 para incrementar la sensibilidad de esta prueba (**Figura 1**).

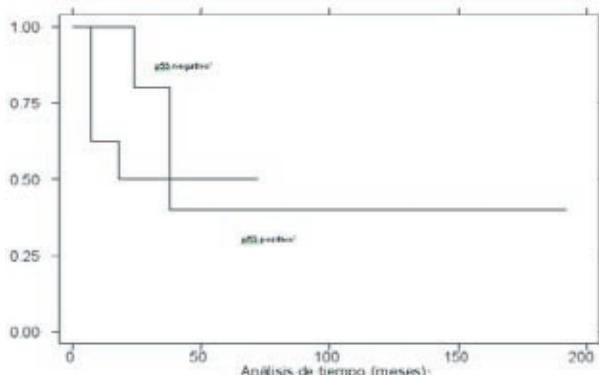


Figura 1. Expresión de p53 y sobrevida.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mobilio G, Ficarra V. Genital treatment of penile carcinoma. *Curr Opin Urol.* 2001;11:299-304.
2. Cubilla AL, Reuter V, Velásquez E, Piris A, Saito S, Young RH. Histologic classification of penile carcinoma and its relation to outcome in 61 patients with primary resection. *Int J Surg Pathol.* 2001;9:111-20.
3. Ornella AA, Seixas ALC, Marota A, Wisnesky A, Campos F, de Morales JR. Surgical treatment of invasive squamous cell carcinoma of the penis: retrospective analysis of 350 cases. *J Urol.* 1994;151:1244-9.
4. Pizzocaro G, Piva L, Nicolai N. Treatment of lymphatic metastases of squamous cell carcinoma of the penis at the National Tumor Institute of Milan. *Arch Ital Urol Androl.* 1996;68:169-72.
5. Ficarra V, Martignoni G, Maffei N, Cerutti MA, Novara G, Cavalleri S, Artibani W. Predictive pathological factors of lymph nodes involvement in the squamous cell carcinoma of the penis. *Int Urol Nephrol.* 2002;34:245-50.
6. Burgers JK, Badalament RA, Drago JR. Penile Cancer. Clinical presentation, diagnosis and staging. *Urol Clin North Am.* 1992;19:247-56.
7. Becerra AL, Lopes A, Landman G, Alentar GN, Torloni H, Villa LL. Clinicopathologic features and human papillomavirus DNA prevalence of warty and squamous cell carcinoma of the penis. *Am J Surg Pathol.* 2001;25:673-8.
8. Martins AC, Faria SM, Cologna AJ, Suaid HJ, Tucci S Jr. Immunoexpression of p53 protein and proliferating cell nuclear antigen in penile carcinoma. *J Urol.* 2002;167:89-92.
9. May P, May E. Twenty years of p53 research: Structural and functional aspects of the p53 protein. *Oncogene.* 1999;18:7621-36.
10. Adams JM, Cory S. The BCL-2 protein family: Arbiters of cell survival. *Science.* 1998;281:1322-6.
11. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science.* 1991;253:49-53.
12. Sabed S, Keehn CA, Khalil FK, Morgan FB. Immunohistochemical expression of Bax and BCL-2 in penile carcinoma. *Ann Clin Lab Sci.* 2005;35:91-6.
13. Gentile V, Vicini P, Giacomelli L, Cardillo MR, Pierangeli A, Degener AM. Detecting of human papillomavirus DNA, p53 and ki67 expression in penile carcinomas. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2006;19:209-15.
14. Humbey O, Cairey-Remonay S, Guerrini JS, Algros MP, Mougin C, Bittard H, Aubin F. Detection of the human papillomavirus and analysis of the p53 polymorphism of exon 4 at codon 72 in penile squamous cell carcinomas. *Eur J Cancer.* 2003;39:684-90.
15. Levi JE, Rahal P, Sarkis AS, Villa L. Human papillomavirus DNA and p53 status in penile carcinomas. *Int J Cancer.* 1998;76:779-83.
16. Zhang XH, Sun GQ, Yang Y, Zhang TH. Human papillomavirus and p53 protein immunoreactivity in condylomata acuminatum and squamous cell carcinoma of the penis. *J Urol.* 2001;3:75-7.
17. Ravi R. Correlation between the extent of nodal involvement and survival following groin dissection for carcinoma of the penis. *Br J Urol.* 2003;72:817-9.
18. Ricos Torrent JV, Ramon Borja JC, Iborra Juan I, Monros Iliso JL, Dumont Martinez R, Solsona Nabor E. Locoregional treatment of carcinoma of the penis. *Arch Esp Urol.* 1991;44:667-82.
19. Srinivas V, Morse M, Herr E, Sogani P, Whitmore W Jr. Penile cancer: relation of extent of nodal metastases to survival. *J Urol.* 1998;137:880-2.
20. Sarin R, Norman AR, Steel GG, Horwich A. Treatment results and prognostic factors in 101 men treated for squamous carcinoma of the penis. *BJU Int'l.* 1999;38:713-22.
21. Soria JC. Squamous cell carcinoma of the penis: multivariate analysis prognostic factors and natural history in monocentric study with a conservative policy. *Ann Oncol.* 1997;8:1089-98.
22. Horenblas S. Lymphadenectomy for squamous cell carcinoma of the penis. *BJU Int'l.* 2001;88:473-83.