

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN DE CIRUGÍA ONCOLÓGICA
INSTITUTO DE ONCOLOGÍA "DR. MIGUEL PÉREZ CARREÑO"

**"PROTEÍNA P63 COMO MARCADOR PRONÓSTICO DE RECIDIVA EN
CARCINOMAS EPIDERMÓIDE Y BASOCELULAR CUTÁNEOS"**

Autor: Wilfredo R. Perfetti G.

Valencia Septiembre 2017

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN DE CIRUGÍA ONCOLÓGICA
INSTITUTO DE ONCOLOGÍA "DR. MIGUEL PÉREZ CARREÑO"

**"PROTEÍNA P63 COMO MARCADOR PRONÓSTICO DE RECIDIVA EN
CARCINOMAS EPIDERMOIDE Y BASOCELULAR CUTÁNEOS"**

Autor: Wilfredo R. Perfetti G.

Tutor: Aldo R. Reigosa Y.

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO
PARA OPTAR AL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN CIRUGÍA
ONCOLÓGICA**

Valencia Septiembre 2017

INDICE GENERAL

	PP
Introducción.....	1
Materiales y Métodos.....	9
Resultados.....	13
Discusión.....	18
Conclusiones.....	22
Bibliografía.....	23

PROTEÍNA P63 COMO MARCADOR PRONÓSTICO DE RECIDIVA EN CARCINOMAS EPIDERMOIDE Y BASOCELULAR CUTÁNEOS

Autor: Wilfredo R. Perfetti G.

Año: 2017

RESUMEN

El p63 es una proteína que se expresa ampliamente en tejidos humanos, particularmente en las células basales de muchos tejidos epiteliales. Su actividad en la transcripción de información de los procesos de proliferación celular, plantea la hipótesis que el p63 pudiera jugar un papel importante en los procesos de carcinogénesis. En varios tipos de neoplasia malignas como mama, estómago, colon y melanomas, entre otros, su expresión ha demostrado tener valor pronóstico. **Objetivo:** Relacionar el porcentaje de expresión del p63 con la aparición de recidiva tumoral, en carcinomas cutáneos de células escamosas (CCE) y basocelular (CBC). **Metodología:** La muestra la conforman 34 pacientes que acudieron y fueron tratados en el Servicio de Cabeza y Cuello del Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño". Se revisaron las historias clínicas de los pacientes con diagnóstico de CBC y CCE cutáneos desde el año 2006, incluyéndose aquéllos que presentaron recidiva y además se escogieron al azar un grupo de pacientes sin recidiva, como grupo control. **Resultados:** 11 pacientes presentaron recidiva, 63,6% fueron CCE y 36,4% CBC. Todos los carcinomas presentaron expresión de p63. Al analizar los diferentes puntos de cortes del porcentaje de esta expresión, en relación con el intervalo libre de enfermedad para recidiva tumoral, se evidenció que agrupando los dos tipos de carcinomas el punto de corte de p63 en 40% presentó diferencias significativas ($p=0,030$). Igualmente, pero solo en el caso de los CCE, el punto de corte en 60% también presentó significancia estadística ($p=0,038$). **Conclusiones:** El porcentaje de células positivas al p63 pudiera tener importancia pronóstica en la predicción de recidivas, para los carcinomas basocelulares y de células escamosas cutáneos.

Palabras claves: p63, carcinoma basocelular, carcinoma epidermoide, recidiva tumoral.

P63 PROTEIN AS A PROGNOSTIC MARKER FOR RECURRENCE IN SQUAMOUS CELL AND BASOCELLULAR SKIN CARCINOMA

Author: Wilfredo R. Perfetti G.

Year: 2017

ABSTRACT

P63 is a protein that is widely expressed in human tissues, particularly in the basal cells of many epithelial tissues. Its activity in the transcription of information on the processes of cell proliferation, makes us hypothesize that p63 could play an important role in the processes of carcinogenesis. **Objectives:** Relate the percentage of expression of p63 with the presence of tumor recurrence, in cutaneous squamous cell carcinoma (SCC) and basal cell (BCC). **Methodology:** The sample consisted of 34 patients who attended and were treated in the Head and Neck Service of the Oncology Institute "Dr. Miguel Pérez Carreño". We reviewed the medical records of patients with a diagnosis of cutaneous BCC and SCC since 2006, including those who presented recurrence and also randomly selected a group of patients without recurrence as a control group. **Results:** 11 patients presented recurrence, 63.6% were SCC and 36.4% BCC. All carcinomas showed expression of p63. When analyzing the different cut-off points in relation to the disease-free interval, it was evident that the p63 cut-off point in 40% presented significant differences ($p=0.030$). Equally, but only in the case of SCC, the 60% cut-off point also had statistical significance ($p=0.038$). **Conclusions:** The percentage of p63 positive cells may have a prognostic significance in the prediction of recurrence for squamous cell and basal cell cutaneous carcinoma.

Key words: p63, basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, tumor recurrence.

INTRODUCCIÓN

Los carcinomas basocelulares (CBC) y los carcinomas de células escamosas (CCE), también llamados carcinomas epidermoides, son las formas más frecuentes de cáncer de piel y, en conjunto, se los denomina cánceres de piel no melanoma (CPNM). El CPNM es el que más comúnmente se presenta en los Estados Unidos y el CBC representa cerca de tres cuartos de los CPNM (1). La incidencia del CPNM parece estar en aumento en algunas áreas de los Estados Unidos, pero no en todas (2,3). En términos generales, las tasas de incidencia en este país probablemente se han incrementado durante varios años. Parte de este aumento quizás sea atribuible a la mayor concientización sobre el cáncer de piel, el desarrollo de nuevas investigaciones y las biopsias de lesiones cutáneas. No es posible el cálculo preciso de la cantidad y la tasa de incidencia total del CPNM porque no se exige la notificación a los registros de cáncer. Sin embargo, basado en los datos de honorarios por servicios prestados por Medicare, que luego se extrapolaron a la población de los Estados Unidos, se calcula que en 2006 se trataron unas 2.152.500 personas por CPNM. Ese número excedería todos los otros casos de cáncer calculados por la American Cancer Society durante ese año, que fue de cerca de 1,4 millones (4,5).

En Venezuela no existen datos oficiales sobre la incidencia y mortalidad en estos tipos de cáncer en la revisión del último anuario del Ministerio para la Salud del año 2013 (6). El factor de riesgo primario para el desarrollo de CCE y CBC es la exposición crónica a la luz solar, principalmente a los rayos UV-B. La mayoría de estas lesiones se localizan en la región de cabeza y cuello en un 90% y 85 % respectivamente. (7,8)

Estas neoplasias afectan la calidad de vida, pero no la supervivencia, y el objetivo principal del tratamiento es la prevención de las recurrencias, ya que los tumores recurrentes son más difíciles de tratar. Los tratamientos más

comunes CPNM son la destrucción del tumor con electrodissección y curetaje, extirpación simple y la escisión histológicamente guiada, llamada cirugía de Mohs. Los datos existentes no son suficientes para permitir decisiones basadas en la evidencia entre los tratamiento para tumores primarios. La escasez de datos ha dado lugar a "campos de competencia" para los diferentes tratamientos existentes (9).

El p63 fue descrito por Yang en 1998 como un nuevo miembro de la familia del gen p53, que se encuentra en el cromosoma humano 3q27-29. Esta proteína se expresa ampliamente en tejidos humanos y murinos, particularmente en las células basales de muchos tejidos epiteliales tales como la epidermis, el cuello uterino, urotelio, y de próstata. Tal vez la característica más interesante del gen p63 es que expresa, a partir de dos promotores diferentes, seis grandes transcripciones que codifican proteínas con sorprendentemente capacidades para inducir la expresión de genes y la muerte celular. Las isoformas de la proteínas p63, específicamente aquellas que carecen de un dominio de transactivación N-terminal, puede ejercer fuertes efectos inhibidores sobre la actividad de p53 y p63. En conjunto, estos datos sugieren un nuevo mecanismo para la inactivación de los miembros de la familia p53 y ponen de manifiesto la posibilidad de interacciones funcionales entre estos genes. La proteína p63, juega un papel importante en el desarrollo del epitelio estratificado de la epidermis. La localización predominante de p63 en la capa basal de los epitelios escamosos estratificados y también de transición es interesante ya que estas células actúan como los progenitores de las células suprabasales, que se someten a la diferenciación y la muerte celular en el epitelio regenerativo (10,11).

Las isoformas de la proteína P63 que contienen un dominio tipo amino-transactivación son denominadas TAp63 y las isoformas truncadas

que carecen de este dominio (TA) son denominadas Δ Np63. Tanto TA y Δ N se someten a corte y empalme alternativo C-terminal para producir otros seis isotipos carboxilo-terminal α , β , y γ respectivamente. Sin embargo, debido tanto a la complejidad del gen y la falta de anticuerpos fiables para cada isotipo individual, el papel de p63 en el cáncer es controversial y objeto de debate. Los datos recientes sugieren que p63 podría desempeñar una doble función. De hecho, varios estudios han puesto de relieve el potencial oncogénico de Δ Np63 α . En contraste, otros datos muestran que el gen p63, especialmente isoformas TAp63, podría actuar como un supresor de tumores, aunque p63 rara vez está mutado en el cáncer humano, en contraste con los genes supresores de tumores clásicos (12).

Las proteínas de longitud completa (denotados como α -isoformas) de p63 y p73 contienen un dominio carboxi-terminal denominado SAM, que participa en la interacción entre proteínas, y un dominio que inhibe la transcripción (TID), esta disminuye la actividad transcripcional por medio de la conformación cerrada a través de la interacción con el dominio de transactivación amino terminal (TA).

Además, los genes p63 y p73 tienen dos distintos promotores; el primer promotor (P1) produce una proteína de longitud completa que posee un TAD amino-terminal (isoformas TA), el segundo promotor (P2), situado dentro del intrón 3, da lugar a las proteínas amino-terminal truncadas (isoformas Δ N). Este último carece de la TAD amino-terminal y como resultado actúan como inhibidores negativos y dominantes como el p53 y las variantes TA de longitud completa (13).

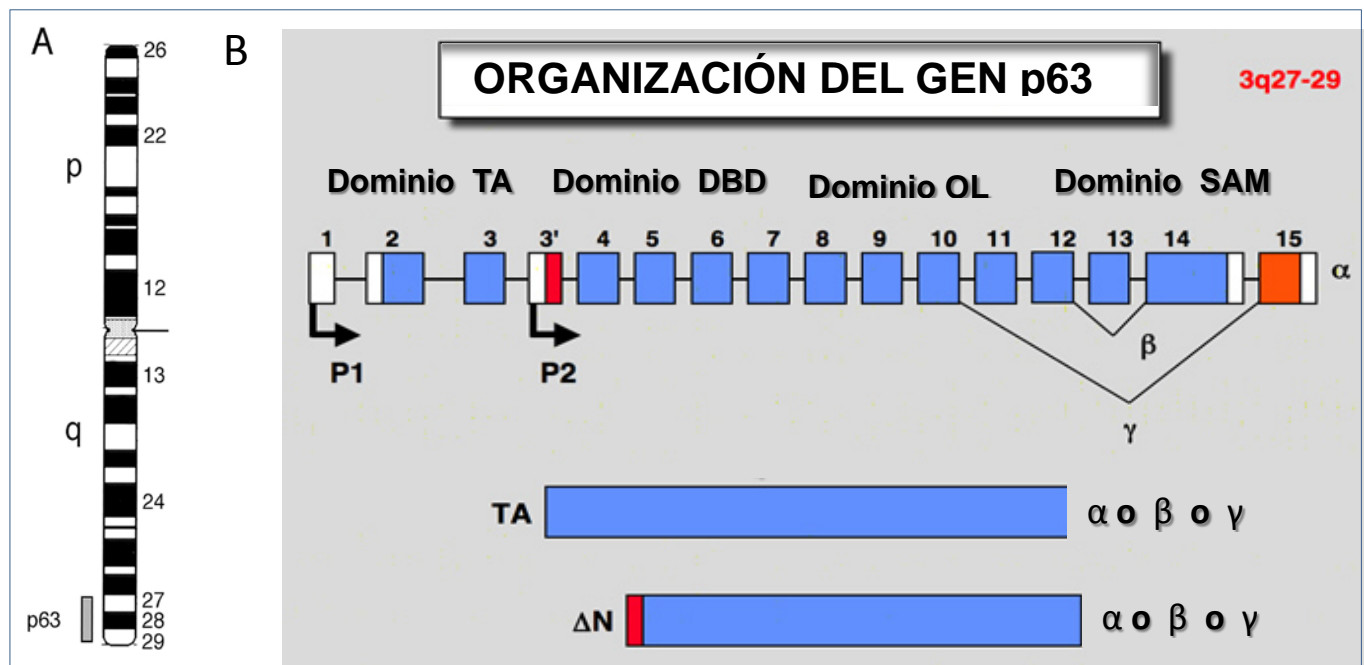


Figure 1. **A.** Esquema del cromosoma 3 y la localización del gen p63 humano en 3q27–29 realizado con el método fluorescente de hibridación in situ. **B.** Organización del gen p63. Modificado de Yang, 1998 (11).

Carcinomas basocelulares

El Comité de tipificación histológica de los tumores de piel de la Organización Mundial de la Salud, define al CBC como un tumor de invasión local y crecimiento lento, que rara vez produce metástasis; cuyo origen son las células epidérmicas de los folículos pilosos o las células basales de la epidermis. En Venezuela se conocen estadísticas parciales de distintos centros. En 2003 Fernández y cols. analizaron los CBC diagnosticados en el laboratorio de Dermatología del Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas en un lapso de 16 meses, de 4.148 biopsias realizadas el 5% corresponden a CBC. Otro estudio realizado por Negrin y cols. en el Hospital

Oncológico Padre Machado (Caracas), encontraron un total de 125 CBC, representando un 2,5% de las piezas analizadas para el 2005 (14).

En los Estados Unidos, el CPNM se ha incrementado dramáticamente con una tasa de crecimiento de 77% en las dos últimas décadas. El grupo de mayor crecimiento es en las mujeres menores de 40 años. En otros países, como Singapur, donde se controla su incidencia la tasa de los CBC ha ido en aumento en los últimos decenios. En general, las razones de este crecimiento espectacular son el envejecimiento de la población, los cambios en los hábitos de exposición al sol, cambios ambientales, los patrones de migración y, en menor medida, el aumento del consumo inmunosupresores. Más de 2,8 millones de nuevos casos de CBC se diagnostican cada año, sólo en Estados Unidos, y se estima que como resultado más de 3.000 muertes. Afortunadamente, las CBC generalmente se diagnostican temprano y son tratados oportunamente. Sin embargo, un reciente análisis retrospectivo de un centro académico importante reportó tasas de recurrencia a los 5 años de 2,3% (15).

El CBC rara vez hace metástasis, pero una vez que se diagnostica, el riesgo de una nueva lesión aumenta 10 veces más. La mortalidad asociada a este tumor es baja, pero la propagación del tumor puede causar daños graves en los tejidos y un resultado funcional y estético pobre. Las recurrencias representan el principal desafío en el tratamiento CBC; por lo tanto, la determinación del riesgo de recurrencia es muy importante.

Los factores de riesgo para la recurrencia CBC son: gran tamaño de un tumor (más de 2 cm); en particular la localización, sitio facial central (periocular, perioral, nasal); perineural y la invasión perivascular; tipo histológico dinámica (morfeiforme, micronodular); y la recurrencia antes de la CBC (16).

En la década de 1990, se hizo la conexión entre las aberraciones de la vía de señalización Hedgehog y las CBC en ratones. Posteriormente, varios estudios conectan esta vía en los seres humanos con el desarrollo de CBC esporádicos y a un síndrome genético autosómico dominante que predispone a la aparición de múltiples CBC (síndrome de Gorlin-Goltz). La mayoría de las mutaciones se producen en el gen PTCH1, este inhibe a la proteína receptora transmembrana acoplada a la proteína G implicada en la transcripción de señales que inducen la transcripción de numerosos genes objetivos, incluidos algunos componentes de la vía como PTCH, ciclinas y Gli1. La segunda mutación más común son en el gen Smoothened (SMO) produciendo por ende una ganancia en sus funciones. Un esquema simplificado de la vía Hedgehog (Hh) se presenta en la Figura 2 (17,18).

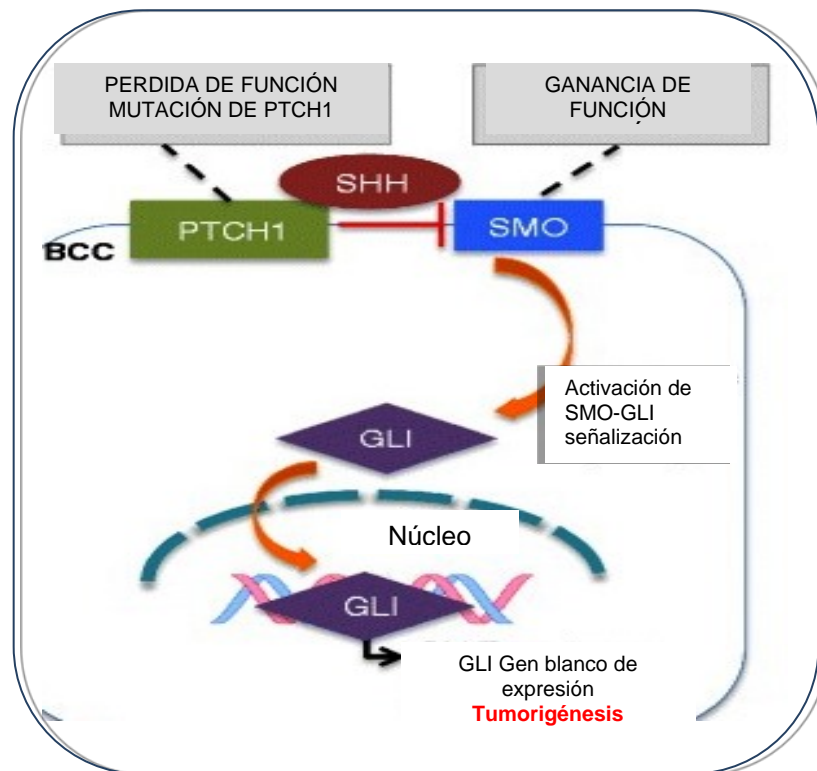


Figura 2. Esquema simplificado de mutaciones comunes en la vía de señalización de Hedgehog que conduce al carcinoma basocelular. Modificado de Shalini, 2014 (17).

Carcinoma de células escamosas

El CCE es la segunda neoplasia cutánea más común después del CBC, con una incidencia cada vez mayor en todo el mundo. Su incidencia aproximadamente es de 100/100000 en hombre y en mujeres de 50/100000. La mayoría de los tumores se van a resolver con cirugía, pero alrededor de un 5% van a presentar metástasis locales y a distancia (19-21).

El CCE representa el 20% del total de cánceres de piel, es más maligno que el CBC. Tiende a crecer y diseminarse más rápidamente, se desarrollan en áreas expuestas al sol, como la cara, las orejas, el cuello, los labios y dorso de las manos. Por lo tanto la exposición a los rayos ultravioleta es una causa importante y directamente contribuye a la aparición de CCE. La exposición solar crónica solar crónica reciente (en los 10 años previos al diagnóstico) y también con la exposición solar acumulada (22,23).

Otros factores de riesgo son la piel clara, el pelo rojo, el albinismo y el origen celta. Los factores de riesgo no solares incluyen la exposición a sustancias químicas (insecticidas o herbicidas), arsénico, hidrocarburos orgánicos, lesiones térmicas crónicas y las cicatrices. El riesgo de CCE aumenta 18-36 veces en los receptores de trasplantes. El virus de papiloma humano ha sido relacionado con las enfermedades epiteliales malignas, sobre todo con CCE, siendo especialmente alto en pacientes con una epidermodisplasia verruciforme, que tienen una inmunodeficiencia de base.

Se sabe que la radiación ultra violeta (UV), sobre todo la UV-B, produce mutaciones en el ADN de los queratinocitos. La reparación de estas mutaciones es importante para prevenir el CCE. Se cree que los pacientes con CPNM tienen una alteración en la capacidad de reparar el ADN, lo que los hace más susceptibles a los efectos de la radiación UV (24,25).

El conocimiento actual sobre el mecanismo molecular de CCE se relaciona principalmente con los factores de transcripción (FT), por ejemplo, p53, factor nuclear kappa B (NF-kB) y activador de la proteína-1 (AP-1). Las mutaciones o expresiones aberrantes de estos FT contribuye directa o indirectamente a algunas o todas las características del cáncer, incluyendo la insensibilidad a las señales de proliferación o apoptosis, las señales de crecimiento por retroalimentación, la angiogénesis sostenida, ilimitada capacidad de replicación e invasión o metástasis que a su vez juegan un papel importante en la carcinogénesis. Además de causar mutaciones en el p53 supresor de tumor, la radiación UV podría inducir la activación de NF-kappa B y la translocación en el núcleo que hasta regula la IL-6 expresión y secreción que conduce a la inflamación crónica. Todos estos mecanismos contribuyen al desarrollo de cáncer de piel (26).

Los estudios del comportamiento genético de estos tipos de cáncer han sido ampliamente estudiados. Sin embargo, cada vez más se identifican nuevas vías de proliferación celular con nuevos genes involucrados, de allí la importancia de seguir analizándolos para aclarar sus funciones y las consecuencia que tienen sus alteraciones e interacciones con otros genes conocidos para producir la carcinogénesis.

Su actividad en la transcripción de información de los procesos de proliferación celular, nos hace plantear la hipótesis que el p63 pudiera jugar un papel importante en los procesos de recidiva tumoral. Los resultados de dicha investigación aportaran datos importantes para los desarrollo de estudios posteriores, y sobre el conocimiento de esta enfermedad y en particular el papel que juega dicha proteína en las recidivas de estos tumores, ya que no existen trabajos publicados a nivel mundial y en Venezuela.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Relacionar el porcentaje de expresión del p63 con la aparición de recidiva tumoral, en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la presencia y porcentaje de expresión de la proteína p63 en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular.

Clasificar el porcentaje de expresión del p63 en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular.

Determinar el intervalo libre de enfermedad y la frecuencia de recidiva en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular a 10 años.

MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra estuvo conformada por 34 pacientes que acudieron y fueron tratados en el Servicio de Cabeza y Cuello del Instituto de Oncología “Dr. Miguel Pérez Carreño”.

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes con diagnóstico de CBC y CCE cutáneos del área de cabeza y cuello en el año 2006, incluyéndose aquéllos que presentaron recidiva y además se escogieron al azar un grupo de pacientes sin recidiva como grupo control. La selección de estos pacientes fue por tener un seguimiento de 10 años. Fueron recolectados los bloques de parafina y preparaciones histológicas correspondientes al diagnóstico inicial, verificándose su integridad y la suficiencia del material neoplásico.

Las matrices de tejido y el análisis inmunohistoquímico de p63 (clon 4A4, DAKO) se realizaron en el Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (CIMBUC), en la Ciudad de Valencia, Venezuela. Se empleó una técnica manual de matriz de tejido (*tissue microarray*-TMA), obteniéndose cilindros por troquelado de tejido tumoral y piel normal (bloques de parafina donantes) con una longitud aproximada de 3 mm y un diámetro aproximado de 1 mm. A su vez se prepararon moldes de parafina con un orificio para cada cilindro (bloques de parafina receptores), y fueron ordenados según una plantilla prediseñada. Al culminar el armado de los bloques, los mismos fueron introducidos en una estufa a 45°C durante 5 minutos para lograr la compactación de los cilindros al molde de parafina y el alisado de la superficie del bloque como un todo. Se construyó 1 bloque de parafina con los 34 casos, por duplicado cada uno.

Para el análisis inmunohistoquímico se obtuvieron cortes tisulares de 2 μm -3 μm de grosor; los mismos fueron fijados con una solución adherente de poli-L-lisina a una lámina portaobjetos. La desparafinización y la recuperación antigénica se realizaron con un tampón Tris-EDTA pH=9 (DAKO) a 95°C durante 20 minutos.

Las muestras se lavaron en agua destilada en una cámara húmeda horizontal y a continuación en tampón Tris pH=7,4 a temperatura ambiente. Se realizó la incubación con el anticuerpo primario. Las muestras se lavaron en tampón Tris pH=7,4 y se añadió el anticuerpo secundario conjugado. Por último, las muestras se lavaron en tampón Tris pH=7,4 y se revelaron mediante la aplicación del cromógeno diaminobencidina, durante 5 minutos. Con el fin de visualizar los núcleos no teñidos con p63, se realizó la tinción nuclear con hematoxilina. Solo se consideró como inmunotinción positiva específica de p63 aquellas muestras de tejido con reacción nuclear frente al anticuerpo monoclonal.

Se analizó la inmunotinción del tejido neoplásico y de la piel circundante normal (incluyendo sus anexos) para así establecer el patrón de expresión de p63. En cuanto a las células neoplásicas, se consideró como patrón de inmunotinción negativo, al porcentaje de tinción nuclear “cero” en células neoplásicas. Luego en los casos positivos se registró el porcentaje de inmunotinción, realizado por un patólogo con experiencia en el área, de forma subjetiva en cada una de las muestras, obteniendo posteriormente el promedio de las 2 muestras. Además, se clasificaron de acuerdo a este porcentaje de expresión en: no marcaje; marcaje leve (<5%); intermedio (≥ 5 a 50%) y alto (>50%), estableciendo adicionalmente diferentes puntos de cortes para relacionarlos con el intervalo libre de enfermedad (ILE). Se estableció el ILE al tiempo transcurrido desde que se realizó el tratamiento quirúrgico con criterios oncológicos para su resección, hasta su recidiva.

Para el análisis de los resultados se empleó el paquete estadístico SPSS 19. (IBM Statistical Package for Social Sciences, Inc., Chicago, IL.) La asociación entre las variables se analizó mediante la prueba de Chi cuadrado y el test exacto de Fisher. El estudio del ILE se realizó mediante el método de Kaplan-Meier. Se consideraron significativos valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Los pacientes presentaron un promedio de edad de 65,2 años (32-86, rango 54 años). El sexo masculino fue el de mayor frecuencia con un 79,4% (27 pacientes), los restantes correspondieron al sexo femenino (7 pacientes, 20,6%). De ellos, 16 presentaron CBC, representando un 47,1% y 18 (52,9%) con CCE. El control y seguimiento de estos pacientes fue de 10 años. De los 34 pacientes estudiados, 11 de ellos presentaron recidiva de su enfermedad, predominantemente en el sexo masculino 90,9%.

Siete pacientes (63,6%) con recidiva fueron CCE y 4 (36,4%) CBC (Tabla 1). Se observaron 9 pacientes (81,8%) con recidiva antes de los 5 años y 2 (18,2%) después de los 5 años; uno de ellos CCE y el otro CBC.

El marcaje de p63 fue positivo en el 97% (33) de las 34 muestras estudiadas. En la Tabla 2 se evidencia como el patrón alto fue el más frecuente, tanto para los CCE como para los CBC. Al relacionar estos patrones de expresión de p63 con el ILE, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$). Ver gráfico 1.

La mayoría de las recaídas se encontraron cuando la expresión del p63 fue $>50\%$, aunque tampoco mostró diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$). Ver gráfico 2.

Al analizar los diferentes puntos de cortes en relación con el ILE se evidenció que tomando los dos tipos de carcinomas en conjunto el punto de corte de p63 en 40% presentó diferencias significativas ($p=0,030$). Ver gráfico 3. Igualmente pero solo en el caso de los CCE el punto de corte del 60% también tuvo significancia estadística ($p=0,038$). Ver gráfico 4.

Tabla 1. Recidivas en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular en 10 años.

Recidiva	Tipo de carcinoma			
	Células escamosas	Basocelular	Total	
	n (%)	n (%)	n (%)	
Sí	7 (63,6)	4 (36,4)	11 (32,4)	
No	11 (47,8)	12 (52,2)	23 (67,6)	
Total	18 (52,9)	16 (47,1)	34 (100)	$p=0,529$

Tabla N° 2 Porcentaje de expresión de la proteína p63 en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular.

Expresión de p63		Tipo de carcinoma		
		Células escamosas	Basocelular	Total
No marcaje o leve <5%	Frecuencia	1	0	1
	Expresión de p63	100% ¹	0% ¹	100%
	Tipo histológico	5,6% ²	0% ²	2,9%
	Total	2,9% ³	0% ³	2,9%
Intermedio ≥5% a 50%	Frecuencia	6	3	9
	Expresión de p63	66,7% ¹	33,3% ¹	100%
	Tipo histológico	33,3% ²	18,8% ²	26,5%
	Total	17,6% ³	8,8% ³	26,5%
Alto >50%	Frecuencia	11	13	24
	Expresión de p63	45,8% ¹	54,2% ¹	100%
	Tipo histológico	61,1% ²	81,2% ²	70,6%
	Total	32,4% ³	38,2% ³	70,6%
Total	Frecuencia	18	16	34
	Expresión de p63	52,9% ¹	47,1% ¹	100%
	Tipo histológico	100% ²	100% ²	100%
	Total	52,9% ³	47,1% ³	100%

¹=% con respecto al total horizontal. ²=% con respecto al total vertical. ³=% con respecto al total de todos los casos.

Gráfico 1. Relación de la expresión de p63 con la aparición de recidiva, en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular.

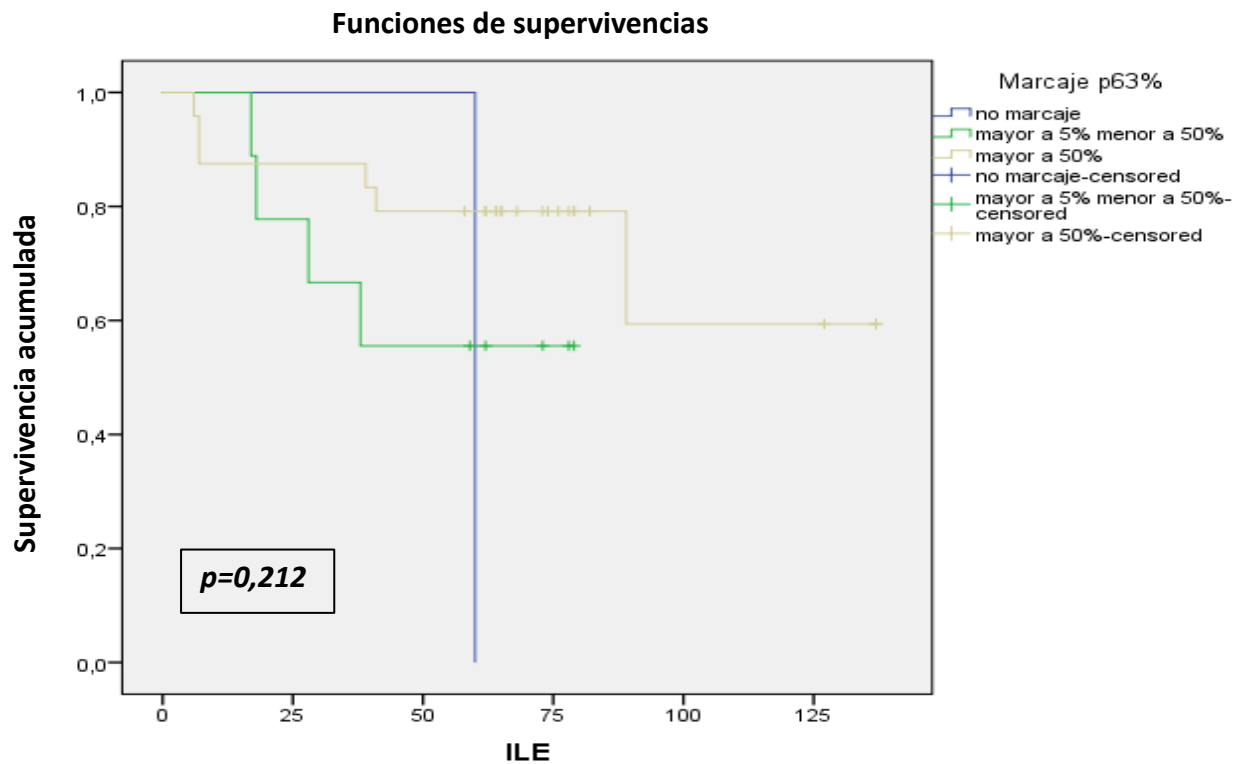


Gráfico 2. Expresión de p63 y recidivas en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular.

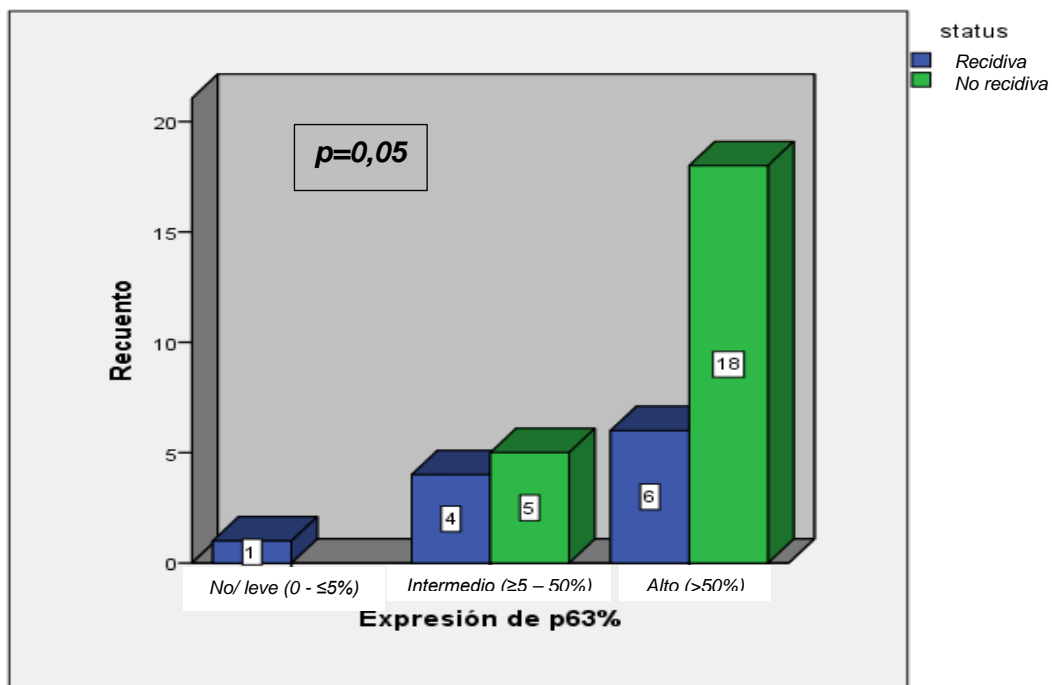


Gráfico 3. Punto de corte de p63 en 40% en relación con el ILE en carcinomas cutáneos de células escamosas y basocelular.

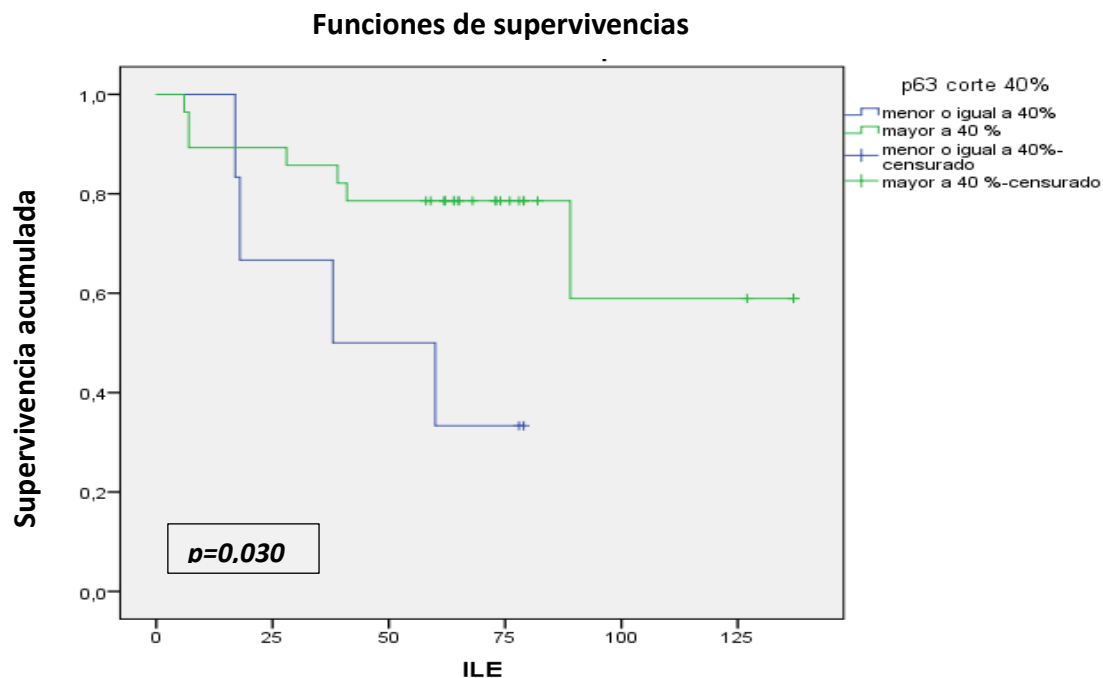
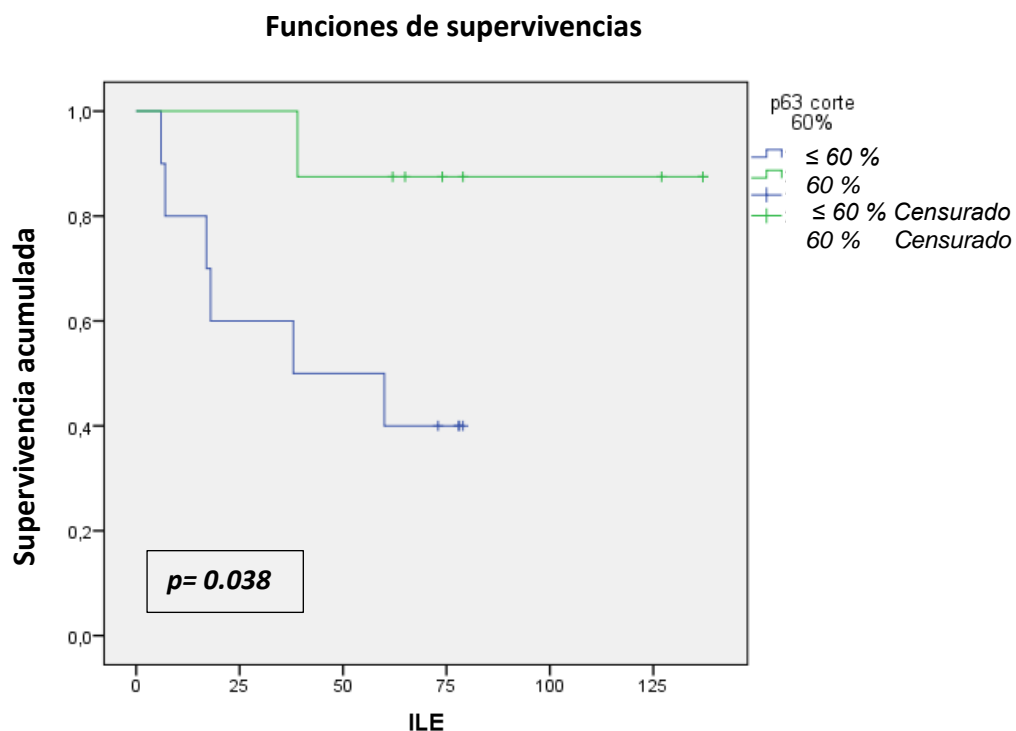


Gráfico 4. Punto de corte de p63 en 60% en relación con el ILE en carcinomas cutáneos de células escamosas.



DISCUSIÓN

Los carcinomas cutáneos presentan bajo índice de mortalidad, siendo su principal problema las recidivas y su morbilidad asociada. La recurrencia en los CBC es mayor cuando las lesiones son extirpadas de forma incompleta, y menor cuando las resecciones son completas. Por lo tanto, el uso adecuado de los márgenes quirúrgicos es un punto clave, dado que la mayor posibilidad de cura se encuentra en este primer enfoque (28). En los CCE la profundidad del tumor está asociada con una tasa más alta de recidiva local y metástasis, igualmente el diámetro del tumor mayor de 20 mm. (29).

La proteína p63 se expresa consistentemente en las células basales de la epidermis y los apéndices cutáneos, incluidos las células basales y mioepiteliales de las glándulas sudoríparas. En base a estos hallazgos, el balance de probabilidades está a favor de que p63 pudiera desempeñar un papel en el patrón de diferenciación y en la oncogénesis de los carcinomas habituales de la piel. El gen *p63* codifica para productos de isoformas múltiples de promotores alternos (ΔN y TA) y de extremos carboxi-terminales (α , β , δ , ϵ). Debido a la complejidad de las isoformas de p63, ha sido difícil determinar sus funciones exactas en términos de potenciar o bloquear la proliferación celular. Mientras que rara vez suprimido o mutado, TP63 se desregula con frecuencia en los cánceres humanos. En el CCE cutáneo se utiliza la alta expresión de p63 como marcador para su diagnóstico, cuando existe duda al respecto (30).

La alta expresión de p63 en varios tumores se relacionó con mal pronóstico y esta asociación fue más fuerte en los pacientes cuyos tumores también tenían una mutación en el gen que codifica p53. De esta manera, la

señalización oncogénica de Ras y TGF- β estimula la progresión del cáncer a través de la activación del programa transcripcional p63 (31-34).

El p63 y p73 han demostrado ser raramente mutados en los cánceres humanos, sin embargo, la desregulación de éstos se ha asociado con la carcinogénesis humana. El p63, es ahora reconocido como un mediador esencial en el desarrollo y modulación de la homeostasis de varios tejidos, entre ellos el cutáneo (35).

El porcentaje de CPNM que recidivan en general es bajo, siendo mayor para los CCE que para los CBC. Los casos que recidivan se han asociado a parámetros tales como el tamaño y la profundidad de la lesión, así como a la obtención de márgenes adecuados en la resección, que son factores ya conocidos, como se expuso anteriormente; sin embargo, algunos casos reaparecen sin tener alguno de estos parámetros pronósticos desfavorables (28,29).

Los pocos trabajos nacionales que reportan que estos tumores de comportamiento poco agresivo, presentan baja recidiva y poca capacidad de metástasis, al ser comparados con investigaciones internacionales son similares. La mayoría de las recidivas aparecen en los primeros 3 años de realizado el tratamiento, pero se pueden presentar hasta 10 años después de la extirpación. La recidiva de los CBC a los 5 años es de 5% aproximadamente y de 15,4% para los tratados previamente. Estas cifras reflejan las recidivas con las distintas técnicas terapéuticas y varían en los distintos trabajos; sin embargo, todos coinciden en que el menor índice de recidiva se da en aquellos tumores tratados con cirugía de Mohs. Este trabajo no contempló estos aspectos evolutivos y epidemiológicos, pues no era uno de sus objetivos (36-38).

En esta investigación se analizó un factor que fuera intrínseco a las características del tumor, como pudiera ser la expresión de p63. La demostración de un marcador de este tipo en estos tumores pudiera ser útil para seleccionar una población con riesgo de recidiva y así realizar en estos pacientes un seguimiento más estrecho. En otros tipos de tumores existen factores de valor pronóstico y predictivo bien establecidos, como por ejemplo en el cáncer de mama, colon y pulmón, por mencionar algunos. En los CPNM no existe ningún factor de este tipo conocido (39-42).

Es conocido que en los CCE de otras regiones de cabeza y cuello, a diferencia de lo que ocurre con los carcinomas cutáneos, el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) está relacionado con un pobre pronóstico, siendo uno de los factores más frecuentemente expresados en estos tumores (43).

El p63 ha demostrado su utilidad como factor pronóstico en otras neoplasia malignas, tales como las que se mencionan a continuación. En el carcinoma de mama, la expresión de p63 se observa con mayor frecuencia en el tipo molecular triple negativo, que es indicativo de una diferenciación basal y tienen un peor pronóstico (44). El p63 es un biomarcador útil para predecir la recurrencia y progresión del carcinoma urotelial de vejiga (45,46). Se encontró que una mayor expresión de p63 es un factor pronóstico importante para el desarrollo de recidivas en meningiomas además del Ki-67 (47).

En el carcinoma gástrico el p63 es un factor pronóstico independiente que demuestra una evolución desfavorable en los pacientes. La expresión positiva de p63 se correlacionó significativamente con un mayor tamaño tumoral, una invasión más profunda, un estadio más alto y metástasis

ganglionar (48). Igualmente, el p63 juega un papel importante como factor pronóstico en el cáncer colorrectal (49).

En melanoma existe la evidencia de una interacción fisiológica entre p63 con p53 que confieren resistencia a la quimioterapia revelando un nuevo papel oncogénico. La expresión de p63 tanto en muestras clínicas de melanoma primario como metastásico, se correlacionó significativamente con mayor mortalidad. Estas investigaciones implican nuevos enfoques dirigidos a sensibilizar las células neoplásicas a posible nuevos agentes quimioterapéuticos (50).

Como se puede ver, las diversas investigaciones en curso sobre el p63 están abriendo nuevos horizontes para la comprensión y comportamiento de los cánceres en general. En este trabajo se encontraron algunos hallazgos interesantes y que vale la pena destacar. En primer lugar se corroboró que la expresión de p63 se observó tanto en los CCE como en los CBC, encontrándose que en ambos su expresión es similar, sin evidenciar diferencias en el porcentaje de células positivas, ni en el patrón de expresión, a fin de realizar un diagnóstico diferencial. En segundo lugar a pesar de las limitaciones en el número de casos analizados, se encontró que los casos con una expresión mayor al 40% de p63, presentaron una mayor frecuencia de recidivas ($p=0,030$). Igualmente para los CCE con una expresión mayor al 60%.

Estos hallazgos inéditos, aunque preliminares, deben ser desarrollados con un mayor número de casos y en trabajos prospectivos; constituyen una línea de investigación que pudiera ser de utilidad para predecir el comportamiento de algunos de estos tipos de cáncer cutáneos, tal como se evidencia en esta investigación.

CONCLUSIÓN

El p63 se expresa tanto en los CCE como en los CBC, encontrándose que en ambos su expresión es similar, sin diferencias en el porcentaje de células positivas, ni en el patrón de expresión, a fin de realizar un diagnóstico diferencial. El porcentaje de células positivas al p63 pudiera tener una importancia pronóstica, en la predicción de recidivas, para los carcinomas basocelulares y de células escamosas cutáneos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Reszko A, Aasi SZ, Wilson LD. Cancer of the skin. Principles and Practice of Oncology. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia 2011. p.1610-33.
- 2) Athas WF, Hunt WC, Key CR: Changes in nonmelanoma skin cancer incidence between 1977-1978 and 1998-1999 in Northcentral New Mexico. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003; 2:1105-8.
- 3) Harris RB, Griffith K, Moon TE. Trends in the incidence of nonmelanoma skin cancers in southeastern Arizona. J Am Acad Dermatol 2001;45:528-36.
- 4) Rogers HW, Weinstock MA, Harris AR, Hinckley MR, Feldman SR, Fleischer AB, Coldiron BM. Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States. Arch Dermatol 2006;146:283-7.
- 5) American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2006. Disponible en:<https://old.cancer.org/acs/groups/content/@nho/documents/document/caff2006pwsecuredpdf.pdf>. (Acceso 25 de Marzo 2017).
- 6) Ministerio del Poder Popular para la Salud. Anuario de epidemiología y estadística 2013. Disponible en: <http://www.ovsalud.org/descargas/publicaciones/documentos-oficiales/Anuario-Mortalidad-2013.pdf>. (Acceso 20 de Marzo 2017).
- 7) Karia PS, Han J, Schmults CD. Cutaneous squamous cell carcinoma: estimated incidence of disease, nodal metastasis, and deaths from disease in the United States. J Am Acad Dermatol 2012;68:957-66.
- 8) Kramer E, Herman O, Frand J, Leibou L, Schreiber L, Vaknine H. Ki67 as a Biologic Marker of Basal Cell Carcinoma: A Retrospective Study. IMAJ 2014; 16:229-32
- 9) Chren MM, Linos E, Jeanette S. Torres, Sarah E. Stuart, Rupa Parvataneni, W. John Boscardin. Tumor recurrence five years after treatment of cutaneous basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. J Investigative Dermatol 2013;133:1188-96.
- 10) Koster MI, Kim S, Roop DR. P63 deficiency: a failure of lineage commitment or stem cell maintenance?. J Investig Dermatol Symp Proc 2005;10:118-23.
- 11) Yang A, Kaghad M, Wang Y, Gillett E, Fleming MD, Dötsch V, Andrews NC, Caput D, McKeon F. p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing and dominant-negative activities. Mol Cell 1998; 2:305-16.
- 12) Suarez-Carmona M, Hubert P, González A, Duray A. ΔNp63 isoform-mediated β-defensin family up-regulation is associated with (lymph) angiogenesis and poor prognosis in patients with squamous cell carcinoma. Oncotarget 2014; 5:1856-868.
- 13) Dötsch V, Bernassola F, Coutandin D, Candi E, Melino G. p63 and p73, the ancestors of p53 Cold Spring Harb Perspect Biol 2010; 2:a004887.
- 14) Negrin-Díaz L. Carcinoma basocelular. DV 2008;46:5-16.

- 15) Shalini V, Anne S. Chang Advanced Basal Cell Carcinoma: Epidemiology and Therapeutic Innovations. *Curr Dermatol Rep* 2014;3:40-5.
- 16) Mackiewicz M, Bowszyc M, Strzeleckar D, Dańczak A, Adamski Z. Basal cell carcinoma diagnosis. *Contemp Oncol (Pozn)* 2013;17: 337–42.
- 17) Shalini V, Anne Lynn S. Advanced Basal Cell Carcinoma: Epidemiology and Therapeutic Innovations. *Curr. Dermatol Rep.* 2014;3:40–5
- 18) Rigel D. Cáncer de piel. Bases genéticas del cáncer de piel. Elsevier Saunders. Madrid 2006. p.16.
- 19) Matthew J, Yan Pan, John W. Dermoscopic characteristics of nodular squamous cell carcinoma and keratoacanthoma. *Dermatol Pract Concept* 2014;4:9–15.
- 20) Yuan Y, Duff M, Shiyong W. Retrospective chart of skin cancer presence in the wide excisions. *World J Clin Cases* 2014;2:52–6.
- 21) Nuño A, Vicente F.J., Pinedo F., López J.L. Carcinoma epidermoide cutáneo de alto riesgo. *Actas Dermo-Sifiliográficas* 2012;103:567-78.
- 22) Goepfert H, Dichtel WJ, Medina JE Lindberg RD, Luna MD. Perineural invasion in squamous cell skin carcinoma of the head and neck. *Am J Surg* 1984;148:542-7.
- 23) Brodland DG, Zitelli JA. Surgical margins for excision in primary cutaneous squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:241-8.
- 24) Altman A, Rosen T, Tschen JA, Hoffmann T, Bruce S, Siegel DM, et al. Basal cell epithelioma in black patients. *J Am Acad Dermatol* 1987;17:741-5.
- 25) Miller DL, Weinstock MA. Nonmelanoma skin cancer in the United States: Incidence. *J Am Acad Dermatol* 1994; 0:774-8.
- 26) Meijuan Z, Liang Z, Zhenhua D. miR-365 Promotes Cutaneous Squamous Cell Carcinoma (CSCC) through Targeting Nuclear Factor I/B (NFIB). *PLoS One* 2014;9:e100620.
- 27) Reis-Filho JS, Torio B, Albergaria A, Schmitt FC. p63 expression in normal skin and usual cutaneous carcinomas. *J Cutan Pathol* 2002;29:517-23.
- 28) Barbosa F, Ferron C, Pérez Cardoso G. Surgical treatment of basal cell carcinoma: an algorithm based on the literature. *An Bras Dermatol* 2015; 90:377–83.
- 29) King KE, Weinberg WC. p63: Defining Roles in Morphogenesis, Homeostasis, and Neoplasia of the Epidermis. *Mol Carcinog* 2007;46:716–24.
- 30) Dotto JE, Glusac EJ. p63 is a useful marker for cutaneous spindle cell squamous cell carcinoma. *J Cutan Pathol* 2006;33:413–7.
- 31) Romano RA, Smalley K, Magraw C, Serna VA, Kurita T, Raghavan S. DeltaNp63 knockout mice reveal its indispensable role as a master regulator of epithelial development and differentiation. *Development* 2012;139:772–82.
- 32) Su X, Paris M, Gi YJ, Tsai KY, Cho MS, Lin YL. TAp63 prevents premature aging by promoting adult stem cell maintenance. *Cell stem cell* 2009;5:64–75.
- 33) Su X, Chakravarti D, Cho MS, Liu L, Gi YJ, Lin YL. TAp63 suppresses metastasis through coordinate regulation of Dicer and miRNAs. *Nature* 2010; 467:986–90.

- 34) Vasilaki E, Morikawa M, Koinuma D, Mizutani A. Aug. Ras and TGF- β signaling enhance cancer progression by promoting the Δ Np63 transcriptional program. *Sci Signal* 2016;23:442-84.
- 35) Thompson A, Kelley B, Prokop L, Murad M, Baum C. Risk Factors for Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Recurrence, Metastasis, and Disease-Specific Death: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Dermatol* 2016;152:419-28.
- 36) Weedon D. Tumores de la epidermis. En: *Piel Patología*. 1era ed. Marban Libros S.L. Madrid 2002. p.635-72.
- 37) Schoelch S, Barrett T, Greenway H. Recognition and management of high-risk cutaneous tumors. *Dermatol Clin* 1999;17:93-111.
- 38) Rippey JJ. Why classify basal cell carcinomas?. *Histopathology* 1998; 32:393-98.
- 39) Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;31:3997-4013.
- 40) Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134:907-22.
- 41) Hampel H, Bennett RL, Buchanan A, Pearlman R, Wiesner GL et al. A practice guideline from the American College of Medical Genetics and Genomics and the National Society of Genetic Counselors: referral indications for cancer predisposition assessment 2015;17:70-87.
- 42) Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol* 2011;12:175-80.
- 43) Chung CH, Ely K, McGavran L, Varella-García M, Parker J, Parker N, et al. Increased epidermal growth factor receptor gene copy number is associated with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinomas. *J Clin Oncol* 2006;24:4170-6.
- 44) Reigosa A, Fernández A, Gutiérrez D, Caleiras E, Hardisson D, Espig H, et al. Expresión de p63 y citoqueratina 5/6 en los diferentes tipos moleculares del carcinoma de mama. *Rev Esp Patol* 2010;43:79-85
- 45) El-Gendi S, Abu-Sheasha G. Ki-67 and Cell Cycle Regulators p53, p63 and cyclinD1 as Prognostic Markers for Recurrence/ Progression of Bladder Urothelial Carcinoma. *Pathology & Oncology Research* 2017; 23:1-14.
- 46) Wang L, Zhou M, Feng C, Gao P, Ding G, Zhou Z, et al. Prognostic value of Ki67 and p63 expressions in bladder cancer patients who underwent radical cystectomy. *Int Urol Nephrol* 2016; 48:495-501.
- 47) Guadagno E, Del Basso De Caro M, Pignatiello S, Sciammarella C, Solari D, Cappabianca P, et al. Expression of p40 (Δ Np63) protein in meningiomas, an

unexpected finding: immunohistochemical study and evaluation of its possible prognostic role. J Neurooncol 2016;129:405-13

- 48) Song Y, Liu D, He G. TKTL1 and p63 are biomarkers for the poor prognosis of gastric cancer patients. Cancer Biomark 2015;15:591-7.
- 49) Guo HQ, Huang GL, Liu OF, Liu YY, Yao ZH, Yao SN, et al. p63 Expression is a prognostic factor in colorectal cancer. Int J Biol Markers 2012;27:212-8.
- 50) Matin RN, Chikh A, Chong SL, Mesher D, Graf M, Sanza P, et al. p63 is an alternative p53 repressor in melanoma that confers chemoresistance and a poor prognosis. J Exp Med 2013;210:581-603.