

EXPRESIÓN DE MARCADORES TUMORALES P16, CICLINA D1, BCL2 Y KI67 EN CÁNCER DE PENE

EXPRESSION OF TUMOR MARKERS P16, CICLIN D1, BCL2 AND KI67 IN PENILE CANCER

ALVARO HORNIG E¹, LUIS TRONCOSO SCH¹, DANTE CORTI O¹, ANDRÓNICO FONERON B¹, LUIS EBEL S¹, CRISTIAN CARRASCO L², GONZALO GIL C¹, GONZALO VALDEVENTO A¹.

¹Departamento de Urología, Hospital Clínico Regional Valdivia, Universidad Austral de Chile. ²Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Regional Valdivia, Universidad Austral de Chile.

RESUMEN

El cáncer de pene es una enfermedad de baja incidencia. Su tratamiento se basa en la cirugía y no está establecido si el control tumoral local debe o no ser complementado con linfadenectomía inguinal y pélvica. La linfadenectomía en el cáncer de pene se asocia a elevadas tasas de complicaciones y no está establecido a qué pacientes se les debe realizar. Éste trabajo retrospectivo analiza la expresión de marcadores tumorales en cáncer de pene y su correlación con otros factores pronósticos. La expresión del marcador Ciclina D1 fue alta en todas las muestras, la de Ki-67 y P16 fue alta en los tumores de alto grado y la de BCL-2 fue negativa en todos los casos. Palabras claves: Cáncer de Pene, Marcadores tumorales.

ABSTRACT

Penile carcinoma is a low incidence disease. Treatment is based in surgery and controversy persists regarding the need of inguinal and pelvic lymphadenectomy. To date, no specific inclusion criteria have been established to indicate surgery. This retrospective work analyses the expression of tumoral markers in penile cancer and correlation with other prognostic factors. The expression of the Cicine D1 marker was high in all the samples, Ki-67, P16 was high in high grade tumors and BCL-2 was negative in all cases.

Key words: Penile Carcinoma, Tumor Markers

Correspondencia a: Dr. Alvaro Hornig E. Departamento de Urología, Hospital Clínico Regional de Valdivia. Valdivia, Chile. E mail: alvarohornig@hotmail.com

Recibido: 29 de mayo de 2009. Aceptado: 28 de julio de 2009.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de pene es una neoplasia de baja incidencia, corresponde aproximadamente al 0,4 a 0,6% de todos los cánceres. Sin embargo, ésta cifra puede llegar hasta un 10% en zonas de extrema pobreza. El pronóstico de la enfermedad está dado fundamentalmente por las características anatómo-patológicas del tumor y por la presencia y extensión de metástasis linfáticas, siendo éste último parámetro el de mayor significancia¹. La linfadenectomía es el mejor método de tratamiento de las metástasis ganglionares, sin embargo, presenta una serie de inconvenientes: es un procedimiento laborioso y con una alta tasa de morbi-mortalidad asociada. Treinta a sesenta por ciento de los pacientes tiene linfadenopatías palpables al momento del diagnóstico, que pueden deberse a infección o localización secundaria; 10%-15% de los pacientes con ganglios clínicamente normales tiene metástasis ocultas y no se dispone de un test que indique que pacientes deben ser sometidos a una linfadenectomía profiláctica². El objetivo del presente trabajo es evaluar la presencia de los marcadores tumorales P16, Ciclina D1, Ki67 y BCL2 y su correlación con factores pronósticos de metástasis ganglionares previamente establecidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se identifican 52 pacientes diagnosticados con cáncer de pene en el Hospital Clínico Regional Valdivia entre los años 1971 y 2008. De éstos se obtienen muestras fijadas en parafina correspondientes a 23 pacientes. Se realiza un análisis retrospectivo de los enfermos clasificándolos según TNM 2002. Sólo fue sometido a análisis el grado de invasión del tumor primario, ya que la valoración de metástasis ganglionares y de metástasis a distancia, por lo extensa de la serie en términos de incluir casos diagnosticados en los años 70's y 80's, no fue realizada con imagenología avanzada como Tomografía Axial Computada o Resonancia Nuclear Magnética y en la mayoría de los casos la valoración fue sólo clínica. Además ningún caso fue sometido a linfadenectomía profiláctica. Las muestras histopatológicas son clasificadas según sistema de Broders en lesiones de alto y bajo grado y se lleva a cabo el análisis inmuno-histoquímico evaluando la expresión de P16, Ciclina D1, BCL2 y Ki67. Los datos son tabulados y se realiza análisis de significación estadística según la prueba exacta de Fisher.

RESULTADOS

De las 23 muestras obtenidas, todas corresponden a tumores invasores. Veintiuno de ellos correspondían a tumores escamosos y dos a tumores condilomatosos, los que fueron excluidos de la serie. La clasificación según TNM 2002 y sistema de Broders se presenta en la Tabla 1.

En el análisis de la expresión de los marcadores y el grado de invasión del tumor primario, la serie fue separada en lesiones con bajo grado de invasión (T1) y en lesiones con alto grado de invasión (\geq T2). La expresión de P16, Ciclina D1, BCL2 y Ki67 para lesiones T1 fue de 60, 100, 0 y 49% respectivamente. Para lesiones \geq T2 la expresión fue 50%, 90%, 0% y 36,8%, respectivamente. No hubo diferencias estadísticamente significativas al comparar la expresión de éstos marcadores (Tabla 2).

En cuanto a la expresión de marcadores y el grado tumoral según la clasificación de Broders, la expresión de P16, Ciclina D1, BCL2 y Ki67 para lesiones de alto grado fue de 45%, 45%, 100%, 0% y 36%, respectivamente y para lesiones de bajo grado fue de 0%, 70%, 0% y 5,35%, respectivamente. Hubo diferencias estadísticamente significativas al comparar la expresión de P16 y Ki67 (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Los pacientes portadores de cáncer de pene han sido clasificados según el riesgo de tener metástasis ganglionares (y, por lo tanto, un mal pronóstico) en pacientes de alto y bajo riesgo. Los pacientes de alto riesgo son aquellos que en la biopsia del tumor o en el análisis de la pieza operatoria presentan invasión de cuerpos cavernosos o del cuerpo esponjoso, invasión

Tabla 1

TNM 2002	N
T1	5
T2	5
T3	5
Tx	8
Clasificación de Broders	
Bajo grado	10
Alto grado	11

Tabla 2

	T1 (%) n =5	≥T2 (%) n =10	p (<0,05)
P16	3/5 (60%)	5/10 (50%)	1
Ciclina D1	5/5 (100%)	9/10 (90%)	1
BCL2	0/5 (0%)	0/10 (0%)	
Ki-67	49%	36,8%	0,0858

Tabla 3

	Lesiones de alto grado (%) n =11	Lesiones de bajo grado (%) n =10	p (<0,05)
P16	5/11 (45,45%)	0/10 (0%)	0,0351
Ciclina D1	11/11 (100%)	7/10 (70%)	0,0902
BCL2	0/11 (0%)	0/10 (0%)	
Ki67%	36%	5,35%	<0,001

linfovascular o mayor grado tumoral. Si los pacientes catalogados como de alto riesgo, según éstos criterios, son sometidos a una linfadenectomía profiláctica, alrededor del 82% de será sobretratado², no encontrándose metástasis. De los pacientes sometidos a linfadenectomía un 50%-58% presentará complicaciones como linfedema, linfocele, flebitis, embolia pulmonar, infección de la herida o necrosis del colgajo. La mortalidad general asociada al procedimiento es de 1%³. Es entonces necesario establecer factores pronósticos adicionales de un comportamiento más agresivo de la enfermedad y en base a esto determinar qué pacientes deben efectuarse una linfadenectomía profiláctica.

Con respecto a la biología molecular del cáncer de pene, han sido descritos numerosos cambios genéticos desde la aparición de displasia hasta carcinoma invasor y metástasis a distancia⁴. Además, numerosos marcadores tumorales han sido descritos en el cáncer de pene, pero las proteínas p53 y la E-caderina se asocian a la presencia de metástasis ganglionares. La expresión de otros marcadores tumorales ha sido investigada en el cáncer de pene y otras neoplasias como cáncer de vejiga, linfoma de Hodgkin y tumores escamosos de cabeza y cuello, pero los reportes son escasos y de casuísticas también escasas⁵⁻⁹.

Proteína P16: la proteína P16 forma parte de la vía P16/Ciclina D1/Retinoblastoma y es un inhibidor de kinasas dependiente de ciclinas. Su presencia se

asocia a infección por virus papiloma humano (HPV) de cepas 16 y 18 (de alto riesgo) en un 29% y su expresión ha sido descrita en un 54% de los cánceres de pene. En nuestra serie hubo expresión de P16 en un 53,33% de los casos, lo que coincide con la única publicación existente¹⁰. La expresión de P16 fue similar tanto en tumores invasores (60%) como no invasores (50%) y fue mayor en tumores de alto grado, lo que fue estadísticamente significativo (p =0,035). Figura 1: muestra control, Figura 2: muestra con expresión del marcador.

Ciclina D1: es un proto-oncogen regulador de la progresión de fase G1 a S en diversas células. Su sobre-expresión ha sido ligada al desarrollo y progresión de diversas neoplasias y a la resistencia a quimioterapia en el cáncer de mama^{11,12}, su rol en el cáncer de pene no ha sido descrito en la literatura. En nuestra serie posee altos niveles de expresión, tanto en lesiones invasoras como no invasoras y en lesiones de alto y bajo grado. No hubo diferencias estadísticamente significativas en los parámetros analizados. Figura 3: muestra control, Figura 4: muestra con expresión del marcador.

BCL2: es una proteína anti-apoptótica que es contrarregulada por otro péptido pre-apoptótico: BAX. El desbalance entre éstas ha sido descrito en numerosas neoplasias, incluida el cáncer de pene¹³. Su sobre-expresión ha sido asociada a carcinoma

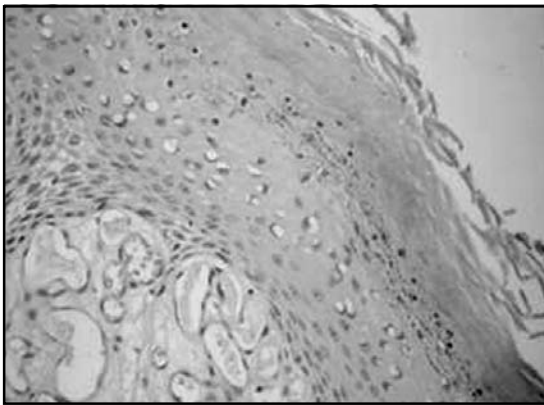


FIGURA 1.

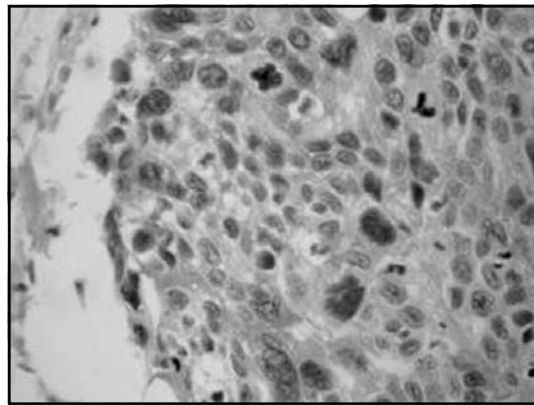


FIGURA 2.

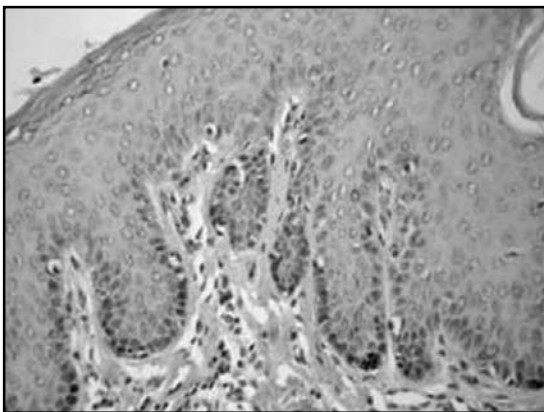


FIGURA 3.

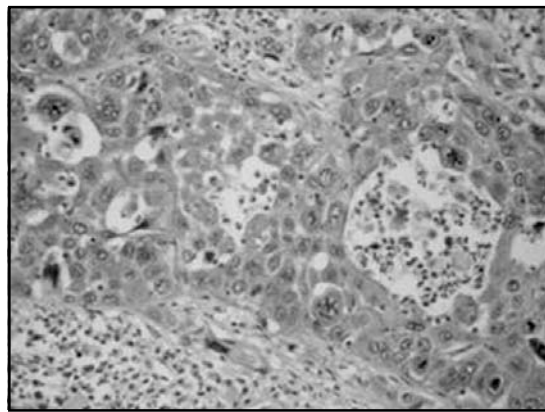


FIGURA 4.

urotelial de bajo grado, donde es descrito como gen de regulación de la apoptosis celular⁷. Su expresión en cáncer de pene de diferenciación verrucosa fue de $36 \pm 14\%$ y $69 \pm 12\%$ para carcinoma escamoso en el único trabajo existente¹⁴. En nuestra serie no hubo expresión de BCL-2, lo que no concuerda con el único trabajo publicado. Figura 5: muestra control, Figura 6: muestra con expresión del marcador.

Ki67: Su expresión es un método de valoración de proliferación de células tumorales¹⁵. Se relaciona con el grado tumoral y ha sido descrito como factor pronóstico en carcinoma escamoso de cuello, cáncer de vejiga y linfoma no Hodgkin. Su valoración se realiza como un índice: porcentaje de núcleos tumorales positivos divididos por el número total de células tumorales examinadas¹³. En nuestra serie éste index

fue establecido en 27,4%, siendo los niveles inferiores a éste valor considerados como baja expresión y los niveles iguales o superiores como de alta expresión. En el único estudio publicado, Nerdjis et al estableció un index de 40,5%¹⁶. La expresión de Ki67 en éste estudio para lesiones T1 fue de 36,2% y para lesiones $\geq T2$ de 45,3%, no siendo la diferencia estadísticamente significativa. La expresión para lesiones de bajo y alto grado fue de 20% y 66% respectivamente, lo que fue estadísticamente significativo ($p < 0,005$). En nuestra serie el Ki67 tuvo una expresión de 49% y 36,8% en lesiones T1 y $\geq T2$ respectivamente. En lesiones de alto grado fue de 36%, mientras que en lesiones de bajo grado fue de 5,35%, lo que fue estadísticamente significativo ($p < 0,001$). Figura 7: muestra control, Figura 8: muestra con expresión del marcador.

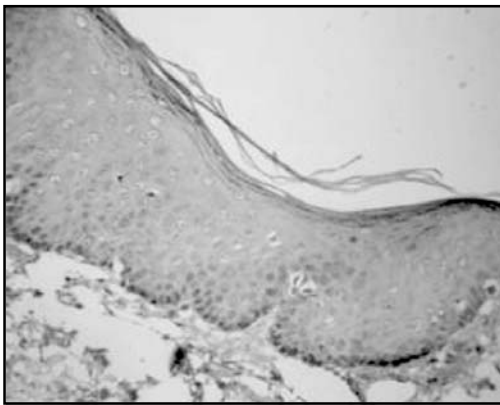


FIGURA 5.

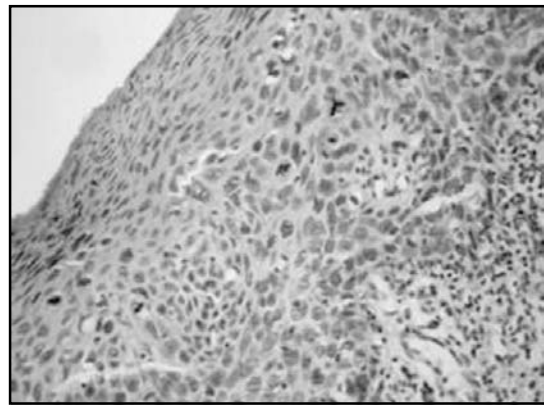


FIGURA 6.

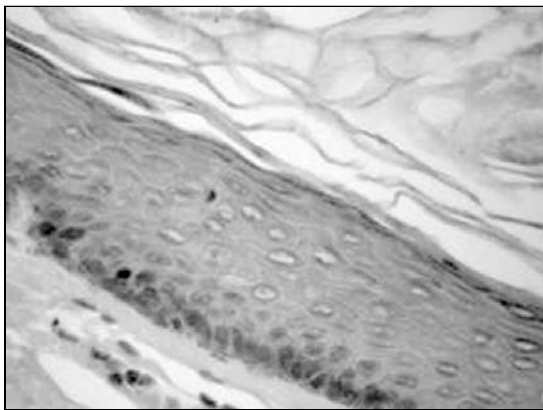


FIGURA 7.

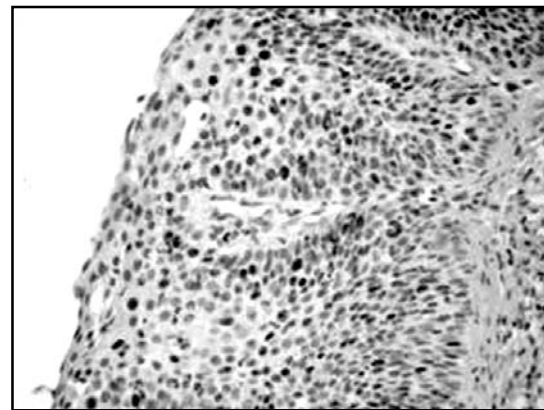


FIGURA 8.

CONCLUSIONES

La expresión de Ciclina D1 fue alta en todas las variables examinadas, lo que pudiera significar que la expresión de éste marcador está presente desde la carcinogénesis y su expresión ser un marcador de cáncer en lesiones dudosas. Se requieren mayores estudios al respecto.

En nuestra serie no hubo expresión de BCL-2, lo que no concuerda con el único trabajo publicado.

La expresión de P16 y Ki67 se correlaciona con tumores de alto grado en el cáncer de pene, lo que podría indicar un mayor riesgo de metástasis ganglionares según los factores de mal pronóstico clásicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. A prospective study of 100 cases of penile cancer managed according to European Association of Urology guidelines. *BJU Int* 2006; 98: 526-31.
2. Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: independent prognosticators for inguinal lymph node metastasis in penile squamous cancer. *J Urol* 2001; 165: 1138-42.
3. Treatment of the inguinal regions in penile cancer: a review of the literature and treatment proposal. *Canadian Journal of Urology* 2006; 13(1): 2978-83.
4. Molecular and genetic pathways in penile cancer. *Lancet Oncol* 2007; 8: 420-29.

5. P53 as a new pronostic factor for lymph node metastasis in penile carcinoma: analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. *J Urol* 2002; 168: 81-6.
6. E-cadherin, MMP-2 and MMP-9 as prognostic markers in penile cancer: analysis of 125 patients. *Urology* 2006; 67: 797-802.
7. Estudio comparativo de la expresión de p53, Ki67, bcl-2 y CK20 en el carcinoma transicional superficial de vejiga: correlación con la recurrencia, grado histológico y estadio clínico. *Act Urol Esp* 2003; 27(8): 587-93.
8. Immunoexpression of p53 protein and proliferating cell nuclear antigen in penile carcinoma. *J Urol* 2002; 167: 89-93.
9. E-cadherin, MMP-2 and MMP-9 as prognostic markers in penile cancer: analysis of 125 patients. *Urology* 2006; 67: 797-802.
10. Human papillomavirus-associated increase in p16ink4a expression in penile lichen sclerosus and squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2008; 158: 261-65.
11. The regulation of cyclin D1 degradation: roles in cancer development and the potential for therapeutic invention. *Molecular Cancer* 2007; 6: 24.
12. Amplificación del gen de la ciclina D1 en los carcinomas adenoides quísticos de la glándulas salivares menores. *Act Otorr Esp* 2004; 55: 88-92.
13. Bcl-x, a Bcl-2 related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 1993; 74: 597-608.
14. Immunohistochemical expression of Bax and Bcl-2 in penile carcinoma. *Ann Clin Lab Sci* 2005; 35: 91-96.
15. The Ki67 proliferation index is a quantitative indicator of clinical risk in mantle cell lymphoma. *Blood* 2006; 107: 3407.
16. Expression of Ki67 in squamous cell carcinoma of the penis. *BJU Int* 2005; 96: 146-8.