

## Aplicación de un nuevo marcador inmunohistoquímico (P504S o AMACR) en patología prostática

P. Fernández

Hospital Virgen del Camino. Pamplona

### FUNDAMENTO

La incidencia de cáncer de próstata se ha incrementado notablemente en los últimos 10 años, motivado por varios factores como son: el aumento de la edad media de la población, las mejoras en las técnicas diagnósticas, así como la implantación de los programas de screening.

Todo esto ha provocado que el diagnóstico de cáncer se realice en estadios más iniciales, pero también que cada vez sea más frecuente encontrarnos con lesiones dudosas, o carcinomas de tamaño mínimo que provocan grandes problemas diagnósticos. También pueden crear conflicto diagnóstico aquellos casos de carcinomas modificados por tratamientos hormonal o radioterápico.

El diagnóstico del adenocarcinoma de la próstata se realiza siguiendo criterios histológicos: pérdida de crecimiento infiltrativo, expresado como pérdida de la capa de células basales, núcleo grande e hiper cromático y nucleolo prominente y eosinófilo.

El marcador inmunohistoquímico que más se ha utilizado tradicionalmente en el diagnóstico del cáncer de próstata es la queratina de alto peso (34BE12), para demostrar la presencia de capa de células basales. La misma utilidad tienen la citoqueratina 5/6 así como p63. P63 es especialmente útil al poseer una tinción nuclear frente a la tinción citoplasmática de las queratinas. Sin embargo, el marcaje inmunohistoquímico de las células basales tiene una utilidad algo limitada; es cierto que su positividad prácticamente excluye el diagnóstico de cáncer, sin embargo lo contrario no asegura dicho diagnóstico. Esto es debido a que lesiones benignas de la próstata, principalmente la atrofia y la adenosis que presentan un marcaje de la célula basal débil, discontinuo e incluso ausente.

Alfa metilacil CoA racemasa (clon p504s) fue descrita por primera vez en el año 2000 y posteriormente estudiada en distintos trabajos. Se ha revelado como marcador de malignidad y preneoplasia no sólo en la próstata, donde inicialmente se empezó a estudiar, sino también en otros órganos. En la próstata tendría alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de cáncer, independientemente del grado o tipo histológico, así como en PIN (neoplasia intraepitelial prostática). Sin embargo, puede mostrar positividad débil en lesiones benignas como adenosis.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos realizado un estudio retrospectivo, examinando un total de 323 casos, todos ellos procedentes

del archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Virgen del Camino de Pamplona.

Los casos procedían de distintos métodos de biopsia, como son: 157 biopsias con aguja, 158 prostatectomías, 3 rtu, y 5 adenomectomías.

Se establecieron seis grupos a estudio: adenocarcinoma, mínimo adenocarcinoma, PIN, proliferación microacinar atípica, cáncer post-tratamiento hormonal y lesiones benignas:

1. Adenocarcinoma: 95 casos de adenocarcinoma (65 de biopsia con aguja, 27 de prostatectomías, 2 de rtu y 1 de adenomectomía). Según el grado Gleason obtuvimos: Gleason 4:1; Gleason 5:1; Gleason 6: 57; Gleason 7: 15; Gleason 8: 10; Gleason 9: 6; Gleason 10: 6. Además incluimos los siguientes tipos histológicos: 8 carcinomas de célula clara, 3 de células en anillo de sello, 1 atrófico, 1 pseudohiperplásico y 2 ductal.
2. Mínimos adenocarcinomas: 18 casos de mínimo adenocarcinoma, todos ellos procedentes de biopsia con aguja.
3. PIN: 58 casos de PIN de alto grado (7 de biopsia con aguja, 50 de prostatectomías y 1 de rtu). Se subdividieron en función de si había o no carcinoma en la misma sección.
4. Grupo sospechoso o proliferación microacinar atípica: 50 casos, todos ellos procedentes de biopsia con aguja.
5. Adenocarcinomas post-tratamiento hormonal: 57 casos todos ellos de prostatectomías. Se valoró porcentaje de células e intensidad de tinción según el efecto de la hormonoterapia.
6. Benigno: 44 casos (17 de biopsia con aguja, 23 de prostatectomía y 4 de adenomectomía). Las lesiones que se evaluaron fueron 9 adenosis, 4 de inflamación, 5 de atrofia glandular, 10 casos de metaplasia, 12 casos de hiperplasia de basales y 4 de hiperplasia benigna de próstata.

Se realizó el estudio inmunohistoquímico con pin cóctel y p504s fue realizado en secciones de 5 µm del tejido previamente fijado en formol e incluido en parafina.

Estudio estadístico: se estudió la sensibilidad y especificidad en todos los grupos y en el grupo PIN y adenocarcinoma post-tratamiento hormonal se realizó un análisis de correlación por medio del test de  $\chi^2$  ( $p \leq 0,05$ ).

**RESULTADOS**

**Expresión en adenocarcinomas de próstata.** p504s se expresó en 91/95 (95,7%). Sensibilidad 95%. Cuatro casos fueron negativos (4,2%). Entre los 4 casos negativos, uno fue la variante atrófica y otro el tipo de células en anillo de sello. Según el grado dos fueron Gleason 6, uno fue un Gleason 7 y el último un Gleason 8.

En los positivos la distribución del Gleason fue: 58 casos un Gleason 6 o inferior, 11 casos fueron Gleason 7, y 22 casos un Gleason 8 o superior.

En todos los casos se evidenció la ausencia de capa de células basales por medio de la negatividad con p63.

**Expresión en mínimos adenocarcinomas.** Obtuvimos 10 casos positivos (55,5%), 1 negativos y en 7 no se pudo valorar debido a la pérdida del foco mínimo al realizar la técnica. Los casos que expresaron p504s, no mostraron tinción con p63. Sensibilidad 90%.

**Expresión en PIN.** Obtuvimos 35 casos con carcinoma en vecindad y 25 sin carcinoma adyacente. Los casos con carcinoma fueron positivos todos (100%). Los que no tenían carcinoma en vecindad fueron 18 positivos con p504s y 7 casos negativos. La sensibilidad fue del 90%. Hubo diferencias significativas en la expresión de p504s entre los próximos al carcinoma y los alejados con una  $p=0,0027$ .

**Expresión en proliferación microacinar atípica.** Encontramos expresión de AMACR en 24 casos (48%), 6 fueron negativos y 20 (40%) no pudieron valorarse al perderse el foco sospechoso en la seriación. Todos los casos positivos carecían de expresión de p63, lo cual apoyaría el diagnóstico de carcinoma. Sin embargo, en los 6 casos negativos, 2 tuvieron una p63 negativa, y por tanto más probabilidad de malignidad y los otros 4, sí expresaron p63 (aunque discontinua) por tanto mayor probabilidad de ser focos benignos. La sensibilidad fue del 80%.

**Expresión en el grupo de adenocarcinomas sometidos a tratamiento hormonal.** Encontramos una ausencia de tinción con p504s en 27 casos (47,3%) y tinción positiva en 30 (52,6%). En la evaluación del efecto de la hormonoterapia encontramos 29 casos con intensos cambios, 26 moderados y 2 con pocas modificaciones. No se encontró correlación significativa entre intensidad del efecto hormonal sobre el tumor y la intensidad de la tinción y el porcentaje de células tumorales teñidas ( $p=0,0764$  y  $\rho=0,6107$  respectivamente). La sensibilidad fue del 52%.

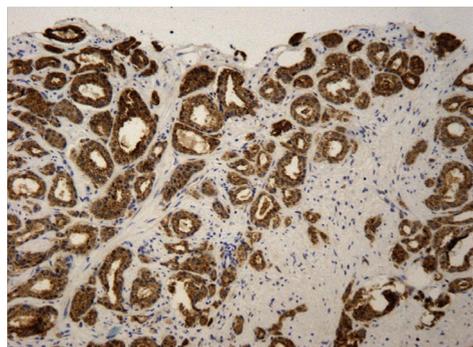
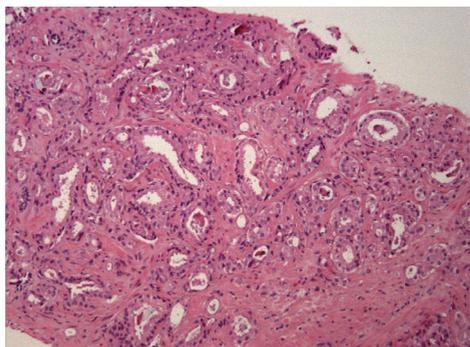
**Expresión en el grupo benigno.** p504s fue negativo con marcaje de la capa de células basales en 43 casos (95,5%). En dos casos p504s fue positivo. Ambos casos fueron adenosis. En una de ellas, la capa basal estuvo presente de forma discontinua. y en la otra ausente apoyando el diagnóstico de adenocarcinoma. Los otros 7 casos de adenosis, dos tuvieron una capa basal definida y en cinco ésta fue discontinua. La especificidad fue del 95%.

**CONCLUSIONES**

1. P504s o AMACR es un excelente marcador inmunohistoquímico de cáncer de próstata, con una elevada sensibilidad.
2. P504s se expresa en el cáncer de próstata, independientemente del grado de Gleason.
3. P504s se expresa en el cáncer de próstata, independientemente del tipo histológico.
4. P504s es un marcador sensible en detectar focos de mínimo adenocarcinoma.
5. P504s tiene una sensibilidad moderada en lesiones sospechosas o proliferación microacinar atípica.
6. P504s es un marcador sensible en los PIN, y su expresión depende de la proximidad al adenocarcinoma, siendo mayor en los que tienen carcinoma en vecindad.
7. P504 es un marcador específico para adenocarcinoma y PIN, al prácticamente carecer de expresión en lesiones benignas.
8. La conservación del foco patológico, cuando es muy pequeño, en las biopsias con aguja es difícil e impide la realización del estudio inmunohistoquímico en un alto porcentaje de casos.
9. La realización de p504s en lesiones sospechosas o de pequeño tamaño requiere del uso adicional de un marcador de célula basal y de la correlación morfológica para el diagnóstico definitivo.
10. P504s es muy poco sensible para detectar carcinoma cuando éste ha sido sometido a hormonoterapia.
11. En el diagnóstico diferencial de adenocarcinoma con lesiones benignas simuladoras de cáncer y con PIN de alto grado, se requiere el uso de los criterios morfológicos y de marcadores de célula basal.
12. El marcador de célula basal ideal para ser utilizado en combinación con p504s es p63 (pin cóctel).

**Tabla 1.** Grupos a estudio.

	Adenocarcinoma	Mínimo adenoc.	PIN	Sospechosos PMA	Adenoc post-tt <sup>o</sup>	Benigno
Biopsia con aguja	65	18	7	50		17
Prostatectomía	27		50		57	23
RTU	2		1			
adenomectomía	1					4
Total	95	18	58	50	57	44



**Figura 1.** Adenocarcinoma acinar convencional de próstata (H.E.x 200). Fuerte expresión de p504s en el tumor con ausencia de basal (Pin cóctel x200).

## Evaluación longitudinal sintomatológica, neuropsicológica y motora en primeros episodios psicóticos no tratados con antipsicóticos en la comunidad foral de Navarra

**M. J. Cuesta**

Unidad de Psiquiatría. Hospital Virgen del Camino. Pamplona.

### FUNDAMENTO

En las últimas décadas se han desarrollado métodos para la detección precoz de la esquizofrenia y se han llevado a cabo estudios para detectar síntomas precoces que puedan ser dianas de intervención, como las alteraciones cognitivas y neurológicas. En nuestro estudio nos planteamos los objetivos de valorar si aquellos pacientes que en las primeras fases de la enfermedad tienen alteraciones cognitivas y/o neurológicas, presentan una diferente evolución clínica a lo largo de seis meses de seguimiento.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha llevado a cabo un estudio prospectivo de seguimiento a seis meses de pacientes del área de salud de Pamplona (Navarra) con un primer episodio psicótico no tratado previamente con neurolepticos. Una vez reclutado el paciente, se recogieron datos sociodemográficos y se realizó en tres momentos diferentes (antes del tratamiento, al mes y a los seis meses), una exploración clínica, motora y neuropsicológica.

En la exploración clínica se incluyeron complicaciones obstétricas (CO), ajuste premórbido, personalidad premórbida, funcionamiento global previo (GAF), estado psicopatológico, duración de la psicosis no tratada (DUP), e intensidad, frecuencia y duración de tra-

tamiento. En la exploración neuropsicológica se aplicaron las siguientes pruebas: lateralidad de Annet, Toni-2, fluencia verbal, Trail Making Test-B, Wechsler Memoria y una batería informatizada COGLAB que incluye entre otras pruebas: Tiempo de reacción y Wisconsin Card Sorting Test (WCST). En la exploración del estado motor se administraron las siguientes escalas para detectar: Signos Neurológicos Menores (SNM), Movimientos Anormales Involuntarios, Síntomas Extrapiramidales, Acatasia y Síntomas Catatónicos.

### RESULTADOS

A lo largo de casi cuatro años de reclutamiento se han evaluado 100 primeros episodios psicóticos, 89 de los cuáles han realizado dos evaluaciones y 77 han completado las tres evaluaciones. A medida que se iban reclutando los pacientes se han realizado análisis preliminares de los datos.

En la tabla 1 se describen las características sociodemográficas, clínicas y premórbidas de dos muestras analizadas preliminarmente. En esta tabla, se señala la existencia de correlaciones significativas entre algunas variables motoras y cognitivas con la DUP, las CO y el ajuste premórbido. En la gráfica 1 se refleja la evolución de las pruebas neuropsicológicas y motoras a lo largo del seguimiento tras dividir la muestra en dos grupos según el neuroleptico principal empleado (54%

risperidona y 46% olanzapina), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ambos fármacos en la evolución de las variables a estudio, excepto en los errores perseverativos del WSCT a favor de la risperidona.

En la evolución de las variables cognitivas se observó que todas las pruebas neuropsicológicas mejoraron de manera significativa, independientemente del estado psicopatológico basal, del tipo de neuroléptico y de la dosis de anticolinérgicos empleados. Sólo los errores perseverativos del WSCT interaccionaron con el síndrome desorganizado basal.

En las alteraciones motoras se determinó que los movimientos anormales permanecían estables en el seguimiento, los síntomas extrapiramidales y la acatasia se incrementaron y los síntomas catatónicos y SNM disminuyeron, sin que interfiriera el tipo fármaco o la dosis de anticolinérgicos.

Tras el análisis de la relación entre los síntomas motores y cognitivos, se encontró que a mayor puntuación en parkinsonismo, síntomas catatónicos y SNM, peor rendimiento a los seis meses en fluencia verbal, Trail Making Test - B y Wechsler Memoria.

El estudio de la estabilidad diagnóstica a los seis meses detectó una alta consistencia prospectiva en la esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo, trastorno psicótico agudo y trastorno por ideas delirantes.

## DISCUSIÓN

Nuestro estudio no difiere respecto a otros trabajos publicados en cuanto al diagnóstico, número de

años de escolarización, CI medio, ajuste premórbido, sexo y estado civil. Sin embargo, la edad media de inclusión, la edad media de inicio de los síntomas psicóticos y la DUP, son ligeramente más elevados que en otros estudios.

Nuestros resultados son consistentes con otros estudios, al no encontrar asociación entre la DUP y las pruebas neuropsicológicas. Sin embargo, se han hallado correlaciones entre la DUP y las variables motoras sugiriendo que en los síntomas catatónicos la DUP puede tener un efecto neurotóxico directo.

Todas las pruebas neuropsicológicas mejoran a lo largo del seguimiento de manera significativa. Sin embargo, como en algunos trabajos, la evolución de la función ejecutiva se ha relacionado con los síntomas desorganizados basales y con neuroléptico empleado. En las alteraciones motoras, se ha detectado una prevalencia mayor de parkinsonismo y discinesias, pero ligeramente inferior de acatasia y síntomas catatónicos respecto a estudios recientes. La relación encontrada entre las variables motoras y neuropsicológicas, podría sugerir a los síntomas motores basales como predictores del rendimiento cognitivo.

## CONCLUSIONES

En general, podemos concluir que tanto el rendimiento cognitivo y como las alteraciones motoras mejoran a lo largo del seguimiento y que existe una relación entre las alteraciones neurológicas y el rendimiento cognitivo, así como entre variables premórbidas y el rendimiento cognitivo y neurológico y motor.

**Tabla 1.** Descripción de las variables sociodemográficas, clínicas y premórbidas.

	Muestra 1 n= 53	Muestra 2 n=74
<b>Características Sociodemográficas:</b>		
Sexo	67,3% varones	
	32,7 % mujeres	
Edad media (años)	31 ± 9,85	
Edad media inicio (años)	29,51 ± 10,33	
Años de educación	13,3 ± 3,72	
<b>Características Clínicas:</b>		
Diagnóstico DSM-IV inicio:		
Psicosis esquizofrénica	40%	48%
Psicosis no esquizofrénica	60%	52%
<b>GAF</b>	78,4 ± 18,3	
DUP (meses)	34,5 ± 63,5 <sup>a</sup>	24,96 ± 49,07 <sup>b</sup>
<b>Características Premórbidas:</b>		
Complicaciones obstétricas: c,d		
Sí		85%
No		15%
Ajuste Premórbido:		
Infancia	0,76 ± 0,86	1,03± 1,23 <sup>e</sup>
Adolescencia temprana	1,19 ± 1,08	1,32± 1,25 <sup>e</sup>
Adolescencia tardía	1,19± 1,17	1,45± 1,45 <sup>e</sup>
CI: f		
Toni-2	90,94 ± 18,57	

GAF: Global Assessment Functioning; DUP: Duration of Untreated Psychosis (tiempo desde el primer síntoma psicótico); CI: Cociente Intelectual; SNM: Signos neurológicos menores; CO: Complicaciones obstétricas.

<sup>a</sup> Correlación no significativa entre DUP y variables cognitivas, ni SNM.

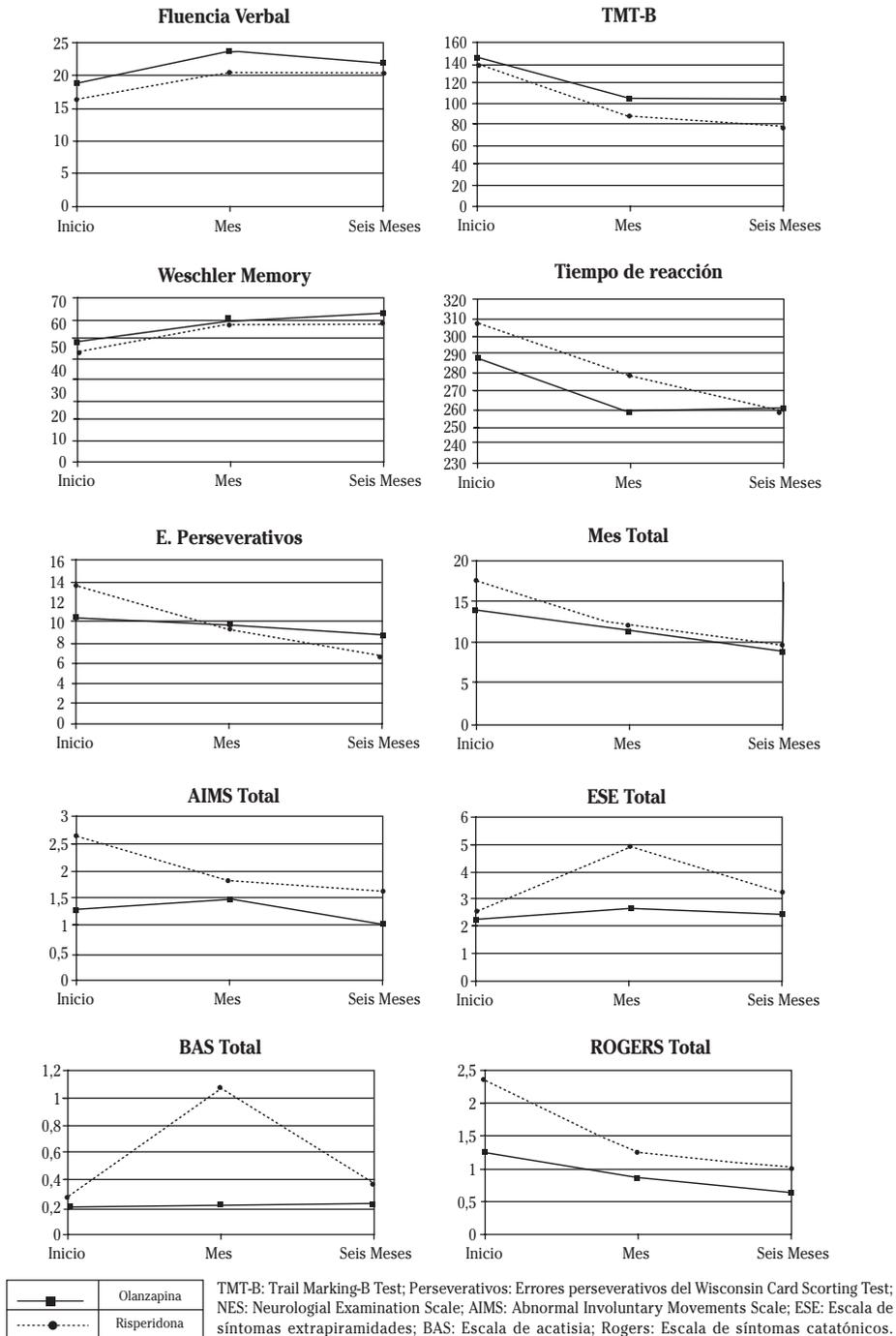
<sup>b</sup> Correlación significativa entre DUP y variables motoras.

<sup>c</sup> Correlación no significativa entre CO y variables motoras.

<sup>d</sup> Correlación significativa entre CO y variables cognitivas.

<sup>e</sup> Correlación significativa entre Ajuste Premórbido y variables cognitivas.

<sup>f</sup> Correlación significativa entre CI y variables cognitivas.



**Figura 1.** Evolución de las pruebas neuropsicológicas y motoras a lo largo de los seis meses según el tipo de neuroléptico.

## Estudio correlacional de los factores que influyen en las enfermeras que cuidan de pacientes en fase terminal en hospitales navarros

M. Arantzamendi

Departamento de enfermería de la persona adulta. Universidad de Navarra. Pamplona.

### FUNDAMENTO

Las enfermeras que trabajan en unidades de hospitalización de pacientes agudos y cuidan de pacientes en fase terminal habitualmente desempeñan esta labor sin recibir educación ni apoyo y en un entorno dedicado en principio al tratamiento y curación de la enfermedad. Por todo ello, es un reto para las enfermeras hospitalarias el cuidar de pacientes en fase terminal. Los estudios realizados al respecto se han desarrollado en el Reino Unido o en Estados Unidos y no han tenido en cuenta los factores que pueden influir en las enfermeras. Sin embargo, es esencial conocer estos factores para proponer planes de mejora que faciliten que las enfermeras estén más preparadas y desarrollen más satisfactoriamente su labor con los pacientes en fase terminal; situación que repercutirá positivamente en la calidad de los cuidados que estos pacientes reciben.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una encuesta regional en la que participaron las enfermeras (n= 235) que trabajaban en unidades de hospitalización de pacientes agudos que habitualmente recibían pacientes en fase terminal. Se utilizó un cuestionario pilotado previamente. El análisis estadístico se realizó con SPSS v.13.0. Se realizó un análisis descriptivo, el análisis factorial para identificar los factores subyacentes y la regresión lineal multivariante.

### RESULTADOS

El índice de respuesta fue del 65%. Se identificaron 5 factores en relación con las actitudes de las enfermeras hacia los pacientes en fase terminal: 'Proceso de aprendizaje', 'Incomodidad con aspectos relacionados con la muerte', 'Naturaleza del trabajo de enfermería', 'Retos en el cuidado de pacientes en fase terminal' y 'Motivación'. A su vez se identificaron 3 factores en las actitudes de las enfermeras hacia los familiares: 'Retos con los familiares', 'Visión positiva de los familiares' y 'Participación de los familiares'.

Las enfermeras valoraban positivamente el 'Proceso de aprendizaje' que conllevaba el cuidar de pacientes en fase terminal. Las variaciones en la percepción del proceso de aprendizaje se explicaban en base a la religión, el grado de 'Motivación' de las enfermeras y su percepción de 'Reto' al cuidar de pacientes en fase terminal. Las enfermeras tenían niveles de ansiedad ante la muerte altos pero decían no se sentían muy 'Incomodas con aspectos relacionados con la muerte'. Esto podría deberse a que por sus niveles altos de ansiedad evitasen aspectos relacionados con la muerte, y así evitar sentirse incomodas. Las enfermeras que se sentían más competentes en el cuidado emocional de los pacientes eran las que se sentían

menos 'Incomodas con aspectos relacionados con la muerte'.

Las enfermeras percibían la 'Naturaleza de su trabajo con pacientes en fase terminal' como más demandante que el cuidado de otros pacientes. Esto concuerda con la opinión de las enfermeras de que la formación durante la carrera no les había preparado para el cuidado de estos pacientes y con que la mayoría no había recibido formación de postgrado. De hecho las enfermeras sin formación de postgrado tenían una visión más demandante del trabajo con estos pacientes. Influyó también la experiencia; las enfermeras que tenían más experiencia consideraban menos demandante el trabajo.

Las enfermeras opinaban que el cuidado de pacientes en fase terminal era un mayor 'Reto' y esto dependía de la competencia de las enfermeras para el cuidado emocional y de otros factores como la 'Percepción de reto de los familiares', la 'Incomodidad con aspectos relacionados con la muerte' y el 'Proceso de aprendizaje'. Cabe destacar que más de la mitad de las enfermeras no se sentían preparadas para cuidar de las necesidades emocionales de los pacientes (Tabla1). Por tanto no sorprende que considerasen un reto el cuidar de estos pacientes ni que un cuarto de las enfermeras valorase la atención psicológica que recibían estos como inadecuada.

Más de un tercio de las enfermeras no se sentía apoyado para cuidar de pacientes terminales (Tabla1), lo cual concuerda con que las enfermeras no estuviesen muy motivadas para cuidar de éstos, ya que la 'Motivación' dependía del apoyo recibido. También influían en la 'Motivación' la participación religiosa, y la educación de postgrado que estaba relacionada con el factor 'Proceso de aprendizaje' y que aumentaba la motivación.

En relación con los familiares, las enfermeras consideraban muy demandantes a los familiares y un 'Reto' su cuidado, aunque tenían una 'Visión' bastante positiva de ellos. Las enfermeras estaban bastante dispuestas a que los familiares 'Participasen' en el cuidado físico del paciente en fase terminal. La única variable sociodemográfica que explicaba las actitudes de las enfermeras hacia los familiares era la religión que influía en la 'Visión positiva de los familiares'. No obstante los factores de las actitudes de las enfermeras hacia los pacientes en fase terminal sí que influían en las actitudes hacia los familiares, con lo que si se interviniese sobre ellos se influiría también en las actitudes de las enfermeras hacia los familiares.

### DISCUSIÓN

Los resultados permiten proponer planes de mejora. La motivación de las enfermeras para cuidar de

pacientes en fase terminal dependía del apoyo que recibían y teniendo en cuenta que más de un tercio de las enfermeras no se sentían apoyadas, sería conveniente promover estrategias de apoyo. Aspecto éste, esencial de entornos de trabajo saludables; que repercuten en los profesionales y en la calidad de la atención que reciben los pacientes. La formación de postgrado también influía en su motivación y en la percepción de la naturaleza de su trabajo. Por lo tanto sería conveniente desarrollar un plan de formación de postgrado

para ellas que abordase aspectos relacionados con el cuidado emocional del paciente; ya que las enfermeras no se sentían competentes al respecto y esto provocaba mayor incomodidad al tratar aspectos relacionados con la muerte y una mayor percepción de reto. A su vez el plan de formación debería potenciar la relación enfermera-familia. Estos hallazgos deberían tenerse en cuenta al desarrollar estrategias de aprendizaje permanente, que tan en auge están en la actualidad.

**Tabla 1.** Preparación y apoyo de las enfermeras hospitalarias para el cuidado de pacientes en fase terminal

	<b>Respuesta</b>	<b>(n)</b>	<b>%</b>
Me siento preparada para cuidar de las necesidades físicas del paciente en fase terminal	Sí	(146)	89,6
	No	(17)	10,4
Me siento preparada para cuidar de las necesidades emocionales del paciente en fase terminal	Sí	(69)	42,3
	No	(94)	57,7
En el trabajo me siento apoyada para cuidar de estos pacientes	Sí	(100)	62,5
	No	(60)	37,5
El grado de apoyo que recibo para cuidar de pacientes en fase terminal de la supervisora es	Muy alto	(12)	9,2
	Alto	(28)	21,5
	Suficiente	(46)	35,4
	Bajo	(34)	26,2
	Ninguno	(10)	7,7
El grado de apoyo que recibo para cuidar de pacientes en fase terminal de otras enfermeras es	Muy alto	(38)	27,3
	Alto	(53)	38,2
	Suficiente	(38)	27,3
	Bajo	(9)	6,5
	Ninguno	(1)	0,7

---

## **Desarrollo y análisis de ensayos de citogenética molecular (FISH) en pacientes con mieloma múltiple y gammapatía monoclonal de significado incierto: aplicaciones en el diagnóstico y pronóstico y correlación con datos clínicos**

**M. J. Calasanz**

Universidad de Navarra

Genetic study in hematological malignancies, such as leukemias, has led to the identification of biological distinct disease subtypes characterized by specific genetic changes, resulting in varying responses to treatment and clinical outcomes.

Conversely, progress in multiple myeloma (MM) has been slow and the genetic background of the disease remains widely unknown. Nevertheless, a number of recurrent chromosomal aberrations have been reported in MM, some of which appear to be associated with an unfavorable outcome. Therefore, the overall goal of the present work is to give insights into the cytogenetic background of MM and to develop accurate approaches for the cytogenetic diagnosis of this heterogeneous disease. Here, application of multivariate statistical analysis towards MM abnormal karyotypes has permitted the description of a novel classification of MM based on the presence of specific chromosomal abnormalities. Nevertheless, a definitive molecular classification will require revision and refinement to reflect further insights as additional initiating and progression genetic events are identified. Therefore, in order to describe

novel genetic events in MM, spectral karyotyping (SKY) and fluorescent in situ hybridization (FISH) were applied to a series of MM with complex karyotypes. These approaches permitted the detection of novel chromosomal aberrations in MM, which implication in MM pathogenesis needs to be investigated. However, these results make us presume that the use of these techniques in combination with other novel approaches based on micro-arrays may help to identify novel genetic abnormalities implicated in MM pathogenesis. Finally, novel tools, based on multicolor FISH and multicolor FISH (Fluorescence Immunophenotyping and Interphase Cytogenetics as a Tool for the Investigation of Neoplasms), were designed for the detection of those abnormalities associated with an unfavorable outcome in MM. Analyses of primary MM cases and cell lines with these specific assays confirmed the performance and validity of the techniques and established its diagnostic power. Therefore, these techniques might permit the early detection of genetic changes, evaluation of follow-up and monitoring of minimal residual disease in MM patients.

---

## **Estudio prospectivo de los factores moleculares que influyen en la respuesta a tratamiento radioquimioterápico preoperatorio en el carcinoma de recto en Navarra**

**J.J. Illarramendi, A.E. Villafranca, M.A. Domínguez, J. García-Foncillas, E. Martínez, F. Arias de la Vega**

Servicio de Oncología. Hospital de Navarra. Pamplona.

Laboratorio de Oncología y Biología Molecular. Clínica Universitaria. Pamplona.

### **FUNDAMENTO**

Existen factores que indican una peor respuesta al tratamiento quimioradioterápico preoperatorio en el carcinoma de recto, que influyen también en el control de la enfermedad y la supervivencia de estos pacientes: mutaciones en el gen P53, sobreexpresión de timidi-

lato sintetasa. La presencia de estos factores moleculares permitirá definir un grupo de pacientes que no experimentará respuesta al tratamiento estándar y que podrían ser incluidos en estudios clínicos con nuevos fármacos con el objeto de conseguir una mayor eficacia del tratamiento.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron en este estudio los pacientes diagnosticados de cáncer de recto estadios II y III y tratados en la Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona, España, y el Hospital de Navarra, Pamplona, España, en el periodo de marzo de 1996 a agosto de 1999.

Se recogieron muestras frescas de tejido tumoral de los pacientes tratados en la Clínica Universitaria de Navarra y Hospital de Navarra durante la colonoscopia realizada en los mismos centros y el Hospital Virgen del Camino. En los pacientes que fué posible se recogió también muestra del tejido tumoral en el acto quirúrgico.

Sobre las muestras obtenidas en la colonoscopia se realizó:

- Extracción de ADN para secuenciación del gen supresor tumoral p53.
- Extracción de ARN para análisis de la expresión de timidilato sintetasa sobre ARNm a través de PCR en tiempo real.

Sobre las muestras obtenidas durante el acto quirúrgico se realizó:

- Extracción de ARN para análisis de la expresión de timidilato sintetasa sobre mRNA a través de PCR en tiempo real.

Se siguieron los protocolos del Laboratorio de Biología molecular de la Clínica Universitaria de Navarra para cada una de las determinaciones antes descritas.

## RESULTADOS

### 1. Análisis de mutaciones del gen supresor tumoral p53

Se realizó el análisis de secuenciación para detectar mutaciones en el gen supresor p53 en 66 pacientes. En 11 pacientes (11,6%) se encontraron mutaciones localizadas en el exón 5 en 6 pacientes, en el exón 7 en 2 pacientes, en el exón 8 en 2 pacientes y 1 paciente presentaba dos mutaciones en los exones 6 y 8 (Tabla 1).

### 2. Análisis de la expresión de la timidilato sintetasa mediante la determinación de mRNA

Se realizó un análisis sobre las muestras de colonoscopia de 39 pacientes. En 12 pacientes (31%) se

detectó un aumento de la expresión del ARNm de la timidilato sintetasa con un rango entre 1,02 y 103,9 (Fig. 1).

Respecto a las muestras de cirugía sólo pudo realizarse el estudio en 18 muestras, de las cuales sólo en 10 se observó un incremento en la expresión de mRNA TS tras la exposición al tratamiento preoperatorio.

Se puede detallar el análisis de la mediana de expresión del ARNm de la timidilato sintetasa en relación con los parámetros de respuesta "downstaging": los pacientes que experimentaron downstaging tenían una media de expresión de mRNA TS de 5,3 frente a 7,12 en los que no experimentaron downstaging (p: ns). No se observó correlación entre el downstaging y el incremento en la expresión de mRNA TS tras cirugía.

### 3. Análisis multivariado de los factores que influyen sobre el "downstaging"

Se realizó un análisis de regresión logística univariado y posteriormente multivariado de regresión logística para evaluar la influencia de factores clínicos y moleculares sobre el "downstaging".

Las variables con valor predictivo significativa fueron: el genotipo del polimorfismo del promotor de la timidilato sintetasa (p=0,01) y la elevación del marcador CEA (p=0,08). Las mutaciones del gen supresor tumoral p53 no influyeron en la respuesta al tratamiento radioquimioterápico preoperatorio.

### 4. Correlación de la expresión de timidilato sintetasa y respuesta al tratamiento preoperatorio

Se ha realizado un análisis de comparación de medias con la prueba t de Student sobre el parámetro de respuesta "downstaging". Los pacientes que se presentaron "downstaging" tenían una media de 5,30 frente a 7,11 en los que no presentaron downstaging. Estas diferencias no fueron significativas.

### 5. Correlación de la expresión de la timidilato sintetasa con el genotipo del promotor del gen de TS

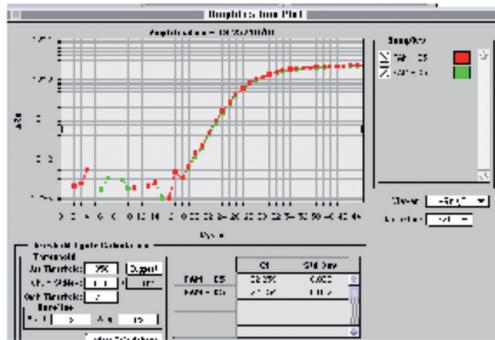
Cuando se analizó las diferencias en la expresión de mRNA TS, se encontró que los pacientes con polimorfismo 3/3 tenían una media de expresión de mRNA TS de 10,59 frente a 3,69 en el grupo 2/2 y 2/3 (p: 0,31).

**Tabla 1.** Descripción de las mutaciones del gen p53.

Nº	Exón	Posición*	Cambio	Tipo	Region proteica
1	7	14098		Delección	V
2	5	13229	G@G+T	Transversión	
3	5	13133		Delección	
4	5	13141	C@C+T	Transición	
5	7	14048	C@C+T	Transición	IV
6	5	13151	C@C+G	Transversión	
7	8	14486	C@C+T	Transición	V
8	5	13149	T@T+G	Transversión	
9	8	14469	G@G+T	Transversión	
10	5	13112	C@A+C	Transversión	
11	6	13406	A@A+G	Transición	
11	8	14522	G@A+G	Transición	V

\* Las posiciones corresponden a la secuencia genómica completa del gen p53.

TS



TS-GAPDH=22.34-  
21.89=0.45

GAPDH

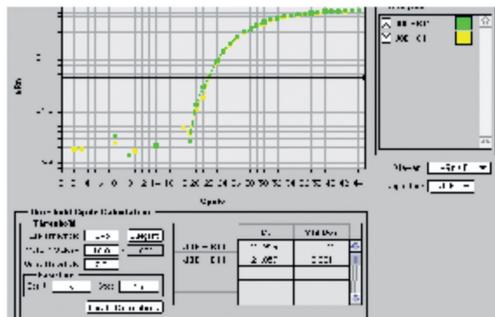


Figura 1. Curvas de expresión de mARN TS vs. mARN GAPDH.

6. Análisis de supervivencia

Se realizó un análisis estadístico de Kaplan-Meier sobre la serie global incluyendo en el análisis:

La única variable independiente como factor pronóstico de supervivencia libre de enfermedad fue el estadio patológico (Análisis de regresión de riesgos proporcionales de Cox).

Los individuos que presentan un estadio patológico en la cirugía pT0-2 y N0 poseen un tiempo de supervivencia libre de enfermedad 12,5 veces mayor que los individuos con estadio patológico T3-T4 o bien N+ (p=0.01).

Se objetivó una única variable independiente como factor pronóstico de supervivencia global causa específica: el estadio patológico N+. Los individuos con estadio patológico N+ poseen un tiempo de supervi-

vencia causa específica 4,7 veces más lento que los individuos (p=0.05).

CONCLUSIONES

1. La presencia de mutaciones en el gen supresor tumoral p53 no se asoció con respuesta ni con supervivencia tras el tratamiento radioquimioterápico preoperatorio en esta serie de carcinoma de recto.
2. Una expresión elevada de Timidilato sintetasa se asoció al genotipo 3/3 del promotor del gen de TS (cuyo análisis fue previo al proyecto de investigación), aunque de manera no significativa probablemente por la escasez de la muestra. El genotipo 3/3 se asoció a peor respuesta y peor supervivencia libre de enfermedad en esta serie.