

# Expresión de p53 y Bcl-2 como marcadores pronósticos y de localización anatómica en tumores del estroma gastrointestinal. Estudio clínico-patológico e inmunohistoquímico de 19 casos

Dra. Nayeli Martínez-Consuegra,\* Dr. Javier Baquera-Heredia,\* Dra. Beatriz de León-Bojorge,\* Dr. Álvaro Padilla-Rodríguez,\*\* Dr. Carlos Ortiz Hidalgo\*\*\*

\*Departamento de Patología, Centro Médico ABC, México, D.F. \*\*Departamento de Biología Celular y Tisular, Universidad Panamericana, México, D.F. Correspondencia: Dr. Carlos Ortiz Hidalgo. Departamento de Patología del Centro Médico ABC. Sur 136 No. 116 Col. Las Américas, Del. Álvaro Obregón. México, D.F. C.P. 01120. Tel.: 5230-8171. Fax: 5230-8173. Correo electrónico: cortiz@abchospital.com

Recibido para publicación: 7 de febrero de 2006.

Aceptado para publicación: 13 de julio de 2006.

**RESUMEN Objetivo:** relacionar la expresión de p53 y Bcl-2 con el comportamiento biológico de los tumores del estroma gastrointestinal (GIST) y su sitio anatómico. **Antecedentes:** los GIST son las neoplasias no epiteliales más frecuentes del aparato digestivo. Su comportamiento es incierto y éste depende de varios factores. Existen estudios que relacionan la expresión de p53 y Bcl-2 al comportamiento y localización anatómica de los GIST. **Métodos:** se obtuvieron 19 casos de GIST de los archivos del Departamento de Patología del Centro Médico ABC, se graduaron histológicamente en grupos de riesgo de acuerdo con la clasificación de Fletcher y col. Se realizó una batería de inmunohistoquímica con CD117, CD34, actina, desmina, PS100, p53 y Bcl-2, finalmente se relacionó su expresión con el grupo de riesgo y el sitio anatómico de los tumores. **Resultados:** la expresión de p53 fue menor en los GIST del estómago (27%), y mayor en los tumores de intestino delgado (100%). Su expresión fue mayor también en los tumores de alto riesgo que en los de muy bajo riesgo, independientemente de la localización anatómica (75 vs. 0%). El Bcl-2 se expresó con más frecuencia en los tumores del yeyuno e íleon (100%), que en los de duodeno (50%). La expresión de Bcl-2 fue menor en los tumores de alto riesgo que en los de bajo riesgo (89 vs. 100%), independientemente de su localización. **Conclusiones:** el p53 y el Bcl-2 son útiles para discriminar el sitio anatómico y ayudan a predecir el comportamiento de los GIST.

**Palabras clave:** GIST, p53, Bcl-2.

**SUMMARY Objective:** To correlate the expression of p53 and BCL-2 with the clinical outcome and anatomic location of the gastrointestinal stromal tumours (GIST). **Background data:** The GIST are the most common non-epithelial neoplasm of the gastrointestinal tract. In spite of the existence of a wide range of predictive factors, their clinical outcome is unpredictable. There are several studies that correlate the expression of p53 and Bcl-2 with the clinical outcome and anatomic location of the GIST. **Methods:** We obtained 19 cases from the archives of the Department of Pathology of the ABC Medical Center, in Mexico City. GIST were classified into risk groups according to the Fletcher et al. classification. We performed an immunohistochemistry panel including CD117, CD34, actin, desmin, P-S100, p53 and BCL-2 and correlated their expression to the risk group and anatomical site of the tumors. **Results:** There was less expression of p53 in the gastric tumors (27%) than in small bowel tumors (100%). There was greater expression of p53 in the high-risk tumors than in the very low-risk ones, regardless of the anatomical site. Bcl-2 expression was more expressed in the small intestine tumors (100%) than in those located in the duodenum (50%). The high risk tumors showed slightly more expression of Bcl-2 than the low risk ones (89% vs. 100%), despite the anatomical location. **Conclusions:** Both, p53 and Bcl-2 are important markers to establish the anatomical site of GIST, and are also helpful to predict the clinical behavior of these tumors.

**Key words:** GIST, p53, Bcl-2.

## INTRODUCCIÓN

Los tumores del estroma gastrointestinal (GIST por sus siglas en inglés) son el grupo más frecuente de neoplasias mesenquimatosas del aparato digestivo y constituyen un grupo de tumores con características morfológicas, histológicas, inmunofenotípicas y clínicas muy heterogéneas.<sup>1-4</sup> Histológicamente, estas neoplasias son predominantemente fusocelulares, pero han sido descritos patrones epitelioides y mixtos. Esta variación se debe a que las células postuladas como el origen histológico de los GIST, –las células intersticiales de Cajal (CIC) o marcapasos intestinal–, constituyen una compleja red celular con características ultraestructurales tanto mioides como neurales. Lo anterior confiere a estos tumores una amplia gama de diferenciación morfológica, debido a la cual fueron catalogados, algunos de ellos en el pasado, como leiomioblastomas, leiomiomas, leiomiomas y schwannomas.<sup>5</sup>

Desde el punto de vista inmunohistoquímico estos tumores expresan CD117 y CD34 y son negativos para marcadores de diferenciación muscular como la actina y la desmina, e igualmente negativos para la proteína S-100, lo que les confiere un inmunofenotipo característico. La expresión de CD117 se debe a la presencia de mutaciones en c-kit, un receptor transmembrana de tipo tirosina-cinasa necesario para el desarrollo de diversas líneas celulares, entre ellas las células intersticiales de Cajal.<sup>6</sup> El reconocimiento de la mutación en C-kit dio la pauta para la posterior producción de un medicamento que trata los GIST bloqueando la actividad tirosina-cinasa de c-kit, a través de la inhibición de la proteína Abl, siendo éste uno de los avances más importantes en el estudio de estos tumores.<sup>7</sup> Sin embargo, alrededor de 10% de los GIST no presentan la mutación en c-kit, por lo que no responden positivamente a la terapia con inhibidores de Abl.<sup>8,9</sup>

Se han estudiado diversos factores pronóstico del comportamiento de estos tumores entre los que incluyen el tamaño, el índice mitótico y la localización anatómica; y aunque todos éstos han probado ser útiles, no son rotundos en la predicción de la conducta biológica de los GIST.<sup>3</sup>

Existen varios estudios que relacionan la expresión de p53 y Bcl-2 con el pronóstico de los GIST.<sup>10-13</sup> Y si bien en estos estudios se han obtenido resultados variables, la mayoría coinciden en que la expresión de p53 es mayor en los tumores de alto riesgo, mientras que la de Bcl-2, disminuye de manera inversamente proporcional.<sup>10,11,14</sup> Feakins, en su estudio, señala también que estas dos proteínas tienen una expresión particular en los GIST, según su sitio anatómico de localización,<sup>11</sup> lo que podría tener utilidad en el pronóstico, debido a que la localización anatómica se ha relacionado en series previas, con el comportamiento de estos tumores.<sup>3</sup> Estos resultados indican que la p53 y el Bcl-2 pueden ayudar, dentro de los factores ya conocidos, a establecer el comportamiento de los GIST.

Presentamos en este estudio 19 casos de GIST estudiados en el Centro Médico ABC, en los que se realizaron los marcadores por inmunohistoquímica p53 y Bcl-2, con el fin de comprobar si:

1. Existe relación entre su expresión y el grupo de riesgo de dichos tumores y compararlo con lo informado previamente en la literatura.
2. Si estos marcadores son útiles para discriminar la localización anatómica, de acuerdo con lo informado en series previas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron los casos de tumores del estroma gastrointestinal (GIST) de los archivos del Departamento de

**CUADRO 1**  
DESCRIPCIÓN DE ANTICUERPOS UTILIZADOS EN LA BATERÍA DE INMUNOHISTOQUÍMICA

Anticuerpo	Clona	Casa comercial	Dilución	Recuperación
CD117	Policlonal	DAKO	1:600	Declere
P53	CO-7	DAKO	1:300	Trilogy
Bcl-2	124	DAKO	1:100	Trilogy
CD34	QBEND/10	Cell Marque	1:100	Declere
Actina	HHF-35	Cell Marque	1:100	Declere
PS100	15E2E2	Biogenex	1:500	Sin recuperar

**CUADRO 2**

CLASIFICACIÓN EN GRUPOS DE RIESGO DE FLETCHER Y COL. (REFERENCIA # 15)

Riesgo	Tamaño (cm)	Mitosis (50 campos de alto poder)
Muy bajo	< 2	< 5
Bajo	2-5	< 5
Intermedio	< 5	6-10
	5-10	< 5
Alto	> 5	> 5
	> 10	Cualquier número

Patología del Centro Médico ABC y se obtuvieron 19 casos a los cuales se les realizó una batería de inmunohistoquímica que incluyó inmunorreacciones con CD117 (c-kit), CD34, p53, Bcl-2, actina y proteína S-100 (Cuadro 1). Todos los tumores se graduaron histológicamente de acuerdo con la clasificación de Fletcher y col. para colocarlos en un grupo de riesgo<sup>3,15</sup> (Cuadro 2).

La interpretación de las inmunomarcaciones se valoró de la siguiente manera: para el CD117 se consideró negativo: marcación de membrana y/o citoplásmica en menos de 5% de las células neoplásicas y positivo: marcación de membrana y/o citoplásmica en más de 6% de las células neoplásicas. Para la p53 se valoró la positividad de la inmunorreacción en el núcleo de las células neoplásicas en porcentajes y se consideró negativo con 10% o menos de células reactivas y positivo con 11% o más de reactividad. Para BCL-2 se consideró la misma gradación, pero con marcación citoplásmica. Finalmente, se determinó la relación existente entre la expresión de p53 y Bcl-2 el sitio anatómico de la lesión y el grado histológico.

**RESULTADOS**

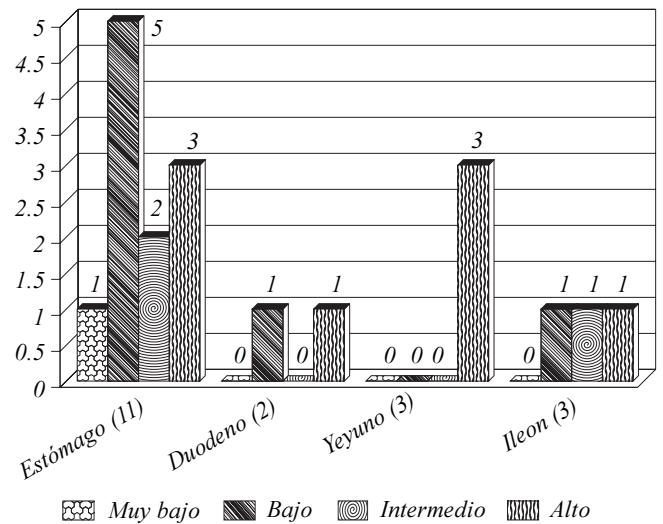
La edad de los 19 pacientes con diagnóstico de GIST obtenido de los informes de patología varió entre 29 y 87 años de edad, con un promedio de 62 años y una mediana de 61 años. Diez pacientes fueron del sexo femenino y nueve del sexo masculino; en este último grupo se encontraba el paciente de menor edad y en el grupo del sexo femenino el de mayor edad.

La mayor parte de los tumores<sup>11</sup> se localizaron en el estómago, dos en el duodeno, tres en el yeyuno y tres en el íleon (Figura 1). De acuerdo con la clasificación de Fletcher y col.<sup>3,15</sup> (Cuadro 2), predominaron los tumores de alto riesgo que constituyeron 42% del total, seguidos por los de bajo riesgo con 37% de los casos. Hubo 16%

de tumores de riesgo intermedio, y 5.30% de muy bajo riesgo (Figura 1).

La localización anatómica donde hubo mayor número de tumores de alto riesgo fue el yeyuno (100% de los casos), seguido por el duodeno con una incidencia de 50%. En el íleon hubo igual proporción de tumores de alto riesgo, riesgo intermedio y bajo riesgo (33% de cada uno). Sólo 27% de los tumores del estómago fueron de alto riesgo.

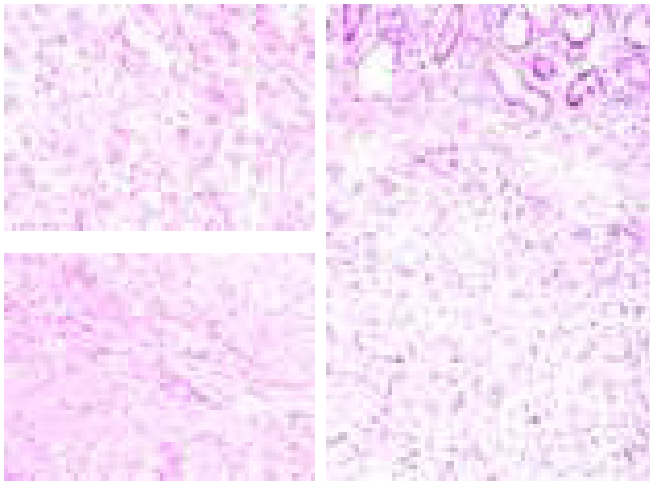
Histológicamente, los GIST presentaron predominio del patrón fusiforme, caracterizado por proliferación de



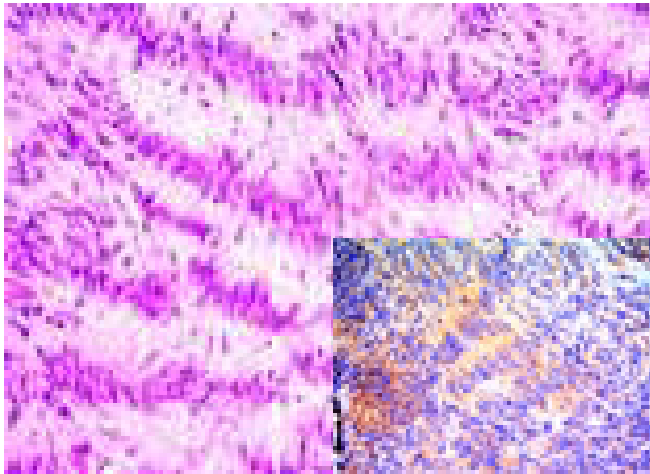
**Figura 1.** Distribución por localización y comportamiento biológico.



**Figura 2.** Caso #15. Acercamiento de la foto macroscópica y fotomontaje del corte histológico con hematoxilina y eosina.



**Figura 3.** Cortes teñidos con hematoxilina y eosina de diferentes GIST con patrón histológico fusiforme.



**Figura 4.** Corte con hematoxilina y eosina del caso #19 localizado en el estómago. Patrón histológico fusiforme similar a tumor de vaina del nervio periférico con células en empalizada formando "cuerpos de Verocay". Recuadro, inmunomarcación con CD117.

células ahusadas con citoplasma eosinófilo moderado y núcleo central con nucleolo pequeño, que se agrupaban formando haces entrelazados. Este patrón histológico estuvo presente en 15 tumores; nueve localizados en el estómago, dos en duodeno, dos en yeyuno y dos en íleon (Figura 2 y 3). Seis de ellos correspondieron al grupo de bajo riesgo, seguidos por cinco al grupo de alto riesgo. Tres tumores fueron clasificados dentro del grupo de riesgo intermedio y uno en el grupo de muy bajo riesgo.

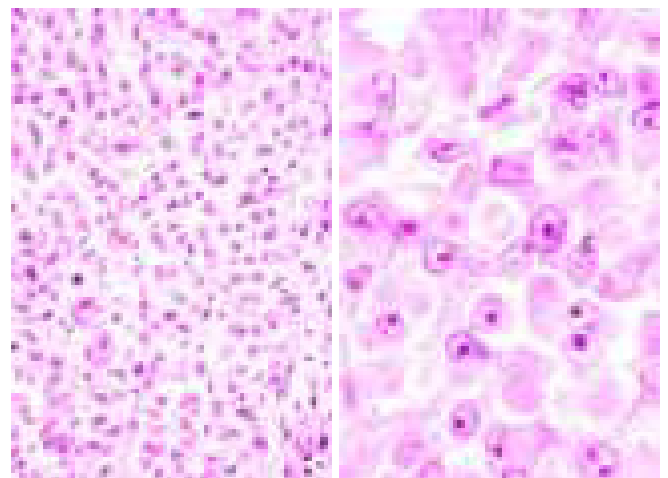
Interesantemente dos de estos tumores con patrón fusiforme, uno localizado en duodeno y otro en el estómago, presentaron aspecto histológico similar al observado en los tumores de la vaina nerviosa periférica, presentando agregados celulares fusiformes en "empalizadas, simi-

lares a los "cuerpos de Verocay" (Figura 4). El tumor del duodeno correspondió al grupo de bajo riesgo y el del estómago al grupo de alto riesgo. Por último, un tumor de riesgo intermedio con patrón histológico fusiforme localizado en el estómago, mostró aspecto histológico con fascículos entremezclados, similar a lo observado en los leiomiomas.

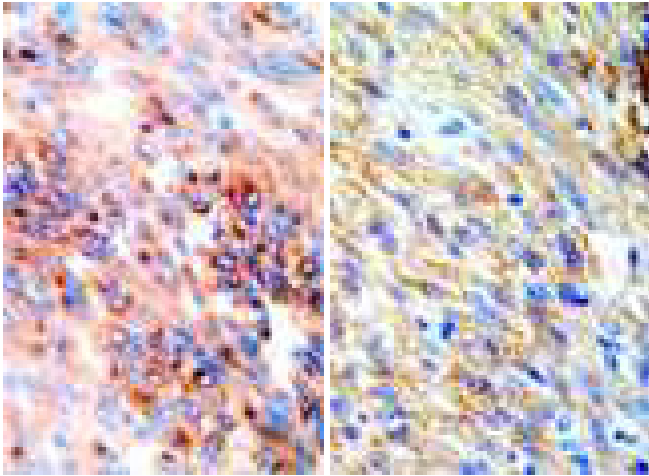
Tres de los tumores mostraron aspecto epitelioide caracterizado por proliferación de células con citoplasma abundante eosinófilo, núcleos regulares, redondos/ovalados, con cromatina dispersa y patrón cohesivo. Los tres tumores pertenecieron a la categoría de alto riesgo y se localizaban uno en estómago, uno en yeyuno y uno en íleon (Figura 5). Solamente un tumor, de bajo riesgo, localizado en el estómago, presentó patrón histológico mixto, compuesto tanto por células de aspecto epitelioide como fusocelular.

En cuanto al CD117 (c-kit), utilizado para corroborar el diagnóstico de tumor del estroma gastrointestinal, presentó positividad difusa en 18 de los 19 casos (Figura 6). El caso negativo al CD117, localizado en el duodeno y perteneciente al grupo de alto riesgo fue positivo al CD34 y no presentó reacción con los marcadores para diferenciación muscular actina y desmina ni a la proteína S-100.

En relación con la inmunomarcación con p53 y Bcl-2 encontramos lo siguiente. Hubo expresión de la p53 en 53% de los casos con mayor positividad en los tumores del yeyuno e íleon y menor en el estómago (100 vs. 27%) (la  $p < 0.01$ ) (Cuadro 3) (Figura 7 B). De acuerdo con los grupos de riesgo, la p53 se expresó con la mayor frecuencia en los tumores de alto riesgo (75%), y resultó



**Figura 5.** Corte con hematoxilina y eosina del caso #7 con patrón histológico epitelioide. Izquierda campo a x200. Derecha campo a x400.



**Figura 6.** Foto de la inmunorreacción con CD117 (c-kit). **A)** Positividad citoplásmica con reforzamiento de "punto" paranuclear. **B)** Positividad en la membrana citoplásmica (anti-CD117 diaminobencidina).

negativa en los de muy bajo riesgo (0%). (la  $p = 0.164$ , posiblemente por el hecho de que en el grupo de bajo riesgo hay muy pocos casos). El Bcl-2 se expresó en 17 de los 19 casos (*Figura 7A*), los dos casos negativos se localizaron en el estómago y en el duodeno. No hubo

predominio significativo de expresión por localización anatómica. La expresión de este marcador fue igual en los grupos de muy bajo, bajo riesgo y riesgo intermedio (100%) y menor en el grupo de alto riesgo (89%) ( $p = NS$ ) (*Cuadro 4*). A todos los resultados de la comparación de p53 y Bcl-2 se les realizó prueba de Ji cuadrada con corrección de Yates, pero debido a que la muestra es estadísticamente pequeña, al calcular los números esperados en tabla de 2 x 2 se utilizó prueba exacta de Fisher.

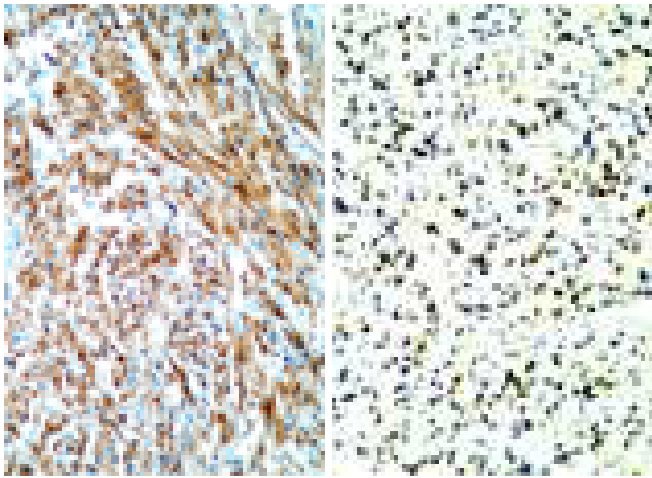
## DISCUSIÓN

Los tumores del estroma gastrointestinal (GIST) son los tumores no epiteliales más frecuentes del aparato digestivo.<sup>2-4</sup> Estas neoplasias, por su aspecto predominantemente fusiforme, fueron referidas, previas a estudios ultraestructurales e inmunohistoquímicos, como leiomiomas, leiomiosarcomas o schwannomas.<sup>5,16,17</sup> A finales de los años 70's se iniciaron una serie de discrepancias acerca de la histogénesis de estos tumores.<sup>5,16-18</sup> Pero no fue hasta 1983 cuando Mazur y Clark, a través de su estudio inmunohistoquímico y ultraestructural, propusieron el término de tumores del estroma gastrointestinal y lo limitaron a tumores estromales primordialmente fusiformes.

**CUADRO 3**

EXPRESIÓN DE P53 Y BCL-2 DE ACUERDO CON LA LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DE LOS GIST

Localización	Número de caso	p53		Bcl2	
		Porcentaje	Intensidad	Porcentaje	Intensidad
Estómago	1	—	—	90	3+
	2	5	1+	100	4+
	3	5	1+	—	—
	4	—	—	60	2+
	5	60	1+	100	4+
	6	80	1+	80	1+
	7	5	1+	80	1+
	8	20	1+	100	3+
	9	—	—	100	2+
	10	—	—	65	2+
	11	—	—	60	2+
Duodeno	1	20	1+	—	—
	2	30	1+	100	3+
Yeyuno	1	60	1+	100	4+
	2	40	2+	100	4+
	3	20	3+	100	2+
Íleon	1	60	1+	95	4+
	2	40	1+	100	4+
	3	30	2+	95	4+



**Figura 7.** A) Inmunorreacción con Bcl-2, mostrando positividad citoplásmica. B) Inmunorreacción con p53, mostrando positividad nuclear (anti-Bcl-2 diaminobencidina).

mes, carentes de diferenciación muscular y/o neural, y propusieron su origen en células perineurales o mesenquimales del plexo mientérico de Auerbach.<sup>5</sup>

En 1998 Hirota y col. informaron en los GIST una mutación con ganancia de función en el protooncogén c-kit, codificador de un receptor transmembrana de tipo tirosina-cinasa, responsable del desarrollo de diversas

líneas celulares, entre ellas las células intersticiales de Cajal (CIC).<sup>6</sup> Estas CIC se encuentran localizadas entre las terminaciones nerviosas del plexo de Auerbach y las células musculares lisas intestinales y recientemente han sido identificadas en sitios extraintestinales como en los conductos deferentes, la uretra, vejiga, uréter, útero, los vasos sanguíneos y linfáticos, próstata, pene, glándula mamaria y páncreas.<sup>19</sup> Fue igualmente el grupo de Hirota y col. el que propuso a las CIC como el posible origen de los GIST, y explicó con la mutación de c-kit la expresión inmunohistoquímica del CD117 en estos tumores.<sup>6</sup> Estudios posteriores han señalado la presencia de características inmunohistoquímicas, ultraestructurales y anatómicas muy similares entre las CIC y las células de los GIST.<sup>18,20,21</sup>

Las CIC, también conocidas como “marcapasos gastrointestinal”, fueron descritas por primera vez por Santiago Ramón y Cajal en el artículo titulado *Notas sobre el plexo de Auerbach de la rana* publicado en la revista de la Facultad de Medicina de Barcelona, en 1892. Valiéndose del método de Ehrlich, Cajal diferenció los fascículos nerviosos de, lo que llamó “elementos simpáticos sueltos”.<sup>22</sup> Ramón y Cajal y uno de sus alumnos, Isidoro La Villa, posteriormente propusieron que estas células mediaban la transmisión de señales entre los

**CUADRO 4**  
EXPRESIÓN DE P53 Y BCL-2 DE ACUERDO AL GRUPO DE RIESGO DE LOS GIST

Riesgo	Localización	p53		Bcl-2	
Muy bajo Bajo riesgo	Estómago	—	—	100%	2+
	Estómago	—	90%	3+	
	—	60%	1+	100%	4+
	—	80%	1+	80%	1+
	—	5%	1+	80%	1+
Riesgo Intermedio	—	—	—	60%	2+
	Duodeno	15%	1+	100%	3+
	Íleon	60%	1+	95%	4+
	Estómago	5%	1+	100%	4+
	—	—	—	65%	2+
Alto riesgo	Íleon	40%	1+	100%	4+
	Estómago	5%	1+	—	—
	—	20%	1+	100%	3+
	—	—	—	60%	2+
	Duodeno	20%	1+	—	—
	Yeyuno	60%	1+	100%	4+
	—	40%	2+	100%	4+
—	20%	3+	100%	2+	
—	Íleon	30%	2+	95%	4+

plexos autonómicos de la pared intestinal y las células musculares lisas.<sup>22</sup> Entre estos elementos simpático sueltos, identificaron dos tipos celulares; los primeros denominados “células estrelladas o triangulares” y los otros “células fasciculadas o fusiformes”. Ambas células, pero en especial las estelares, se encontraban no sólo en el plexo de Auerbach, sino también entre la capa muscular circular donde constituían un plexo prominente. Cajal y La Villa notaron que los ganglios del plexo de Auerbach podían ser distinguidos de las células intersticiales, porque los primeros no se teñían con azul de metileno.<sup>22</sup> Fue el histólogo ruso Aleksander Stanislavovic Dogiel (1852-1992) quien por primera vez llamó a estas células “elementos intersticiales de Cajal”, nombre que fue posteriormente reiterado por E. Müller.<sup>23,24</sup>

Después de muchos años de controversias, los tumores del estroma gastrointestinal, nombre propuesto por Mazur y Clark,<sup>5</sup> han emergido como una entidad clinicopatológica reconocida, de posible origen en CIC, por la ya mencionada similitud inmunohistoquímica y ultraestructural con estas mismas.<sup>6,20,21</sup>

Con el reconocimiento de la histogénesis de los GIST y el posterior conocimiento de la mutación en c-kit expresada inmunohistoquímicamente por la positividad al CD117, pronto surgió el descubrimiento de un inhibidor selectivo de la proteína Abl de tipo tirosina-cinasa, presente en las células portadoras de la proteína de fusión Bcr-Abl.<sup>25</sup> Esta mutación identificada originalmente en 95% de las leucemias mieloides crónicas, dio la pauta para el desarrollo de un medicamento para el tratamiento de los GIST, portadores de la misma proteína mutada.<sup>7</sup> Este medicamento conocido como mesilato de iminatinib (antes STI571) y manufacturado desde hace pocos años en Europa bajo el nombre de Gleevec® (Novartis, Basel, Suiza),<sup>4</sup> ha demostrado en diversos estudios una alta tasa de efectividad en el tratamiento de los tumores del estroma gastrointestinal, con presencia de efectos colaterales mínimos.<sup>25,26</sup> Sin embargo, informes recientes indican que la mutación de c-kit puede ser codificada por dos exones diferentes (9 y 11) o puede incluso no estar presente hasta en 10% de los GIST, por lo que estos tumores no responden al tratamiento con inhibidores dirigidos contra la proteína de fusión originada en la translocación convencional.<sup>4,8,9</sup> En nuestra serie, un caso, correspondiente al 5% del total, no presentó expresión inmunohistoquímica del marcador CD117, pero fue considerado tumor del estroma por la intensa inmunorreactividad con CD34 y negatividad para actina, desmina y proteína S-100, coincidiendo con lo así referido por la literatura.

Desde el punto de vista pronóstico se han descrito diversas características en los tumores del estroma gastrointestinal que incluyen el tamaño del tumor, el índice mitótico, la celularidad, la presencia de necrosis y de hemorragia.<sup>3</sup> Entre estos factores pronósticos, Fletcher y col. mencionan como de especial relevancia la combinación del índice mitótico y el tamaño del tumor, y de acuerdo con estos parámetros actualmente se divide a los GIST en:

1. De muy bajo riesgo.
2. De bajo riesgo.
3. De riesgo intermedio.
4. De alto riesgo<sup>15</sup> (*Cuadro 2*).

Otros factores como la relación existente entre el número de mitosis y el índice de proliferación medido tanto con PCNA como con Ki-67, se han relacionado también con el grado histológico del tumor, sin que ninguno de estos dos índices sea más confiable que el conteo de mitosis.<sup>26,27</sup>

Otros estudios señalan la correlación entre el comportamiento biológico y el sitio anatómico del tumor, observando que los GIST gástricos presentan grados histológicos bajos con más frecuencia que los del recto.<sup>3,14</sup> Estos mismos estudios señalan; sin embargo, que el sitio anatómico por sí solo no es suficiente como valor predictivo del comportamiento del tumor. En nuestra serie sólo 27% de los tumores del estómago fueron de alto riesgo, coincidiendo así con lo informado en la literatura. Diversos investigadores han propuesto además como factores de mal pronóstico la aneuploidía, la pérdida de expresión de CD44, la presencia de apoptosis y el patrón histológico epitelioides.<sup>3,10,29-31</sup> En nuestra serie, todos los tumores epitelioides fueron de alto riesgo, de forma similar a lo informado en otras series.<sup>3</sup>

A pesar de la existencia de todos los factores descritos anteriormente, el comportamiento biológico de los GIST continúa siendo difícil de predecir, lo que ha resultado en el continuo estudio de nuevos marcadores con valor pronóstico de la conducta de los GIST. Entre estos estudios destacan los llevados a cabo para relacionar la utilidad de los marcadores p53 y Bcl-2 con el grado histológico y el sitio anatómico de localización de estos tumores.<sup>10-13</sup>

El Bcl-2 es el producto de un oncogén mitocondrial involucrado en la regulación de la muerte celular, descrito originalmente como producto de la translocación t(14:18) presente en 85% de los linfomas foliculares. La función normal del Bcl-2 es bloquear la muerte celular



programada (apoptosis) alargando así la supervivencia celular.<sup>32,33</sup> Como resultado de la translocación se produce una regulación positiva funcional.<sup>34,35</sup> El Bcl-2 se expresa tanto en células B como en células T no neoplásicas, en diferentes alteraciones linfoproliferativas y neoplasias epiteliales y mesenquimales, incluso en ausencia de la translocación t(14;18), ya que existe una gran variedad de señales activadoras, entre las que se encuentran agentes infecciosos, procesos reactivos factores producidos por células neoplásicas heterogéneas.<sup>36-38</sup>

De importancia particular para nuestro estudio han sido las publicaciones que informan la expresión de Bcl-2 en tumores de células fusiformes diversas, incluidos los GIST,<sup>10,11,36,37</sup> señalando que en estos últimos se relaciona la pérdida de su expresión con el grado de malignidad.<sup>11,37</sup> El estudio de Feakins relaciona también la expresión de esta proteína con el sitio anatómico, siendo menor en GIST rectales y mayor en GIST del intestino delgado.<sup>11</sup>

En nuestro estudio el Bcl-2 se expresó por igual en los tumores de muy bajo, bajo riesgo y riesgo intermedio (100% de los casos) y en 89% de los tumores de alto riesgo, lo que correlaciona con lo previamente informado en la literatura, donde los GIST de más alto grado expresan Bcl-2 con menos frecuencia; sin embargo, la  $p = \text{NS}$ .<sup>11,37</sup> En cuanto al sitio anatómico, la expresión del Bcl-2 fue intensa en 100% de los tumores de yeyuno e íleon, seguido por 91% de los GIST gástricos y en 50% de los tumores de duodeno, lo que indica que la expresión del Bcl-2 es mayor en los GIST de yeyuno e íleon y es similar a lo referido en series anteriores, al menos en lo que a estómago e intestino delgado corresponde, ya que en nuestro estudio no había GIST en intestino grueso. Sin embargo, como fue expresado en los resultados, a pesar de que hay diferencia porcentual, la  $p$  no es estadísticamente significativa ( $p = \text{NS}$ ).

El gen de supresión tumoral p53 está involucrado en diversas funciones celulares, entre las que destacan la regulación del ciclo celular, la reparación y síntesis del ADN, y la diferenciación celular e inhibición de la entrada al ciclo celular induciendo apoptosis, especialmente en presencia de daño al DNA.<sup>11</sup> Las células normales mantienen niveles muy bajos de expresión de esta oncoproteína, usualmente no detectables por inmunohistoquímica. La sobreexpresión de p53 usualmente refleja una mutación sin sentido con generación de un producto proteico inestable, que se encuentra entre las aberraciones genéticas más comunes estudiadas en neoplasias humanas<sup>11,36,39</sup> y es un conocido factor de mal pronóstico

en una gran variedad de tumores incluyendo los GIST.<sup>11,13,36,39,41,42</sup> Se ha informado también su utilidad para discriminar el sitio anatómico, siendo su expresión menor en el estómago que en el intestino.<sup>11</sup>

La inmunoreactividad para p53 varía entre 20 y 67%, según la serie<sup>10,11,13</sup> y su expresión se ha asociado a índice mitótico elevado (alto riesgo) y atipia nuclear. En nuestro estudio, la p53 se expresó en 53% de los casos, estando el porcentaje dentro de los rangos informados previamente en la literatura.<sup>11,37</sup> Feakins relacionó también la sobreexpresión de p53, al patrón histológico epitelioide.<sup>11</sup> Nosotros encontramos expresión de p53 en 100% de los casos de tumores con patrón epitelioide; todos ellos pertenecientes al grupo de alto riesgo.

En nuestra serie, los tumores de muy bajo riesgo no expresaron p53, los de bajo riesgo lo expresaron en 43%, los de riesgo intermedio en 34% y los de alto riesgo en 75%, lo que demuestra mayor expresión de p53 en los tumores de más alto riesgo (0 vs. 75%). Nosotros creemos que a pesar que estadísticamente no es significativo este resultado ( $p = 0.164$ ) debido al escaso número de casos, la diferencia en porcentajes es relevante. Los GIST gástricos mantienen un curso biológico más indolente que sus contrapartes intestinales, de tal manera que la baja expresión de p53 demostrada tanto en la literatura como en nuestro estudio, apoya también la posibilidad de que el comportamiento biológico menos agresivo de los GIST de estómago esté relacionado con una frecuencia menor de mutaciones en el gen p53.<sup>11,14</sup> De manera similar a lo informado en otras series, la p53 fue muy útil en el discernimiento del sitio anatómico de origen, ya que la expresión fue menor en los tumores de estómago (en los que se expresó en 27% de los casos) y mayor en tanto más distal al aparato digestivo, con 100% de expresión en los tumores de yeyuno e íleon. Este resultado fue estadísticamente significativo con  $p < 0.01$ .

En conclusión, de forma similar a lo que ocurre con otros marcadores (expresión de CD117, número de mitosis, tamaño del tumor, presencia de necrosis) la expresión inmunohistoquímica de los marcadores Bcl-2 y p53, por sí sola no es un factor suficiente para predecir el comportamiento de los GIST. Sin embargo, la sobreexpresión de estos dos inmunomarcadores demostró en este estudio ser adyuvantes útiles para determinar tanto el sitio anatómico como el grupo de riesgo del tumor. La expresión inmunohistoquímica del Bcl-2 es mayor en los tumores de bajo riesgo que en los de alto riesgo (100 vs. 89%) y desde el punto de vista anatómico es mayor en los GIST del yeyuno e íleon (100%), seguido por los de estómago (91%) y por último en los del duodeno



(50%), lo que traduce una expresión particular según el sitio anatómico de localización del tumor. El gen supresor p53 se expresa con mayor frecuencia en los tumores de intestino delgado que en los tumores gástricos (100 vs. 27%) demostrando su utilidad para discriminar el sitio anatómico. El p53 se expresó también con mayor frecuencia en los tumores de alto riesgo que en los de muy bajo riesgo (75 vs. 0%). Aunque muchos de estos valores no presentan significancia estadística, debido a lo pequeño de la muestra, consideramos que la p53 y el Bcl-2 pueden incluirse en el estudio inmunohistoquímico de los GIST, basados en las diferencias porcentuales.

Finalmente, el comportamiento de los GIST es de difícil predicción y debe basarse en el estudio del tamaño del tumor, el conteo mitótico y la presencia de necrosis y hemorragia. Estos factores deben ser analizados de forma individual y a ellos pueden añadirse con fundamento en estudios previos y en los resultados del nuestro, el empleo de p53 y Bcl-2.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el análisis estadístico realizado por el Dr. Guillermo de la Mora, de la Dirección de Enseñanza del Centro Médico ABC, y al Sr. José E. Torres, Jefe del Laboratorio de Histología del Hospital ABC, por el estudio de inmunohistoquímica.

### REFERENCIAS

- Pancras CWH. The pathology of Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST) in GIST and NET. Rare diseases as a model for translational research. 20 European Congress of Pathology 2005. Palais des Congrès de Paris, Amphithéâtre Bordeaux, Monday, 5 September 2005.
- Shreyaskumar RP. La era de la terapia molecular: redefiniendo el tratamiento de los tumores del estroma gastrointestinal. *Gaceta Mexicana de Oncología* 2005; 4(Supl. 1): 11-17.
- Rosai J. Gastrointestinal tract. In: Rosai, Ackerman (eds.). *Surgical pathology*. 9th Ed. Mosby; 2004, p. 674-80
- Bucher P, Villiger P, Egger JF, Morel P. Management of gastrointestinal stromal tumors: from diagnosis to treatment. *Swiss Med Wkly* 2004; 134: 145-53.
- Mazur MT, Clark HB. Gastric stromal tumors: reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1983; 7: 507-19.
- Hirota S, Isozako K, Moriyama Y, et al. Gain of function mutations of c-kit in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998; 279: 577-80.
- Druker B, Tamura S, Buchdunger E, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 1996; 2: 561-6.
- Heinrich MC, Rubin BP, Longley BJ, Fletcher JA. Biology and genetic aspects of gastrointestinal stromal tumors: KIT activation and cytogenetic alterations. *Hum Pathol* 2002; 33: 484-95.
- Hornik JL, Fletcher CDM. The significance of KIT (CD117) in gastrointestinal stromal tumors. *Int J Surg Pathol* 2004; 12: 93-7.
- Cunningham RE, Abbondazo SL, Chu WS, et al. Apoptosis, Bcl-2 and p53 expression in gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2001; 9: 19-23.
- Feakins RM. The expression of p53 and Bcl-2 in gastrointestinal stromal tumors is associated with anatomical site, and p53 expression is associated with grade and clinical outcome. *Histopathology* 2005; 46: 270-9.
- Al-Bozom IA. P53 expression in gastrointestinal stromal tumors. *Pathol Int* 2001; 51: 519-23.
- Lopes JM, Silva P, Seixas M, Cirnes L, Seruca R. Microsatellite instability is not associated with degree of malignancy and p53 expression of gastrointestinal stromal tumors. *Histopathology* 1998; 33: 579-81.
- Emory TS, Sobin LH, Lukes L, Lee DH, O'Leary TJ. Prognosis of gastrointestinal smooth muscle (stromal) tumors: dependence on anatomic site. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 82-7.
- Fletcher CDM, Berman JJ, Corless C, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33: 459-65.
- Saul SH, Rast ML, Brooks JJ. The immunohistochemistry of gastrointestinal stromal tumors. Evidence supporting an origin from smooth muscle. *Am J Surg Pathol* 1987; 11: 464-73.
- Fegnotio CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, et al. Gastrointestinal mesenchymal neoplasms. In: *Gastrointestinal pathology. An Atlas and text*. 2nd Ed. Lippincott Williams and Wilkins; 1999, p. 1169-94.
- Robinson TL, Sicar K, Hewlett BR, et al. Gastrointestinal stromal tumors may originate from a subset of CD34-positive interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* 2000; 156: 1157-63.
- Popescu LM, Ciontea S, Cretoi D, et al. Novel type of interstitial cell (Cajal-like) in human fallopian tube. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 479-523.
- Sircar K, Hewlett BR, Huitzinga JD, et al. Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 377-89.
- Gibson PC, Cooper K. Cd117 (Kit): a diverse protein with selective application in surgical pathology. *Adv Anat Pathol* 2002; 9: 65-9.
- Ramón y Cajal S. Nota sobre el plexo de Auerbach de la rana. *Trabajos del Laboratorio de Histología de la Facultad de Barcelona*; Febrero 1892, p. 23-8.
- Müller E. Zur Kenntnis der Ausbreitung und Endigungsweise der Magen. Darms und Pankreas-Nerven. *Arch F Mikr Anat Bd XL*.
- Thunberg L. One hundred years of interstitial cells of Cajal. *Micr Res Tech* 1999; 47: 223-38.
- Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rokala M y col. Effects of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 2001; 344: 1052-6.
- Greenson JK. Gastrointestinal stromal tumors and other mesenchymal lesions of the gut. *Mod Pathol* 2003; 16: 366-75.
- Hasewaga T, Matsuno Y, Shimoda T, Hirohashi S. Gastrointestinal stromal tumors: consistent CD117 immunostaining for diagnosis and prognostic classification based on tumor size and MIB-1 grade. *Hum Pathol* 2002; 33: 669-76.
- Franquemont DW. Differentiation and risk assessment of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 41-7.
- Montgomery E, Abraham SC, Fisher C, et al. CD44 Loss in gastric stromal tumors as a prognostic marker. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 168-77.
- Rudolph P, Gloeckner K, Parwaresch R, Harms D, Schmidt D. Immunophenotype, proliferation, DNA ploidy, and biological behavior of gastrointestinal stromal tumors: a multivariate clinicopathological study. *Hum Pathol* 1998; 29: 791-800.
- Tanaka S, Saito K, Reed J. Structure-function analysis of the Bcl-2 oncoprotein. *J Biol Chem* 1993; 268: 10920-6.
- Hockenbery D, Nunez G, Milliam C, Schreiber RD, Korsmeyer SJL. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348(6299): 334-6.
- Cleary ML, Sklar J. Nucleotide sequence of a t (14; 18) chromosomal breakpoint in follicular lymphoma and demonstration of a breakpoint-cluster region near a transcriptionally active locus on chromosome 18. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1985; 82: 7439-43.
- Tsujimoto Y, Croce CM. Analysis of the structure, transcripts and protein products of Bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1986; 83: 5214-18.

35. Dada MA, Chetty RN, Biddolph SC, Schneider JW, Gatter KC. The immunoeexpression of bcl-2 and p-53 in Kaposi's sarcoma. *Histopathology* 1996; 29: 159-63.
36. Suster S, Fisher C, Moran C. Expression of Bcl-2 oncoprotein in benign and malignant spindle cell tumors of soft tissue, skin, serosal surfaces and gastrointestinal tract. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 863-72.
37. Pezella F, Tse AGD, Cordell JL, et al. Expression of Bcl-2 oncogen protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 1990; 137: 225-32.
38. Dowell SP, Hall PA. The p53 tumor suppressor gene and tumor prognosis: is there a relationship? *J Pathol* 1995; 177: 221-4.
39. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
40. Pezella F, Morrison H, Jones M, et al. Immunohistochemical detection of p53 and bcl-2 protein in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathology* 1993; 22: 45-50.
41. Ray R, Tahan ST, Andrews C, Goldman H. Stromal tumor of the stomach. Prognostic value of the PCNA index. *Mod Pathol* 1994; 7: 26-30.
42. Baas IO, Mulder JWR, Offerhaus GJA, Vogelstein B, Hamilton SR. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *J Pathol* 1994; 172: 5-12.