



# MUTACIÓ DE TP53 EN CARCINOMES UROTELIALS INICIALS I EN LA PRIMERA RECIDIVA. ESTUDI PROSPECTIU.

Beatriz Garcia-Pelaez<sup>1</sup>, Ruth Roman<sup>1</sup>, Naim Hannaoui<sup>5</sup>, Josep M. Banús<sup>5</sup>, Montse Verdu<sup>1,3</sup>, Natalia Rodon<sup>1</sup>, Marta Gonzalez<sup>1</sup>, Xavier Puig<sup>1,2,3</sup> i Isabel Trias<sup>4</sup>, <sup>1</sup>BIOPAT. Biopatologia Molecular SL, Grup Assistència. <sup>2</sup>Hospital de Barcelona-SCIAS, Grup Assistència. <sup>3</sup>Histopat Laboratoris. <sup>4</sup>Hospital Plató, <sup>5</sup> Institut Català d'Urologia i Nefrologia SL (ICUN) Barcelona.

## INTRODUCCIÓ

El carcinoma urotelial (CU), és el tipus histològic més comú entre els tumors de bufeta representant aproximadament el 80%.

El gen supressor TP53 ubicat en el braç curt del cromosoma 17, codifica per una fosfoproteïna implicada en el control del cicle cel·lular e integritat del genoma. La pèrdua de funció d'aquesta proteïna ha estat descrita en el 50% de les neoplàsies humanes. En el CU, la presència de mutació de p53 es relaciona amb l'alt grau i progressió encara que no ha arribat a introduir-se com un factor pronòstic d'utilització clínica per discrepàncies en resultats de diferents estudis.

## OBJECTIU

Establir la incidència de mutació en una sèrie de neoplàsies urotelials inicials i la seva primera recidiva relacionant-ho amb grau i estadi.

## MATERIALS I MÈTODES

**Pacients i teixits.** Es va realitzar un estudi prospectiu de 39 carcinomes urotelials i la seva primera recidiva. Les dades de la sèrie inclouen (6 dones i 33 homes) amb una mitjana d'edat de 71,3 ( 9,1) anys en el moment d'aparició del tumor. La revisió del grau i estadi es va fer sobre la mateixa lamineta emprada per l'estudi mutacional, seguint els criteris de la OMS 2004 i la UICC 2009.

**Microdissecció i extracció del DNA.** Es van processar onze seccions de 5 µm de teixit fixat, 10 sense tenyir per cada cas (normal i tumoral), més una addicional per realitzar l'hematoxilina-eosina que es va fer servir com a mostra representativa per seleccionar l'àrea d'interès. L'extracció de DNA es va realitzar mitjançant el mètode de fenol-cloroform i posterior digestió amb proteïnasa K. Les reaccions d'amplificació dels diferents exons (E4, E5, E6, E7 i E8) es van realitzar a partir de 200 ng de DNA en 5 reaccions independents, posteriorment a la comprovació de la qualitat del DNA mitjançant l'amplificació d'un fragment de 268 pb del gen de la β-globina humana.

**SSCP i seqüenciació.** L'anàlisi mutacional es va dur a terme mitjançant SSCP en gels no desnaturalitzants de poliacrilamida en dos condicions diferents i el revelat final per tinció de plata. Les mostres que presentaven un patró de mobilitat alterat de tumor vs normal van ser reamplificades i seqüenciades per determinar la mutació.

## RESULTATS

**Tumors inicials:** Dels 39 CU, 16 (41%) son de baix grau (14TA i 2T1), mentre 23 casos (59%) son d'alt grau (7TA, 8T1, 8T2-T4) (Taula 1).

L'estudi de mutacions de p53 mostra que dels 39 casos estudiats, 8 presenten mutació, 1 és no avaluable i els 30 restants son negatius en el tumor inicial. La presència de mutacions es troba associada a casos d'alt grau (34%) (Figura 1) però sense relació aparent amb el T (2/7TA, 3/8TA i 3/8T2).

**Recidives:** Dels 8 casos que presenten mutació en el tumor inicial, 4 conserven la mateixa mutació tipus *missense* en la seva primera recidiva, en 2 d'ells l'estudi és no avaluable, mentre que en 2, la mutació passa a ser negativa. D'altre banda, en 2 dels 30 casos negatius en el tumor inicial apareix mutació a la recidiva (tipus *missense* i *frameshift*), un d'ells progressant el grau (Taula 2)..

**Progressió:** Dels 39 carcinomes urotelials, 2 progressen de TA a T1, en un cas el tumor inicial es troba mutat. Quatre casos passen de baix a alt grau, en un d'ells apareix la mutació a la recidiva.

## CONCLUSIONS

- La presència de mutacions de p53 en tumors primaris s'associa a tumors d'alt grau.
- La persistència de la mateixa mutació de p53 en la primera recidiva confirma que es tracta del mateix procés neoplàsic mentre que quan la recidiva és negativa es pot plantejar que es tracti d'una nova neoplàsia.
- Les mutacions trobades "de novo" en les primeres recidives suggereixen una transformació de la malaltia a nivell molecular.

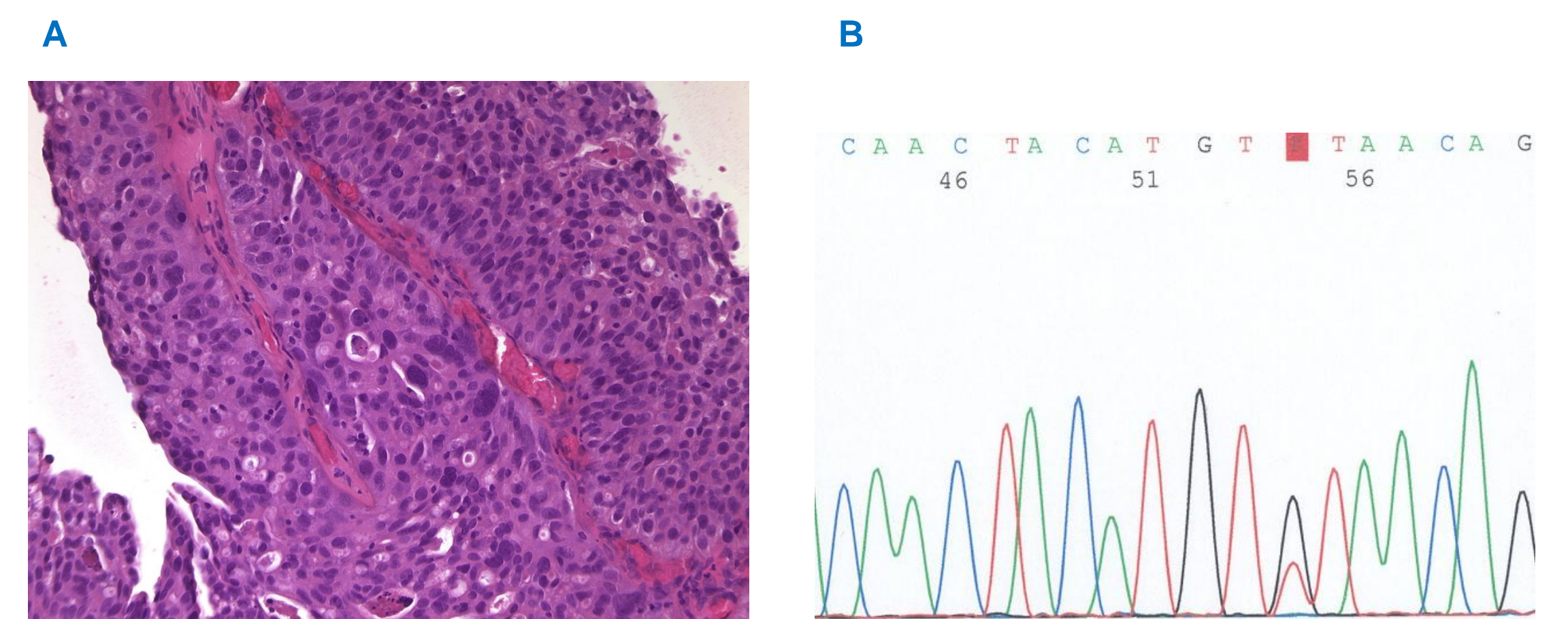


Figura 1. A. Carcinoma urotelial d'alt grau H&E (x200). B. Detall de la seqüència d'una mutació tipus *missense* en l'exó 7 de la p53.

		TUMORS INICIALS																	
		BAIX GRAU (16)																	
pT	Mutació	TA (14)			T1 (2)			T2-T4 (0)			Tis (0)								
		S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV						
	n	-	14	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-						
		RECIDIVES																	
		BAIX GRAU (12)						ALT GRAU (4)											
		TA (12)		T1 (0)		T2-T4 (0)		Tis (0)		TA (3)		T1 (0)		T2-T4 (0)		Tis (1)			
		S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV
	n	-	12	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	1
		TUMORS INICIALS																	
		ALT GRAU (23)																	
pT	Mutació	TA (7)			T1 (8)			T2-T4 (8)			Tis (0)								
		S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV						
	n	2	5	-	3	5	-	3	5	-	-	-	-						
		RECIDIVES																	
		BAIX GRAU (4)						ALT GRAU (19)											
		TA (4)		T1 (0)		T2-T4 (0)		Tis (0)		TA (4)		T1 (5)		T2-T4 (4)		Tis (6)			
		S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV	S	N	NV
	n	1	2	1	-	-	-	-	-	-	1	3	1	4	2	2	-	-	2

Taula 1. Descripció de la sèrie en funció del grau.

Tumors inicials					Recidives				
Exó	Codó	aa	T	Grau	Exó	Codó	aa	T	Grau
5	161	Ala a Thr	Ta	AG →	5	161	Ala a Thr	T1b	AG
7	258	Glu a Val	Ta	AG →	7	258	Glu a Val	Ta	AG
5	179	Leu a Tyr	T2	AG →	5	179	Leu a Tyr	T2	AG
5	132	Lys a Asn	T2	AG →	5	132	Lys a Asn	Ta	AG
5	158	Arg a Cys	T1	AG →	-	-	negativa	Ta	AG
8	280	Arg a Thr	T1	AG →	-	-	negativa	Ta	AG
5	180	Glu a Lys	T2	AG →	-	-	negativa	Tis	AG
6	220	Tyr a Cys	T1	AG →	-	-	nv	Tis	AG
7	246	Met a Val	T1	AG →	-	-	nv	Tis	AG
-	-	negativa	T2	AG →	4	86-89	deleció 13 nt	T2	AG
-	-	negativa	Ta	BG →	8	285	Glu a Lys	Ta	AG

Taula 2. Presència de mutacions de p53 en tumors inicials i la seva primera recidiva.

## REFERÈNCIES

- Erill *et al.*, 2004. *Diagn Mol Pathol* 13: 217-223.  
 Malalts N *et al.*, 2005. *Lancet Oncol* 6: 678-686.  
 Sobin LH *et al.*, 2009. *UICC. TNM Classification of Malignant Tumors. (Seventh Edition)*