

## INMUNOHEPATOLOGIA

### P53 Y ALFA-FETO-PROTEINA

*“Estudio inmunohistoquímico de los variables categóricas ordinales por p53 y alfa-fetoproteína de las lesiones hepáticas producidas por el virus de la hepatitis C (VHC) y su relación con el hepatocarcinoma (HCA)”\**

Leonardo Varela Rodríguez\*

#### SUMMARY:

“Immunohistochemistry study of Ordinal Categorical Variables p53 and alfa-fetoprotein of hepatic lesions and the hepatitis C virus and your relation with hepatocarcinoma”.

#### OBJECTIVE:

Measurement of immunohistochemistry marker of p53 and alfa-fetoprotein in hepatic biopsies of chronic hepatitis and hepatic cirrhosis for C virus and the hepatocarcinoma.

#### RESULTS:

The p53 is positive in 3%, 29%, 41% and alfa-fetoprotein is positive in 3%, 0%, 62%, of the groups chronic hepatitis C virus, cirrhosis C virus and hepatocarcinoma respectively.

#### INTRODUCCIÓN:

El hígado es un órgano de origen endodérmico muy complejo. El carcinoma (1), (2), (5), (7), (8), (9), (10) hepatocelular es un tumor primario del hígado y es el quinto tumor maligno más frecuente del mundo, y es la tercera causa más frecuente de muerte por cáncer a nivel mundial. (11), (12), (13), (18), (20). Por tanto este estudio busca nuevos indicios etiopatogénicos de la hepatocarcinogénesis,

que brinden nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas para un cáncer que provoca seiscientos mil muertes al año alrededor del mundo. (21), (29), (30), (31), (32).

#### METODOLOGÍA:

— Tipo de estudio: es un estudio transversal analítico descriptivo para determinar una variable como factor diagnóstico, pronóstico y de

\* Estudiante de Medicina

Nota de origen:

• Artículo derivado de la Tesis Doctoral: “Estudio inmunohistoquímico de las lesiones hepáticas producidas por el virus de la hepatitis C y su relación con el hepatocarcinoma”. Del DR. Martín Varela Vindas Ph.D. Director de la tesis: Dr. José Ignacio Paz Bouza Ph.D. Departamento de Biología Celular y Patología, Universidad de Salamanca, España. Calificación: Sobresaliente Cum Laude.

Artículo presentado en el congreso: 2do encuentro Iberoamericano de Biometría, julio 2009, Veracruz, México.

Artículo presentado en: XII Conferencia Española de Biometría, septiembre 2009, Cádiz, España. docmartinvarela@yahoo.com

riesgo, para el desarrollo de hepatocarcinoma que es el estándar áureo de referencia. Se analizará la prevalencia y distribución de variables categóricas ordinales, por medio de un sistema inmunohistoquímico, a través del desenmascaramiento antigénico de la peroxidasa.

- Muestreo y tamaño de la muestra: 1768 muestras para biopsia hepática del archivo computarizado de Anatomía

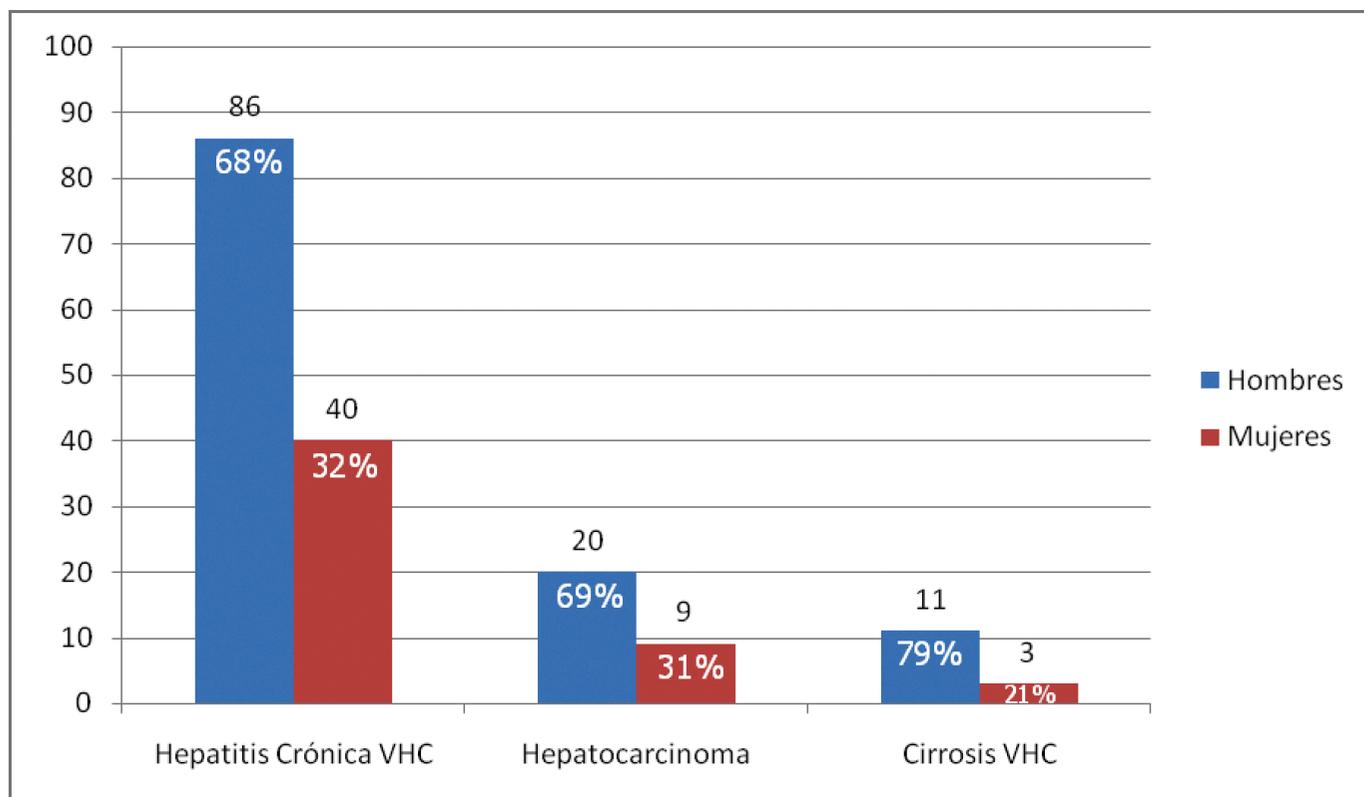
Patológica, recolectados del 1 de diciembre de 1997 al 30 de noviembre de 2007. Todas las biopsias por cirrosis hepática a Virus C (14 casos), 1 de cada cuatro biopsias de 125 casos de Hepatitis crónica a Virus C (31 casos) por ordenador. Además todos los casos de hepatocarcinoma (29 casos) por diversa etiología, del periodo 1997-2007, del Hospital Universitario de Salamanca, España.

## RESULTADOS:

La distribución por sexo en la Hepatitis crónica (VHC), Hepatocarcinoma (HCA), Cirrosis (VHC) es: 86 (68%), 20 (69%), 11 (79%) en hombres y 40 (32%), 9 (31%), 3 (21%) en mujeres, respectivamente.

La p53 positiva en 3%, 29%, 41% de los grupos de hepatitis crónica Virus C, cirrosis virus C y hepatocarcinoma, respectivamente.

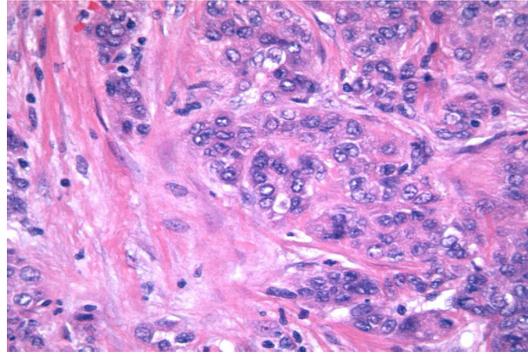
**FIG.1- DIAGRAMA DE BARRAS DE FRECUENCIA DE GÉNERO SEGÚN GRUPOS**



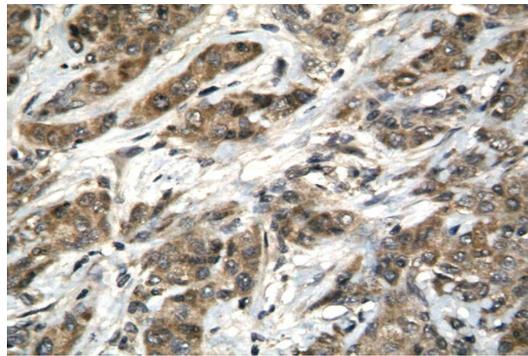
*Fuente:* Bioestadística del Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Salamanca. Dic. 1997-Nov 2007.

## FOTOS DE BIOPSIAS HEPÁTICAS EN HEPATOCARCINOMA (HCA)

## 1. Hematoxilina eosina HCA:

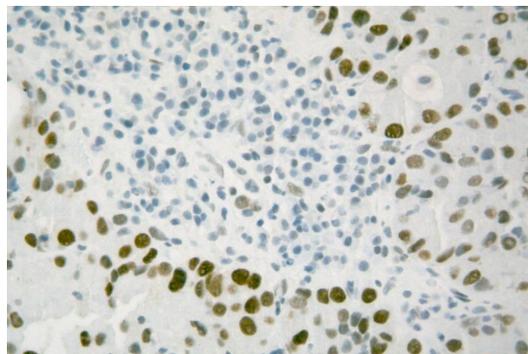


Hematoxilina eosina  
Hepatocarcinoma 40x  
HCA: Hepatocarcinoma

2.  $\alpha$ -fetoproteína HCA.

$\alpha$ -fetoproteína 40x  
HCA: Hepatocarcinoma

## 3. p53 HCA.



p53 40x  
HCA: Hepatocarcinoma

## TABLAS DE CONTINGENCIA

## RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Frecuencia y distribución absoluta y porcentual de PIH *Tabla.1*

*Actividad de p53,  $\alpha$  fetoproteína en biopsias con diagnósticos de Hepatocarcinoma y cirrosis VHC.*

43 Biopsias	29 HCA				ATC					14 Cirrosis-VHC		
	+	++	-	% positivos	P	S	E	VPP	VPN	+	-	% positivos
PIH												
p53	11	1	17	41%	ns	41%	71%	75%	37%	4	10	29%
$\alpha$ fetoproteína	16	2	11	62%	ns	62%	100%	100%	56%	0	14	0

Frecuencia y distribución absoluta y porcentual de PIH *Tabla.1'*

*Actividad de p53,  $\alpha$  fetoproteína en biopsias con diagnósticos de Hepatocarcinoma y Hepatitis VHC.*

60 Biopsias	29 HCA				ATC					31 Hepatitis-VHC		
	+	++	-	% positivos	P	S	E	VPP	VPN	+	-	% positivos
PIH												
p53	11	1	17	41%	ns	41%	96%	92%	63%	1	30	3%
$\alpha$ fetoproteína	16	2	11	62%	ns	62%	96%	94%	73%	1	30	3%

PIH = Pruebas Inmunohistoquímicas; Actividad: Leve = +; Moderada = ++; Inactiva = -; HCA = Hepatocarcinoma; VHC = virus hepatitis C; ATC = Análisis de Tablas de Contingencia; P = Probabilidad ( $\chi^2$  Pearson); I = Incalculable; S = Sensibilidad; E = Especificidad; VPP = Valor Predictivo Positivo; VPN = Valor Predictivo Negativo.

*Fuente.* Muestras de biopsia del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Salamanca. Dic. 1997 - Nov. 2007

**Frecuencia y distribución relacionada de resultados de pruebas inmunohistoquímicas en HCA *Tabla.2.***

29 Hepatocarcinomas	4 HCA	12 HCA	8 HCA	5 HCA	Positividad
p53	+	-	+	-	12 / 41 %
Alfafetoproteína +	3	5	6	4	18 / 62 %
Alfafetoproteína -	1	7	2	1	11 / 38 %
<b>Total</b>	4	12	8	5	29 / 100 %

Positivo = + ; Negativo = -; HCA = Hepatocarcinoma.

*Fuente.* Muestras de biopsia del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Salamanca. Dic. 1997 - Nov. 2007.

**DISCUSIÓN:**

El hepatocito se infecta con el virus de la hepatitis C y posteriormente se produce una nueva célula hepatocitaria al fusionarse la célula hepática senescente (24) con la célula madre hepática o con la célula precursora hepática (oval). (4), (23). La denominaremos: célula simbiooncomutagénica hepática, la cual luego de reproducirse aceleradamente por el influjo viral (22) y en un contexto anatomopatológico de fibrosis inflamatoria, que puede corresponder a hepatitis crónica o a cirrosis, la misma presenta escape apoptótico y al salvar la apoptosis se sigue reproduciendo gracias a que las células inmunes también presentan agotamiento celular. Al activarse las vías oncogénicas y del desarrollo tumoral respectivamente se produce una catástrofe simbiooncomutagénica. (16), (26), (28). Esta nueva célula bajo el constante influjo de marcadores de superficie y producción exagerada de telomerasa desembocan en la producción o génesis del hepatocarcinoma y células madre acompañantes que derivan en células con capacidad de desarrollo en tejidos aberrantes incluyendo vasos de neoformación para el crecimiento tumoral y más adelante el desarrollo de metástasis. Telomerasa y telómeros tumorales alcanzan la inmortalidad del hepatocarcinoma. (3), (33). La telomerasa es la máquina del tiempo pero con dos túneles del campo unificado en un solo plano: la inmortalidad. El primer túnel es la vida como la

conocemos. El segundo túnel es la neoplasia (muerte humana). Las células fetales, embrionarias y germinales, así como las neoplásicas expresan telomerasa. Recientes investigaciones muestran la importancia relevante entre telomerasa y cáncer, células madre, envejecimiento y síndromes hereditarios. (14). ¿Es una relación causa-efecto? Nuestra hipótesis es que sí. Primero la telomerasa y luego el tumor en nuestro modelo biomédico de hepatitis crónica y cirrosis hepática asociada a virus C (25) con posterior evolución a hepatocarcinoma. (15), (27). Probablemente la presencia de p53 mutado (41%) y la  $\alpha$  fetoproteína (62%) sean consecuencia de mayor anaplasia de estos hepatocarcinomas (p: ns). (17), (19).

**CONCLUSIONES:**

- 1- Predominio de pacientes del sexo masculino en los tres grupos.
- 2- Recomendación de la prueba inmunohistoquímica p53, como factor de riesgo y diagnóstico en cirrosis hepática virus C y hepatocarcinoma, respectivamente.
- 3- Se recomienda ampliar el estudio con antígenos de superficie de la célula hepatocitaria tumoral para aclarar su origen jerárquico Bi ó multipartito por reacción en cadena de la polimerasa (P.C.R), según la teoría de la fusión celular en la simbiooncomutagénesis del Hepatocarcinoma y VHC.

**RESUMEN:**

Medición de la actividad de los marcadores inmunohistoquímicos de p53 y alfa-fetoproteína en biopsias hepáticas con los diagnósticos de hepatitis crónica y cirrosis hepática por el virus de la hepatitis C (6) y el hepatocarcinoma en general. (1)

**BIBLIOGRAFÍA:**

- 1) Allende Daniela S and Yerian Lisa. Immunohistochemical Markers in the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. Pathology Case Reviews 2009; 14: 40-46.
- 2) ARMSTRONG GL, ALTER MJ, McQUILLAN GM, MARGOLIS HS. The past incidence of hepatitis C virus infection: implications for the future burden of chronic liver disease in the United States. Hepatology, 2000; 31: 777-782.
- 3) BLACKBURN, EH. Switching and signaling at the telomere. Cell, 2001; 106: 661-673.
- 4) Bosch Barrera J, Lopez – Picazo Gonzalez J.M., Garcia – Foncillas López J, Prósper Cardoso F. Células Madre y Cáncer: dilucidando el origen de la célula madre tumoral. Rev Med Univ Navarra/Vol 51, N°2, 2007, 14 – 17.
- 5) CAPOCACCIA RICCARDO, Sant Milena, Berrio Franco, Simonetti Arianna, Santi Valentina, Trevisani Franco and the Eurocare Working Group. Hepatocellular carcinoma: trends of incidence and survival in Europe and the United States at the end of the 20<sup>th</sup> century. AM.J. Gastroenterol, 2007; 102: 1661-1670.
- 6) CHOO Q-L, KUO G, WEINER AM, JONES DB. Isolation of Ac DNA clone derived from A blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science, 1989; 244: 359-362.
- 7) DAVILA JA, MORGAN RO, SHAIB Y, MCGLYNN KA, EL-SERAG HB. Hepatitis C infection and the increasing incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. Gastroenterology, 2004; 127: 1372-1380.
- 8) EL-SERAG HB, DAVILA JA, PETERSEN NJ, MCGLYNN KA. The continuing increase in the incidence of hepatocellular carcinoma in the United States: an update. Ann Intern Med, 2003; 139: 817-823.
- 9) EL-SERAG HB, MASON AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. N Engl J Med, 1999; 340:745-750.

- 10) EL-SERAG HB, MASON AC. Risk factors for the rising rates of primary liver cancer in the United States. *Arch Intern Med*, 2000; 160: 3227-3230.
- 11) EL-SERAG HB, RUDOLPH KL. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology and Molecular Carcinogenesis. *Gastroenterology*, 2007; 132: 2557-2576.
- 12) EL-SERAG HB. Hepatocellular carcinoma: recent trends in the United States. *Gastroenterology*, 2004; 127 (5 suppl 1): S27-S34.
- 13) FAUCI, Anthony S; BRAUNWALD, Eugene. Harrison. Principios de Medicina Interna. McGraw Hill, 17ª Edición. 2008.
- 14) FIBBE WILLEM, E. Telomerase mutatis in aplastic anemia. Editorials. *N Engl J Med*, 2005; 352: 1481-1482
- 15) FRÖHLING, Stefan; DÖHNER, Hartmut. Chromosomal abnormalities in cancer. *New England. J Med*, 2008 August 14; 359: 722-734.
- 16) HAYFLICK, L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res*, 1965; 37: 614-636.
- 17) LANED P. p53: guardian of the genome. *Nature*, 1992; 358: 1516.
- 18) LLOVET. Presentación oral, 2007. Annual Meeting, 4 junio 2007. Chicago, IL, USA.
- 19) MITCHELL, Peter. Acoplamiento de la fosforilación a la transferencia de electrones e hidrógeno mediante un mecanismo de tipo quimiosmótico. *Nature*, 1961; Volume 191: 144-148.
- 20) NEAL KEITH, R. On Behalf of the Trent Hepatitis C Study Group. *GUT* 2007; 56: 1098-1104.
- 21) PARKIN DM, BRAY F. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94:153-156.
- 22) PAZ BOUZA, José Ignacio. Aspectos histopatológicos de diferentes órganos del ratón inoculados con virus herpes simples de tipo I y II. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca. España. 1978.
- 23) POTENZA, Leonardo; LUPPI, Mario; BAROZZI, Patrizia. HHV- GA syncytial giant-cell hepatitis. *New England. J Med*, Number 6. 2008 August 7; 359: 593-602.
- 24) ROSENTHAL, Nadia. Prometheus's Vulture and stem-cell promise. Number 3. *New England. Journal of Medicine*, 2003 July 17; 349: 267-274.
- 25) RUDOLPH KL, CHANG S, MILLARD M, SCHREIBER-AGUS N, DEPINHO RA. Inhibition of experimental liver cirrhosis in mice by telomerase gene delivery. *Science*, 2000; 287: 1253-1258.
- 26) SÁNCHEZ POSADA, Raúl. Características biológicas de la célula en el cáncer de colon con metástasis ganglionares. Tesis Doctoral. Salamanca, 2007.
- 27) SUN WEI, XING BAOCAL. Proteome analysis of hepatocellular carcinoma by two-dimensional difference gel electrophoresis. *Molecular and Cellular proteomics*, 2007; 6: 1798-1808.
- 28) TANG, Weiliang; LAZARO, Catherine A. Responses of non transformed human hepatocytes to conditional expression of full-length hepatitis C virus open reading frame. *Am J Pathol*, 2007; 171: 1831-1846.
- 29) WONG JB, McQUILLAN GM, McHUTCHISON JG, POYNARD T. Estimating future hepatitis C morbidity, mortality, and costs in the United States. *Am J Public Health*, 2000; 90: 1562-1569.
- 30) YOSHIZAWA H. Hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus infection in Japan: projection to other countries in the foreseeable future. *Oncology*, 2002; 62 (suppl 1): 8-17.
- 31) YU MW, CHEN CJ. Elevated serum testosterone levels and risk of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 1993; 53: 790-794.
- 32) YU MW, YANG YC, YANG SY. Hormonal markers and hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma risk: a nested case-control study among men. *J Natl Cancer Inst*, 2001; 93: 1644-1651.
- 33) ZEN YOH, FUJII TAKAHIKO. Histological and culture studies respect to ABC62 expression support the existence of a cancer cell hierarchy in human hepatocellular carcinoma. *AJP*, 2007; 170: 1750-1762